

Die Lymphe nach intravenöser Injection von Tetanustoxin und Tetanusantitoxin.

Von
Dr. F. Ransom.

(Aus der Abtheilung für experimentelle Therapie
des Instituts für Hygiene und experimentelle Therapie der Universität Marburg.
Der Redaction zugegangen am 22. März 1900.)

Es ist schon bekannt, dass, wenn wir einem Thiere Tetanusgift oder Tetanusantitoxin unter die Haut injiciren, das Gift resp. Antitoxin bald in der Blutbahn nachgewiesen werden kann. Demnach erfolgt die Vertheilung dieser Stoffe im Körper jedenfalls zum Theil durch das Blut. Wir wissen ferner, dass das Gift sowohl wie das Antitoxin nach einem Zeitraum, welcher bei verschiedenen Thieren verschieden gross sein kann, in dem Blute nicht mehr zu finden sind. Wie sich die Lymphe an diesen Vorgängen betheiligt, ist bis jetzt nicht ermittelt worden. Um jedoch das Zustandekommen einer Vergiftung mit Tetanustoxin bezw. einer Heilung oder Immunisirung mit Antitoxin zu begreifen, schien es mir von Wichtigkeit, den Antheil, welchen die Lymphe an der Verbreitung des Giftes bezw. des Antitoxins im Körper nimmt, kennen zu lernen. Zu diesem Zweck sind die im Folgenden mitgetheilten Versuche angestellt worden. Sie gehören einer grösseren Versuchsreihe an, werden aber jetzt für sich veröffentlicht, da sie eine ziemlich abgerundete Arbeit bilden, deren Resultate, namentlich auch vom physiologischen Standpunkte aus betrachtet, nicht ohne Interesse sein dürften.

Als Versuchsthiere wurden Hunde gewählt, bei welchen Thieren die Freilegung des Ductus thoracicus auf keine Schwierigkeiten stösst. Die Thiere erhalten vor der Operation eine Dosis Morphium und werden für die Dauer des Versuches

ätherisirt. Der freigelegte und an der Einmündungsstelle abgebundene Ductus wird dann mit einer Canüle versehen und die ausfliessende Lymphe in sterilisirten Gläsern aufgefangen. Die Lymphe fliesst continuirlich ab und ein angemessenes Wechseln der Behälter gestattet es, die auslaufende Lymphe in beliebigen Zeiträumen für sich aufzufangen.

Wenn zum Zweck einer vergleichenden Prüfung Blut gebraucht wurde, so ist dasselbe immer aus der arteria femoralis entnommen worden.

Wegen des langsameren Ausfliessens der Lymphe und wegen der Länge der Lymphbahn ist es eigentlich unzulässig, eine Lymphprobe mit einer gleichzeitig aufgefangenen Blutprobe hinsichtlich ihrer Zusammensetzung zu vergleichen.¹⁾ Für den Zweck dieser Arbeit jedoch glaubte ich diese Fehlerquelle vernachlässigen bzw. annähernd corrigiren zu können, indem ich im Moment der Blutentnahme ein frisches Glas an den Ductus brachte und die Lymphe, welche in den folgenden 15 Minuten ausfloss, zum Vergleich mit dem Blute benutzte. Uebrigens sind in den Tafeln die Zeiten genau angegeben.

Die sorgfältig gewogenen Hunde erhielten intravenös eine abgemessene Menge einer in ihrem Gift- bzw. Antitoxinwerth genau bekannten Lösung. Blut und Lymphe wurden dann auf Gift- bzw. Antitoxinwerth geprüft und mit einander verglichen. Zu diesen Prüfungen wurden Mäuse benutzt.

Die Berechnung des Gift- bzw. Antitoxinwerthes, sowohl der bei den Hunden angewandten Lösungen wie der verschiedenen einer Prüfung unterzogenen Lymph- und Blutproben, erfolgte, nach dem bekannten Schema von Behring²⁾, in + Ms, + ms und — Ms. Das zu den Versuchen gewählte Tetanusgift Nr. 5 wurde zu 10^{0,6} in Wasser gelöst und die Lösung centrifugirt. Das Centrifugat enthielt in 1 ccm. 6 Millionen + Ms., d. h. 1 ccm. genügte, um 6000000 g Mäusegewicht nach 3 bis 4 Tagen zu tödten, oder $\frac{1}{600000}$ ccm.

1) Cohnstein, Pflüger's Archiv. 1895. Bd. 59.

2) Behring, Allg. Therapie d. Infectiouskrankheiten. I. Theil. Cap. III. S. 963. Wien 1899.

tödtete eine Maus von 10 g Gewicht nach derselben Zeit. Wenn nun von dieser Lösung oder einer Verdünnung derselben eine abgemessene Menge einem gewogenen Hunde intravenös beigebracht wurde, so wusste man genau, wieviel \pm Ms pro 1 g Körpergewicht gegeben war, und konnte daraus berechnen, wieviel \pm Ms auf 1 cem. Blut kamen.

1 Ms bedeutet nach Behring 1 g Lebend-Mäusegewicht. 1 \pm Ms ist die Giftmenge, welche 1 Ms nach 3 bis 4 Tagen an Tetanus tödtet; danach tödten 10 \pm Ms eine Maus von 10 g nach 3 bis 4 Tagen. Die Prüfung des entnommenen Blutes oder der Lymphe wurde, wie schon gesagt, an Mäusen ausgeführt. Vermuthete ich z. B. 100 \pm Ms in 1 cem. und hatte ich eine Maus von 10 g Gewicht, so erhielt das Thier subcutan 0,4 cem. einer Verdünnung $\frac{\text{Serum}}{4}$. Starb die Maus nach 3 bis 4 Tagen, so berechnete ich in 0,4 cem. $\frac{\text{Serum}}{4} = 0,1$ cem. Serum 10 \pm Ms = 100 \pm Ms in 1 cem.; trat der Tod früher ein, so hatte das Serum einen höheren Werth; verendete die Maus später oder überhaupt nicht, so war der Giftwerth des Serums geringer als 100 \pm Ms in 1 cem.

Die zu den Versuchen benutzte Antitoxinlösung (Serum eines immunisirten Pferdes) enthielt in 1 cem. 40 Millionen \pm Ms, d. h. 1 cem. der Antitoxinlösung neutralisirte (machte unschädlich) im Mischungsversuch 6,66 cem. der Giftlösung = 40 Millionen \pm Ms: eine Mischung von 0,2 cem. $\frac{\text{Giftlösung}}{30} =$ 10000 \pm Ms mit 0,2 cem. $\frac{\text{Antitoxinlösung}}{200}$ einer Maus subcutan injicirt, rief demzufolge keinen oder nur ganz leichten Tetanus hervor.

Die Prüfung des Blutes bezw. der Lymphe auf Antitoxinwerth wurde gleichfalls an Mäusen ausgeführt, aber in diesem Falle ohne auf das Körpergewicht genaue Rücksicht zu nehmen. Erwartete ich z. B. etwa 100000 \pm Ms (das \pm -Zeichen bedeutet Antitoxin), so wurden 0,5 cem. Serum mit 0,1 cem. $\frac{\text{Giftlösung}}{12} = 50000$ \pm Ms gemischt und einer Maus unter die Haut injicirt. Zeigte das Thier keine Tetanus-symptome, so musste der Antitoxinwerth des Serums mindestens 100000 \pm Ms in 1 cem. sein, wurde die Maus krank oder starb sie, so war der Antitoxinwerth geringer. Indem zugleich auf zwei oder drei verschiedene Werthe geprüft wurde, liessen sich die Grenzzahlen meistens schnell und genügend genau ermitteln.

Der indirekte Giftwerth des Tetanusgiftes, d. h. die antitoxinneutralisirende Energie wird durch das Zeichen \pm ms zum Ausdruck

gebracht. Die 10⁹ ige Lösung des Tetanusgiftes Nr. 5 enthält 6000000 — Ms in 1 ccm., d. h. 0.2 ccm. $\frac{\text{Giftlösung}}{30} = 40000$ — Ms brauchte 0.2 ccm. Antitoxinlösung $\frac{200}{40000} = 40000$ — Ms. wenn eine unschädliche Mischung ohne Ueberschuss von Antitoxin hergestellt werden sollte. Somit ist beim Tetanusgift Nr. 5 der direkte (+ Ms) und der indirekte ($\frac{1}{3}$ ms) Giftwerth gleich gross. In weniger concentrirten Lösungen ist die antitoxinneutralisirende Energie des Giftes jedoch verhältnissmässig grösser. z. B. eine Mischung von 40000 + Ms mit 40000 — Ms gibt O, während 10000 + Ms gemischt mit 10000 — Ms tetanische Symptome hervorrufen. Demnach würden 10000 — Ms durch weniger als 10000 — Ms neutralisirt werden. Den wirklichen indirekten Giftwerth habe ich aus Behring's Tabelle l. c. S. 1023 berechnet und bei der Schätzung der indirekten Giftwerthe in Tafel 1 angewendet.

In den Tafeln sind die Prüfungsergebnisse der einzelnen Mäuseversuche angegeben, wozu zu bemerken ist, dass

- O keine Symptome,
- leichter localer Tetanus,
- = schwere locale Erscheinungen,
- ausgebreiteter Tetanus mit allgemeinen Krankheitserscheinungen,
- Tod an Tetanus

bedeutet.

Zu den Prüfungen ist immer das Serum des Blutes bezw. der Lymphe angewandt worden.

Die Einführung des Giftes bezw. des Antitoxins in die Blutbahn dauerte bei jedem Hunde 2 bis 3 Sekunden.

Die Zeit für die Entnahme der verschiedenen Blut- und Lymphproben wird vom Moment der fertigen Gift- bezw. Antitoxineinverleibung ab berechnet.

Einführung des Tetanusgiftes in die Blutbahn nach Eröffnen des Ductus thoracicus.

Protokoll 1.

Hund Nr. 3	1. II. 00.	9. II. Stirbt ohne Tetanus.
12700 g	Eröffnung des Ductus thoracicus und 5 Minuten nachher Einführung in die V. jugularis externa von	
	2.2 ccm. $\frac{\text{Tetanusgiftlösung}}{10} = 0.022$ g	
	Trockengiftes = 110 + Ms pro 1 g Körpergewicht.	

Die Art und Weise der Giftwerthbestimmungen soll durch die folgenden Protokolle veranschaulicht werden.

Protokoll 2.

Maus Nr. 147 12.5 g	1. II. 00, 7 Uhr Abends. 0.5 ccm. Lymphserum Hund 3 erste $\frac{1}{4}$ Stunde. Serum geprüft auf 1 ccm. = 25 + Ms.	2. II. 9 Uhr M. Spur 9 > A. — 3. II. 9 > M. = 9 > A. = 4. II. + gefunden. Ca. 60 Stunden.
------------------------	--	--

Protokoll 3.

Maus Nr. 205 16.5 g	8. II. 00, 3 Uhr. 0.4 ccm. $\frac{\text{Lymphserum Hund 3}}{2.5}$ erste $\frac{1}{4}$ Stunde. Serum geprüft auf 1 ccm. = 100 + Ms.	9. II. — 10. II. = 11. II. = 12. II. = 13. II. = 14. II. + gef. Ca. 5 $\frac{1}{2}$ Tage.
------------------------	---	---

Protokoll 4.

Maus Nr. 149 13 g	1. II. 00, 7 Uhr Abends. 0.5 ccm. Lymphserum Hund 3 zweite $\frac{1}{4}$ Stunde. Serum geprüft auf 1 ccm. = 26 + Ms.	2. II. 9 Uhr M. — 9 > A. = 3. II. 9 > M. = 5 > A. + 46 Stunden.
----------------------	---	---

Protokoll 5.

Maus Nr. 202 16.5 g	8. II. 00, 3 Uhr. 0.4 ccm. $\frac{\text{Lymphserum Hund 3}}{5}$ zweite $\frac{1}{4}$ Stunde. Serum geprüft auf 1 ccm. = 200 + Ms.	9. II. — 10. II. = 11. II. = 12. II. = 13. II. = 14. II. = 15. II. = 16. II. + gef. Ca. 7 $\frac{1}{2}$ Tage.
------------------------	--	---

Protokoll 6.

Maus Nr. 156 18 g	1. II. 00, 7 Uhr Abends. 0.32 ccm. $\frac{\text{Blutserum Hund 3}}{10}$ 3 Stunden. Serum geprüft auf 1 ccm. = 500 + Ms.	2. II. — 3. II. = 4. II. = 5 Uhr + 3 Tage.
----------------------	---	--

Protokoll 7.

Maus Nr. 201

18 g

8. II. 00. 3 Uhr.

0.45 ccm. $\frac{\text{Lymphserum Hund 3}}{12.5}$ 3 bis

3¹/₄ Stunden.

Serum geprüft auf 1 ccm. = 500 + Ms.

9. II. Spur

10. II. =

11. II. =

12. II. =

13. II. =

14. II. =

15. II. =

16. II. =

17. II. =

18. II. + gef.

Ca. 9¹/₂ Tage.

Protokoll 8.

Maus Nr. 178

12.5 g

3. II. 00. 1 Uhr.

0.4 ccm. $\frac{\text{Lymphserum Hund 3}}{8}$ 4 bis

5 Stunden.

Serum geprüft auf 1 ccm. = 250 + Ms.

4. II. =

5. II. =

6. II. =

7. II. =

Mittags +

4 Tage.

Protokoll 9.

Maus Nr. 173

3. II. 00. 1 Uhr.

0.1 ccm. $\frac{\text{Tet.-Antitoxinlösung}}{10000} =$
400 — Ms.

0.5 ccm. Lymphserum Hund 3. 4 bis
5 Stunden.

Serum geprüft auf 1 ccm. = 160 + ms.

4. II. =

5. II. =

6. II. + gef.

Ca. 2¹/₂ Tage.

Protokoll 10.

Maus Nr. 196

8. II. 00. 3 Uhr.

0.1 ccm. $\frac{\text{Tet.-Antitoxinlösung}}{4000} =$
1000 — Ms.

0.5 ccm. Lymphserum Hund 3. 4 bis
5 Stunden.

Serum geprüft auf 1 ccm. = 500 — ms.

9. II. Spur

10. II. =

11. II. =

12. II. =

13. II. =

14. II. =

15. II. =

16. II. =

17. II. =

30. II. =

25. II. =

erholte sich.

Es würde zu weit führen, alle Protokolle ausführlich wiederzugeben. Die obigen genügen, um die Prüfungsart zu demonstrieren.

Tafel 1 stellt die Ergebnisse in übersichtlicher Form dar.

Zunächst sehen wir, dass das Gift schnell in der Lymphe erscheint. Die Lymphe, welche ich in den ersten 15 Minuten nach der Giftinjection sammelte, enthielt ca. 75 + Ms in 1 ccm.; die zur Prüfung der Lymphe auf 25 + Ms gebrauchte Maus ist schnell gestorben, das zur Prüfung auf 100 + Ms benutzte Thier erst nach 5¹/₂ Tagen, also liegt der Giftwerth ca. bei 75 + Ms. In der Lymphe von der 2^{ten} Viertelstunde ist der Werth auf ca. 125 + Ms in 1 ccm. gestiegen, und in der in dem Zeitraum von 60 bis 75 Minuten (5^{te} Viertelstunde) aufgefundenen Lymphe haben wir in 1 ccm. schon über 270 etwa 350 bis 400 + Ms. Während der nächsten 5 Stunden merken wir ein Sinken des Giftwerthes von ca. 350 auf ca. 250 + Ms in 1 ccm. Die indirekten Giftwerthe der Lymphe sind in demselben Zeitraum gleichfalls allmählich gefallen, so dass man einen deutlichen, wenn auch kleinen Unterschied zwischen den einzelnen Prüfungen auf 500 + Ms wahrnehmen kann. Blut wurde erst 3 und dann 6 Stunden nach der Giftinjection zum Vergleich mit der Lymphe entnommen. Die Prüfung der ersten Blutprobe ergab etwas mehr als 500, aber weniger als 1000 + Ms, also ca. 750 bis 800 + Ms in 1 ccm. 6 Stunden nach der Giftinjection war der Giftwerth des Blutes etwas gesunken. Dies wurde dadurch angedeutet, dass die Maus, bei welcher die Prüfung auf 2000 + Ms ausgeführt wurde, nur mässige Krankheitserscheinungen zeigte, während das Thier, welches zur Prüfung des 3 Stunden nach der Giftinjection entnommenen Blutes auf dieselbe Zahl von + Ms gedient hatte, starb. Auch der indirekte Giftwerth des Blutes war 3 Stunden nach der Giftinjection grösser als nach 6 Stunden, wie man aus einem Vergleich der beiden Prüfungen auf 500 + ms ersehen kann.

Vergleichen wir nun Blut und Lymphe mit einander, so sehen wir, dass der Giftwerth des Blutes etwas höher war, sowohl bei der Entnahme nach 3 Stunden als auch nach 6 Stunden.

Hund Nr. 3 starb 23 Stunden nach der Operation, ohne Tetanussymptome gezeigt zu haben. Sofort nach dem Tode wurde das Herz geöffnet und Blut zur Prüfung daraus entnommen. Es ergab sich, dass das Blut in dem Zeitraum von

der 6^{ten} bis zu der 23^{ten} Stunde nach der Giftinjection einen beträchtlichen Verlust an Giftwerth erlitten hatte, denn bei Prüfung auf 500 + Ms starb die entsprechende Maus erst nach 8¹/₂ Tagen. Genügende Lymphe zur Prüfung konnte ich post mortem nicht gewinnen.

Der Giftwerth der Lymphe 3 Stunden nach der Giftinjection war etwa 300 + Ms, der des Blutes ca. 750 bis 800 + Ms in 1 cem. — ein Verhältniss von 1:2,6. 6 Stunden nach der Giftinjection war der Giftwerth der Lymphe 250 + Ms, der des Blutes ca. 600 bis 650 + Ms in 1 cem. = 1:2,6. Danach war der relative Giftverlust aus dem Blute und der Lymphe in dem Zeitraum von 3 bis 6 Stunden nach der Injection annähernd der gleiche.

Der Versuch an Hund Nr. 3 beweist, dass ein Theil des in die Blutbahn eingebrachten Tetanusgiftes schnell aus dem Blute in die Lymphe gelangt. In 3 Stunden, vielleicht auch schon früher, war eine Art von Gleichgewicht zustande gekommen, welches von da an bestehen blieb. Eine allmähliche Entgiftung fand zwar im Blute wie in der Lymphe statt, aber das Giftverhältniss der beiden Flüssigkeiten zu einander änderte sich nicht.

Um die Schärfe, mit welcher der Organismus der Maus auf das Tetanusgift reagirt, etwas deutlicher hervortreten zu lassen, habe ich einige der gefundenen Werthe in Gramme des Trockengiftes umgerechnet. Wenn wir z. B. in 1 cem. der Lymphe von der 1^{ten} Viertelstunde ca. 75 + Ms gefunden haben, so entspricht dies 0,00000125 g des Trockengiftes; oder wenn in 1 cem. des Lymphserums von 3 bis 3¹/₄ Stunden nach der Injection 300 + Ms gegenüber 800 + Ms in 1 cem. Blutserum derselben Zeit steht, so gibt dies in 1 cem. Blutserum 0,0000133 g, in 1 cem. Lymphserum dagegen 0,000005 g Trockengift; eine Differenz von 0,0000083 g. Ein solcher Unterschied in der Giftdosis macht sich, wie wir gesehen haben, im Organismus der Maus deutlich geltend, denn die Lymphgiftmaus ist erst nach 10 Tagen, die Blutgiftmaus dagegen schon am 3^{ten} Tage gestorben.

Es ist ferner bemerkenswerth, dass der grösste Theil des eingeführten Giftes im Blute und in der Lymphe wieder aufgefunden werden konnte. Rechnen wir das Blut als ¹/₁₂

des Körpergewichts und das Blutserum als $\frac{2}{3}$ des Blutes und nehmen wir an, dass die Menge der Lymphe ungefähr gleich der des Blutes sei, so können wir sagen: eingebracht in die Blutbahn $110 + Ms$ pro 1 g Körpergewicht = $1320000 + Ms$,

daher $\frac{1320000}{1.18 + 1.12 \cdot 12700} = 747 + Ms$ in 1 cem. Blutlymphserum.

Nach 3 Stunden sind wieder gefunden worden in 0,5 cem. Blutserum ca. $400 + Ms$ und in 0,5 cem. Lymphserum ca. $150 + Ms$ = in 1 cem. Blutlymphserum $550 + Ms$, demnach ein Verlust von ungefähr 26% der injicirten Giftmenge, wenn wir nur den direkten Giftwerth berücksichtigen. Ein ganz kleiner Theil des nicht mehr aufgefundenen Giftes ist natürlich mit der abfließenden Lymphe aus dem Körper entfernt worden. Der ganze Verlust erscheint weniger bedeutend, wenn wir die Zahlen in Gewichte des Trockengiftes übersetzen:

Eingebracht pro 1 cem. Blutlymphserum	0,00001041 g.
Gefunden	0,00000816 g.
Verlust pro 1 cem.	0,00000225 g.

Um nun das Giftverhältniss zwischen dem Blute und der Lymphe längere Zeit nach der Giftinjection studiren zu können, erhielt ein zweiter Hund ungefähr dieselbe Giftmenge wie Hund Nr. 3, aber der Ductus thoracicus wurde erst $26\frac{1}{2}$ Stunden nach der Giftinjection geöffnet, um Lymph- und Blutserum zu vergleichen.

Versuch II.

Eröffnen des Ductus thoracicus $26\frac{1}{2}$ Stunden nach der Einführung des Tetanusgiftes in die Blutbahn.

Protokoll 11.

Hund Nr. 6	12. II. 00, 9 Uhr Morgens.	13. II. Morgens
5700 g	Tet. Giftlösung 28. 1. 00	11 Uhr gesund.
0,7 cem.	6	14. II. + gef.
	in eine Ohrvene = $122 + Ms$ pro 1 g Körpergewicht.	
	13. II. 00.	
	11.30 Uhr. Eröffnen des Ductus thoracicus. Blutentnahme aus der arteria femoralis.	
	6 Uhr. Blutentnahme aus der arteria femoralis.	

Der Hund war anscheinend ganz gesund, als ich die Vorbereitungen zum Eröffnen des Ductus machte, und als er am Schluss des Versuches aus der Aethernarkose erwachte, war nichts von Tetanus zu bemerken.

Die Ergebnisse der Prüfungen der Lymphe und des Blutes sind in Tafel 2 wiedergegeben.

Tafel 2. — Hund 6.

Lymphserum.

Zeit nach der Gift-injection	Direkte Prüfung			Indirekte Prüfung		
	Geprüft auf in 1 cem.	Verlauf	Direkter Giftwerth in 1 cem. circa	Geprüft auf in 1 cem.	Verlauf	Indirekter Giftwerth in 1 cem. circa
26 ¹ / ₂ Stunden bis 26 ³ / ₄ Stunden	100 + Ms.	+2 ¹ / ₂ Tage				
	250 + Ms.	+5 ¹ / ₂ Tage		83 + ms.	+9 ¹ / ₂ Tage	
	500 + Ms.	=	220 + Ms.	500 + ms.	—	500 + ms.
	2000 + Ms.	—		2700 + ms.	○	
	10000 + Ms.	○				
33 bis 33 ¹ / ₄ Stunden	100 + Ms.	+2 ¹ / ₂ Tage	200 + Ms.	83 + ms.	=	360 + ms.
	500 + Ms.	—				

Blutserum.

26 ¹ / ₂ Stunden	100 + Ms.	+2 ¹ / ₂ Tage				
	250 + Ms.	+4 Tage		83 + ms.	+2 ¹ / ₂ Tage	
	500 + Ms.	=	250 + Ms.	500 + ms.	=	550 + ms.
	2000 + Ms.	○		2700 + ms.	○	
	10000 + Ms.	○				
33 Stunden	100 + Ms.	+2 ¹ / ₂ Tage	250 + Ms.	83 + ms.	—	360 + ms.
	500 + Ms.	—				

Zunächst bemerken wir, dass im Laufe der 26¹/₂ Stunden nach der Giftinjection ein beträchtlicher Verlust an direktem Giftwerth stattgefunden hatte. Der Hund erhielt im Ganzen 700000 + Ms intravenös, und wenn wir wie bei Hund Nr. 3 rechnen, so haben wir $\frac{700000}{12 + 18 \cdot 5700} = 875$ — Ms pro 1 cem. Blutlymphserum injicirt, wovon etwa 250 — Ms nach 26¹/₂ Stunden noch vorhanden waren. Bei Hund Nr. 3 waren im Blute nach 23 Stunden ca. 250 — Ms in 1 cem. noch nachzuweisen. Der Giftwerth des Blutes ist ein wenig höher als der der Lymphe zu schätzen, da die Maus, welche zur Prüfung auf 250 — Ms in 1 cem. diente, früher gestorben ist als die entsprechende Maus bei der Prüfung der Lymphe. Diese Schätzung wird bestätigt bei Betrachtung des indirekten Werthes, welcher auch etwas geringer bei der Lymphe als beim Blute war. Immerhin ist der Unterschied in direktem Giftwerth zwischen dem Blut- und dem Lymphserum ein sehr geringer. 6¹/₂ Stunden nach der ersten Blutentnahme, also 33 Stunden nach der Giftinjection, wurde wieder Blut aus der arteria entnommen und mit Lymphe verglichen, dabei konnte nur ein kleiner Verlust an Gift, am besten angedeutet in der indirekten Prüfung auf 83 — Ms constatirt werden.

In einer Beziehung ist ein beachtenswerther Unterschied zwischen dem Blutgift und dem Lymphgift bei Hund Nr. 6 wahrzunehmen. Die Differenz nämlich³⁾ (sogenannter D-Werth) zwischen der tödtlichen Minimaldosis und der Dosis, welche eben wahrnehmbare tetanische Symptome auslöst, ist, wenn wir die Prüfungen nach 26¹/₂ Stunden in Betracht ziehen, etwas grösser bei der Lymphe als bei dem Blute, denn ob schon das Blut ein wenig mehr Gift enthielt als die Lymphe, so ist doch die Maus bei der Prüfung der Lymphe auf 2000 — Ms leichtkrank geworden, aber die entsprechende Maus bei der Prüfung des Blutes ist ohne Krankheitserschei-

³⁾ Behring, Allg. Therapie der Infectiouskrankheiten. II. Theil. S. 1061, Wien 1900.

nungen geblieben. Freilich ist der Unterschied nur ein sehr geringer.

Die Ergebnisse der Prüfungen bei den beiden Hunden stimmen, sofern sie vergleichbar sind, gut mit einander überein. Bedeutungsvoll ist die Thatsache, dass bei intactem Ductus thoracicus etwa 26 Stunden nach der intravenösen Injection des Tetanusgiftes (Hund 6) eine beinahe gleichmässige Vertheilung des Giftes zwischen dem Blute und der Lymphe stattgefunden hatte.

Bei dem Uebergang aus der Blutbahn in die Lymphe scheint das Tetanusgift an sich keine wesentliche Veränderung erlitten zu haben. Die Symptome der Blutgiftmäuse waren von der der Lymphgiftmäuse ununterscheidbar. Bei den Prüfungen der indirekten Giftwerthe ist nichts Auffallendes beobachtet worden.

Nachdem das Verhältniss des Toxins im Blute zu dem Toxin in der Lymphe in dieser Weise untersucht worden war, lag es nahe, ähnliche Versuche mit Antitoxin auszuführen.

Versuch III.

Einführung des Tetanusantitoxins in die Blutbahn nach Eröffnen des Ductus thoracicus.

Protokoll 12.

Hund Nr. 4

6. II. 00.

Genas.

12600 g

Eröffnung des Ductus thoracicus.
10 Minuten nachher Einführung in die
V. jugularis externa von 10 ccm. Tetanus-
antitoxinlösung (Pferdeserum) = 320000
— Ms pro 1 g Körpergewicht.
6 Stunden nach der Antitoxininjection
Blut abgenommen aus der arteria
femoralis.

Zunächst musste man sich informiren, ob die Hundelymphe an sich einen Einfluss auf das Tetanustoxin ausübe. Zu diesem Zweck wurde vor der Injection des Antitoxins etwas Lymphe gesammelt und damit Kontrollversuche gemacht.

Protokoll 13.

Maus Nr. 186
14.4 g

7. II. 00, 4 Uhr Nachmittags.
 { 0,1 ccm. $\frac{\text{Tet.-Gifflösung 28. 1. 00}}{12000} = 50 + \text{Ms.}$
 { 0,5 ccm. Lymphserum von Hund 4 vor
 der Antitoxininjection.

8. II. 9 Uhr M. 0?
 5 > A. —
 9. II. 9 > M. =
 5 > A. =
 10. II. 9 > M.
 + gef.
 Ca. 60 Stunden.

Protokoll 14.

Maus Nr. 188
13.5 g

7. II. 00, 7 Uhr Abends.
 0.4 ccm. $\frac{\text{Tet.-Gifflösung 28. 1. 00}}{48000} = 50 + \text{Ms.}$

8. II. 9 Uhr M.
 Spur
 5 Uhr A. —
 9. II. 9 > M. =
 5 > A. =
 10. II. 9 Uhr M. =
 10 > > +
 63 Stunden.

Ein deutlicher Unterschied in dem Verlauf der Krankheit, je nachdem die Gifflösung mit Serum oder mit Wasser verdünnt wurde, war danach nicht wahrzunehmen.

Wir gehen jetzt zu der Betrachtung der Blut- und Lymphprüfungen über, deren Ergebnisse in Tafel 3 zu finden sind.

Tafel 3. — Hund 4.

Lymphserum.

Zeit nach der Antitoxininjection	Prüfung auf Antitoxinwerth		
	Geprüft auf in 1 ccm.	Verlauf	Antitoxinwerth in 1 ccm. circa
Erste 1/4 Stunde	10 000—Ms.	○	30 000—Ms.
	40 000—Ms.	=	
	100 000—Ms.	+ 24 Stunden	
Zweite 1/4 Stunde	100 000 - Ms.	○	250 000—Ms.
	250 000—Ms.	○	
	500 000—Ms.	+ 32 Stunden	

Zeit nach der Antitoxininjection	Prüfung der Antitoxininjection		
	Gepprüft auf in 1 cem.	Verlauf	Antitoxinwerth in 1 cem. circa
1—1½ Stunden	500 000—Ms.	○	800 000—Ms.
	1 000 000—Ms.	+ 5 Tage	
	1 200 000—Ms.	+ 48 Stunden	
2—2½ Stunden	1 000 000—Ms.	+ 5½ Tage	850 000—Ms.
	1 200 000—Ms.	+ 63 Stunden	
3—3½ Stunden	1 000 000—Ms.	+ 7 Tage	900 000—Ms.
	1 200 000—Ms.	+ 3½ Tage	
4—4½ Stunden	1 000 000—Ms.	—	950 000—Ms.
	1 200 000—Ms.	—	
6—6½ Stunden	1 200 000—Ms.	○	1 200 000—Ms.
	1 600 000—Ms.	—	
	2 000 000—Ms.	+ 30 Stunden	
Blutserum.			
6 Stunden	2 500 000—Ms.	○	3 000 000—Ms.
	3 000 000—Ms.	spur.	
	4 000 000—Ms.	+ 3½ Tage	

Schon in den ersten 15 Minuten nach der Antitoxininjection war eine beträchtliche Menge Antitoxin aus dem Blute in die Lymphe übergetreten. Da die für die Prüfung auf 10000 — Ms gebrauchte Maus gesund blieb, das für die Prüfung auf 40000 — Ms benutzte Thier dagegen mässig krank wurde, so können wir dem Lymphserum für diese Periode einen Antitoxinwerth von ca. 30000 — Ms in 1 cem. zuschreiben. In der 2ten Viertelstunde liegt der Antitoxinwerth des Lymphserums bei ca. 250000 — Ms in 1 cem. Das Lymphserum aus dem Zeitraum 1 Stunde bis 1½ Stunden nach der Injection hat ca. 800000 Ms in 1 cem. Von diesem

Zeitpunkt an steigt der Antitoxinwerth in langsamerem Tempo. In dem Lymphserum aus der Periode 2 bis 2¹/₂ Stunden war 1 Million — Ms in 1 ccm. noch nicht erreicht — die entsprechende Maus starb nach 5¹/₂ Tagen. Sogar bei der Prüfung des Lymphserums aus dem Zeitraum 4 bis 4¹/₂ Stunden nach der Injection wurde die für die Prüfung auf 1 Million — Ms gebrauchte Maus leicht krank. Wir nehmen demnach, bei Betrachtung der Tafel 3, eine stetige Steigerung des Antitoxinwerthes des Lymphserums bis zum Ende des Versuches wahr, aber die Steigerung war während der ersten Stunde schneller als nachher. Sechs Stunden nach der Antitoxininjection wurde Blut aus der Arteria femoralis entnommen. Die Prüfung ergab einen Antitoxinwerth von knapp 3 Millionen — Ms in 1 ccm. Serum. Da das Lymphserum aus der Periode 6 bis 6¹/₂ Stunden ca. 1,2 Million — Ms in 1 ccm. hatte, so war das Antitoxinverhältniss von Blutserum zu Lymphserum etwa wie 2,6 : 1 in der Volumeinheit.

Um den Krankheitsverlauf bei den Prüfungen zu veranschaulichen, gebe ich hier einige Protokolle wieder.

Protokoll 15.

Maus Nr. 194	8. II. 00.	9. II. Spur	
16 g			
0,1 ccm.	Tet.-Gifflösung	28. I. 00.	10. II. —
	30	= 20000 + Ms	11. II. —
0,5 ccm.	Lymphserum Hund 4		12. II. —
	1te Viertelstunde.		13. II. =
Serum geprüft auf 40000 — Ms in 1 ccm.			14. II. —
			15. II. —
			16. II. =
		erholte sich allmählich.	

Protokoll 16.

Maus Nr. 265	19. II. 00.	20. II. —	
11,5 g			
0,2 ccm.	Tet.-Gifflösung	28. I. 00.	21. II. =
	30	= 40000 + Ms	22. II. =
0,2 ccm.	Lymphserum Hund 4		23. II. =
	1 bis 1 ¹ / ₂ Stunden		24. II. =
Serum geprüft auf			25. II. +
1 ccm. = 1 Million — Ms.		gefunden 5 ¹ / ₂ Tage.	

Protokoll 17.

Maus Nr. 249

11.5 g

	19. II. 00.	20. II. =
0.2 ccm.	Tet.-Giftlösung 28. I. 00	21. II. =
	30 = 40000 + Ms	10 Uhr +
	Lymphserum Hund 4	49 Stunden.
0.2 ccm.	1 bis 1½ Stunden	
	6	
	Serum geprüft auf	
	1 ccm. = 1.2 Million — Ms.	

Protokoll 18.

Maus Nr. 246

	19. II. 00.	20. II. —
0.2 ccm.	Tet.-Giftlösung 28. I. 00	21. II. —
	30 = 40000 + Ms	22. II. —
	Lymphserum Hund 4	23. II. =
0.2 ccm.	4 bis 4½ Stunden	24. II. —
	6	25. II. =
	Serum geprüft auf	26. II. =
	1 ccm. = 1.2 Million — Ms.	27. II. =
		28. II. =
		1. III. =
		2. III. =
		3. III. =
		4. III. =
		erholte sich.

Protokoll 19.

Maus Nr. 259

10 g

	21. II. 00.	22. II. —
0.2 ccm.	Tet.-Giftlösung 28. I. 00	23. II. =
	30 = 40000 + Ms	24. II. =
	Blutserum Hund 4	25. II. +
0.2 ccm.	6 Stunden	gefunden
	20	3½ Tage.
	Serum geprüft auf	
	1 ccm. = 4 Millionen — Ms.	

Maus Nr. 260

11.5 g

Protokoll 20.

	21. II. 00.	22. II. 0
0.2 ccm.	Tet.-Giftlösung 28. I. 00	23. II. Spur
	30 = 40000 + Ms	24. II. —
	Blutserum Hund 4	25. II. —
0.2 ccm.	6 Stunden	26. II. —
	15	27. II. —
	Serum geprüft auf	28. II. —
	1 ccm. = 3 Millionen — Ms.	1. III. —
		erholte sich.

Das Krankheitsbild war augenscheinlich dasselbe beim Blute und bei der Lymphe. Es ist ferner nichts beobachtet worden, das auf eine Veränderung des Antitoxins beim Uebergang aus dem Blute in die Lymphe schliessen lässt.

In Anbetracht der Ergebnisse von Versuch II erschien es mir nothwendig, die Antitoxinverhältnisse zwischen Blut und Lymphe zu ermitteln, nachdem das Antitoxin längere Zeit dem Körper einverleibt worden war.

Versuch IV.

Eröffnung des Ductus thoracicus 68 Stunden nach der intravenösen Injection von Tetanusantitoxin.

Protokoll 21.

Hund Nr. 8 12250 g	2. III. 00 4 Uhr Nachmittags. 1 cem. Tetanusantitoxinlösung in die Ohrvene = 32600 — Ms pro 1 g Körpergewicht. 5. III. 00 12 Uhr Mittags. Ductus thoracicus eröffnet. Blut aus der arteria femoralis.
-----------------------	---

Die Ergebnisse der Prüfungen von dem Blute und der Lymphe sind in Tafel 4 aufgestellt.

Tafel 4. — Hund 8.

Lymphserum.

Zeit nach der Antitoxininjection	Prüfung der Antitoxininjection		
	Geprüft auf in 1 cem.	Verlauf.	Antitoxinwerth in 1 cem. circa
68—68½ Stunden	100 000—Ms.	+ 2½ Tage	75 000— Ms.
	90 000—Ms.	=	
	80 000—Ms.	—	
	75 000—Ms.	○	

Blutserum.

Zeit nach der Antitoxininjection	Prüfung der Antitoxininjection		
	Gepprüft auf in 1 cem.	Verlauf	Antitoxinwerth in 1 cem. circa
68 Stunden	400 000—Ms.	+ 36 Stunden	200 000—Ms.
	300 000—Ms.	+ 2½ Tage	
	250 000—Ms.	≡	
	200 000—Ms.	○	

Wir können aus der Tafel entnehmen, dass auch 68 Stunden nach der intravenösen Injection des Antitoxins das Blutserum beträchtlich mehr Antitoxin als das Lymphserum enthielt. Die Zahlenverhältnisse sind ca. 200 000 — Ms in 1 cem. Blutserum und ca. 75 000 — Ms in 1 cem. Lymphserum, also etwa 2,6 : 1.

Eine bedeutende Menge Antitoxin war während der 68 Stunden aus dem Blut-Lymphkreislauf verschwunden, denn obschon der Hund, wenn wir wie bei Hund 3 rechnen, $\left(\frac{400000000}{1_{18} \cdot 1_{12} \cdot 12 \cdot 250} = \text{ca. } 280000 \right)$ gleich nach der Antitoxininjection ca. 280 000 — Ms in 1 cem. Blut-Lymphserum hatte, so fand ich nach Verlauf von 68 Stunden nur 137 500 — Ms in 1 cem. wieder.

Sehr beachtenswerth ist die Thatsache, dass nach so langer Zeit das Blutserum immer noch bedeutend mehr Antitoxin als das Lymphserum enthielt. Somit verhält sich das Antitoxin in dieser Beziehung ganz anders als das Toxin, denn wie wir bei Hund Nr. 4 gesehen haben, war bei intactem Ductus thoracicus 26 Stunden nach der Giftinjection der Giftgehalt der Lymphe dem des Blutes annähernd gleich.

Wenn diese Versuche eigentlich als ein Beitrag zu der Tetanusfrage anzusehen sind, so haben sie ausserdem noch ein physiologisches Interesse. Aehnliche Bestimmungen mit

anderen Stoffen wie Zucker, Kochsalz, Jodnatrium, Pepton u. s. w. sind gemacht worden, so viel mir jedoch bekannt, ist hier zum ersten Male der Versuch gemacht, ein in die Blutbahn eingeführtes Bakteriengift quantitativ in der Lymphe nachzuweisen. H. Nasse¹⁾ injicirte Zucker in die Blutbahn. Schon in den ersten Minuten trat Zucker aus dem Blute in die Lymphe und bald wurde der Gehalt der Lymphe an Zucker erheblich grösser als der des Blutes. Shore²⁾ fand, dass Pepton, langsam in die Blutbahn eingeführt, mit dem Harn ausgeschieden wurde, ohne deutlich in der Lymphe zu erscheinen. Wurde das Pepton schnell in die Blutbahn gebracht, so trat es hauptsächlich in die Lymphe über. Acht Minuten nach der Injection von 4,3 g Pepton war kein Pepton mehr im Blute nachweisbar. Heidenhain³⁾ untersuchte den Procentgehalt des Blutes und der Lymphe an Zucker nach intravenöser Injection. Gleich nach Beendigung der Injection beginnt der Zuckergehalt des Blutes zu sinken, der Zuckergehalt der Lymphe steigt aber trotzdem. Nach einiger Zeit beginnt auch der Zuckergehalt der Lymphe zu fallen, aber langsamer, so dass der Unterschied zwischen beiden noch zunimmt. Nach intravenöser Injection von Jodnatrium fand Asher⁴⁾ nach 10—15 Minuten mehr Jodnatrium im Blute als in der Lymphe: nach 2 Stunden 40 Minuten mehr in der Lymphe als im Blute. Cohnstein⁵⁾ injicirte Ferrocyanatriumlösung in die Blutbahn und untersuchte Blut und Lymphe mittelst der Berlinerblau-Reaction. Er fand:

4 Min. nach der Injection	{ Lymphe kaum Reaction. Blut deutlich.
22 » » » »	{ Lymphe maximum. Blut negativ.
48 » » » »	{ Lymphe noch deutlich. Blut negativ.

1) H. Nasse, Lymphbildung. Marburg, 1872.

2) Shore, On the Fate of Peptone in the Lymphatic System. Journal of Physiology. 1890. Vol. XI. S. 529.

3) Heidenhain, Pflüger's Archiv, 1891, Bd. 49.

4) Asher, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIX, 1892.

5) Cohnstein, Pflüger's Archiv, 1895, Bd. 59, S. 508; 1896, Bd. 63, S. 587.

Hierher gehören auch viele andere Versuche Cohnstein's. Mendel¹⁾ berichtete über Resultate ähnlich wie Heidenhain. Popoff²⁾ hat das Concentrationsmaximum bei Zucker niemals höher in der Lymphe als im Blute gefunden. J. Munk³⁾ spritzte Strychnin unter die Kopfhaut von Kaninchen und legte das entsprechende Lymphgefäss frei. Die Symptome erschienen zur selben Zeit, ob die Lymphbahn nach aussen geöffnet oder normal war. In der abgeleiteten Lymphe war Strychnin niemals sicher nachzuweisen.

Unser Tetanusgift ist eine Fällung aus Pepton-Fleischbouillon, und man hätte vielleicht erwarten können, dass das Gift mehr Aehnlichkeit mit Pepton als mit den andern oben erwähnten Stoffen zeigen würde. So liegt die Sache aber nicht, denn während Pepton sogar in Spuren in die Blutbahn eingeführt, schnell aus dem Blute entfernt und durch den Harn ausgeschieden wird,⁴⁾ vertheilt sich das Tetanusgift in Blut und Lymphe und verschwindet gleichmässig und langsam aus beiden. In dieser Beziehung ist noch zu erwähnen, dass das Tetanusgift, d. h. die Mischung von Gift mit fremden Substanzen, welche wir aus Mangel an einem reinen Präparat das Tetanusgift nennen, ein schwer dialysirbarer Körper ist⁵⁾ (ich habe Giftlösung drei Tage lang in einer Diffusionshülse von Schleicher und Schüll gegen fliessendes Wasser dialysirt ohne bedeutenden Verlust, was jedoch nicht verhindert, dass ein Theil schnell aus der Blutbahn in die Lymphe übertritt).

Unsere Kenntniss von der Natur der Antitoxine ist noch mangelhaft und wir wissen nicht, unter welcher chemischen Form sie im Serum existiren. In Anbetracht jedoch der näheren Beziehungen zwischen den Antitoxinen und den Proteinstoffen ist es eine interessante Beobachtung, dass das Tetanusantitoxin so schnell und in solchen Mengen aus dem

1) Lafayette Mendel, Journal of Physiology, Bd. XIX, S. 227.

2) Popoff, Centralblatt f. Physiologie, Bd. 9, S. 52.

3) J. Munk, Du Bois-Archiv, 1895, S. 387.

4) Hoffmeister, Zeitschr. f. phys. Chemie, Bd. V, 1881.

Neumeister, Zeitschr. f. Biologie, Bd. XXIV, 1888.

5) Tizzoni und Cattani, Centralblatt f. Bakteriologie, 1890, S. 69.

Blute in die Lymphe übergeht. Ob es in Verbindung mit anderen Bestandtheilen des Serums oder frei für sich austritt, lässt sich aus den Versuchen nicht entscheiden, jedenfalls ist eine Veränderung in dem Verhalten des Lymphantitoxins zum Gift nicht nachgewiesen. Wir haben danach keine Veranlassung, anzunehmen, dass bei dem Uebergang aus dem Blute in die Lymphe das Antitoxin eine Veränderung erleidet.

Die Versuche Metschnikoff's¹⁾ haben gezeigt, dass das Tetanusgift sich lange in dem Blute von Kaltblütern aufhalten kann, ohne Tetanus hervorzurufen. Die in meiner Arbeit berichteten Thatsachen beweisen weiter, dass beim Hunde das Tetanusgift längere Zeit in der Lymphe verweilte, wahrscheinlich also in unmittelbarer Berührung mit den Gewebszellen, ohne gleich Tetanus hervorzurufen. Jeder der beiden mit Gift behandelten Hunde erhielt etwa vier Mal die tödtliche Minimaldosis für seine Grösse, und wenn in der Lymphe nur 500 + Ms in 1 ccm. vorhanden waren, so stand in nächster Nähe der Zellen mehr Gift, als zum Auslösen eines tödtlichen Tetanus genügen würde.

Fassen wir die Ergebnisse der Versuche kurz zusammen, so ersehen wir:

Nach Einbringen von Tetanusgift in die Blutbahn von Hunden trat ein beträchtlicher Theil des Giftes schnell in die Lymphe über.

War der Blut-Lymphkreislauf intact, so hatte sich das Gift nach etwa 26 Stunden annähernd gleichmässig in Blut und Lymphe vertheilt.

Wurde der Ductus thoracicus kurz vor der intravenösen Injection des Giftes geöffnet, so dass die Lymphe ununterbrochen nach aussen floss, dann blieb der Giftwerth des Blutes wenigstens bis zu 6 Stunden nach der Injection deutlich höher als der der Lymphe.

Während der allmählichen Verminderung des Giftwerthes, welche nach dem Erreichen der Maxima bei der Lymphe wie bei dem Blute stattfand, blieb das Giftverhältniss der beiden

¹ Metschnikoff, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897. S. 801.

Flüssigkeiten zu einander, bei nach aussen fliessender Lymphe, bis zur 6. Stunde nach der Giftinjection ohne auffallende Veränderung.

Nach Einbringen von Tetanusantitoxin (Pferdeserum) in die Blutbahn von Hunden fing das Antitoxin bald an in die Lymphe überzutreten.

Bei geöffnetem Ductus thoracicus behielt das Blut wenigstens bis zu 6 Stunden nach der Injection etwas mehr Antitoxin, als in die Lymphe übergegangen war.

Bei intactem Ductus thoracicus hatte 68 Stunden nach der intravenösen Injection des Antitoxins eine gleichmässige Vertheilung zwischen Blut und Lymphe nicht stattgefunden, sondern das Blut enthielt beträchtlich mehr Antitoxin als die Lymphe.

Weder bei dem Gifte noch bei dem Antitoxin war eine auffallende Veränderung nach dem Uebergang vom Blute zur Lymphe nachzuweisen. Somit wäre der Schluss gerechtfertigt: Das Tetanustoxin verhält sich nach Einführung in die Blutbahn von Hunden wie die normalen anorganischen Bestandtheile des Blut-Lymphkreislaufs, indem es sich nach einer gewissen Zeit gleichmässig zwischen Blut und Lymphe vertheilt. Das Tetanusantitoxin (Pferdeserum) dagegen unter denselben Bedingungen bleibt in Ueberschuss im Blute, verhält sich also wie die Proteinstoffe des Blut-Lymphkreislaufs.
