

Zur Kenntnis der aktiven Substanz des Milzbrandserums.

Von

Alberto Ascoli.

(Aus dem Serotherapeutischen Institut in Mailand.)

(Der Redaktion zugegangen am 11. Juni 1906.)

Unsere Kenntnisse über die immunisierende Substanz des Milzbrandserums sind ziemlich dürftig. Sobernheim¹⁾ meint, daß es sich um einen sehr widerstandsfähigen Antikörper handeln müsse, denn derselbe behält beim Erwärmen auf 60—70° seine Wirksamkeit bei und büßt dieselbe nicht einmal im Laufe der Jahre beträchtlich ein, selbst wenn man auch bei der Konservierung jene Vorsichtsmaßregeln außer acht läßt, welche, wie Schutz vor Luft und Licht und die niedere Temperatur, die Haltbarkeit der Sera zu begünstigen scheinen. Wenn man das Serum gefrieren und wiederauftauen läßt, so scheint sein Wert abzunehmen und in demselben Sinne soll nach Sobernheim auch die Filtrierung durch Kerzen wirken. Ottolenghi²⁾ suchte, unter Herbeiziehung der genialen Ehrlichschen Anschauungen über die Hämolytine, festzustellen, ob die bakterizide Substanz des Milzbrandserums aus einem thermolabilen Anteil (Alexin Komplement) und einem thermostabilen (Ambozeptor) zusammengesetzt sei. Obwohl seine Versuche keine sicheren Schlüsse zulassen, so sprechen dieselben doch gegen die Auffassung, daß die Immunsbstanz des Milzbrandserums eine ähnliche Struktur besitzen mögen wie andere bakterizide

¹⁾ Sobernheim, Über das Milzbrandserum und seine praktische Anwendung, Deutsche med. Wochenschrift, 1904, Nr. 26.

²⁾ Ottolenghi, Sul carbonchio sperimentale nelle cavie e sul valore protettivo del Siero Scavo contro tale infezione. Atti R. Accad. Fisiocr., S. IV, Vol. XIV.

und hämolytische Sera. In der Tat gelang es auch Sobernheim¹⁾ bei seinen Versuchen, das Pfeiffersche Phänomen durch Einspritzung von Milzbrandserum und Bacillengemischen ins Peritoneum bei Kaninchen und Meerschweinchen hervorzurufen, nicht, eine Verschiedenheit zwischen spezifischem und nichtspezifischem Serum nachzuweisen noch insbesondere eine ausgesprochenere Bakteriolyse unter dem Einflusse des Milzbrandserums zu beobachten. Bemerkenswert ist es, daß nach den Erfahrungen von Sobernheim²⁾ kein Parallelismus zwischen immunisierender und agglutinierender Wirkung des Milzbrandserums besteht, während Carini³⁾ fand, daß unter bestimmten Bedingungen Sera, welche etwa denselben Immunisierungswert besitzen, auch ungefähr dasselbe Agglutinationsvermögen aufweisen. Nach Sobernheim⁴⁾ unterscheidet sich die bakterizide Wirkung des Milzbrandserums nicht von jener des Normalserums, nach Ottolenghi⁵⁾ soll hingegen die Bakterizidie des normalen Eselsserums weniger ausgesprochen und prompt sein als beim Immunserum, bei beiden Serumarten durch einstündiges Erwärmen auf 57—58° zerstört und durch Zusatz normalen Serums wiederhergestellt werden. Das bakterizide Vermögen des Milzbrandserums, welches Ottolenghi auf die kombinierte Wirkung des spezifischen Ambozeptors und des Alexins zurückführt, soll weder durch Ätherzusatz noch durch Altern oder Filtrierung durch Berkefeldsche Kerzen verloren gehen. Unlängst fand Cler,⁶⁾ nach der Methode der Komplementabsorption von Bordet arbeitend, im Milzbrandserum spezifische Ambozeptoren für Anthrax, die er im Normalserum der Serumtiere vermißte.

¹⁾ Sobernheim, Weitere Untersuchungen über Milzbrandimmunität, Zeitschr. f. Hyg., Bd. XXXI, S. 117.

²⁾ Sobernheim, l. c. und Deutsche med. Wochenschr., 1904, Nr. 41.

³⁾ Carini, Über die Agglutination des Milzbrandbacillus, Deutsche med. Wochenschr., 1904, Nr. 33.

⁴⁾ l. c.

⁵⁾ Ottolenghi, Sopra alcune proprietà del siero anticarbonchioso. Atti R. Accad. Fisiocr., 1904, Sitzung vom 26. März.

⁶⁾ Cler, Intorno a qualche proprietà del siero anticarbonchioso Scavo. Giornale R. Accad. di Medic. di Torino. Anno 68, 1905, Nr. 5—6.

Wenn man demnach berechtigt ist, unsere chemischen Kenntnisse über die wirksame Substanz des Milzbrandserums als recht dürftige zu bezeichnen, so sind die Ergebnisse, welche bei Erforschung ihrer Struktur nach den Ehrlichschen Hypothesen erzielt wurden, erst recht ungenau, wenn nicht geradezu einander widersprechend.

Es wollte mir scheinen, als ob die Unsicherheit der bisher erzielten Ergebnisse in erster Linie von den Schwierigkeiten abhing, denen bisher eine exakte Bestimmung der Immuns substanz begegnete; nachdem es mir unlängst geglückt war, eine Wertbestimmungsmethode des Milzbrandserums auszuarbeiten,¹⁾ konnte ich nunmehr an die Lösung einiger Fragen schreiten, deren Studium ich schon vor über drei Jahren begonnen hatte.

Solange in der Tat der Zweifel zu Recht besteht, daß das eventuelle Agglutinationsvermögen und etwaige bakterizide Eigenschaften des Milzbrandserums von der Immunwirkung unabhängig einfach neben derselben im Serum existieren können, dürfte nur das direkte Studium letzterer imstande sein, uns über die aktive Substanz des Milzbrandserums aufzuklären. Um die Frage in Angriff zu nehmen, ob die Immuns substanz zur Gruppe der Ambozeptoren im Sinne Ehrlichs gehört, mußte zuerst bestimmt werden, ob die Immuns substanz durch Tonfilter hindurchgeht, umsomehr als nach Sobernheim durch die Filtration der Wert des Serums herabgesetzt werden soll.

In einer ersten Versuchsreihe wurde demnach vor allem der Schutzwert dreier Milzbrandsera vom Esel vergleichend vor und nach der Filtrierung durch Berkefeldsche Filter bestimmt. Die Titrierungen wurden am Meerschweinchen nach meiner Methode vorgenommen, indem das Serum intraperitoneal und die Kultur 24 Stunden später ins Peritoneum eingespritzt wurden oder Serum und Kultur beide subkutan mit einem Abstände von dreimal 24 Stunden zwischen den beiden Einspritzungen. Die Tiere wurden eine Woche lang in Beobachtung gehalten; denn obgleich auch nach diesem Zeitraume noch Tiere ein-

¹⁾ Ascoli, Über die Wertbestimmung des Milzbrandserums, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten, 1906.

zugehen pflegen, so ist diese Beobachtungsdauer für Titrierzwecke ausreichend, umsomehr als die Meerschweinchen, welche nach diesem Termin sterben, gewöhnlich das charakteristische Ödem vermissen lassen und mehr die visceralen Veränderungen aufweisen, ja in einigen Fällen fehlen auch diese und ist die Diagnose auf Milzbrand nur durch eine genaue mikroskopische und kulturelle Untersuchung zu stellen.

Tafel I.

Wertbestimmungen desselben Serums

vor der Filtrierung
durch Berkefeldsche Kerze.

nach der Filtrierung
durch Berkefeldsche Kerze.

Milzbrandserum von Esel Nr. 4.

Menge des Serums ccm	Gewicht des Tieres g	Ausgang	Be-merkungen	Menge des Serums ccm	Gewicht des Tieres g	Ausgang	Be-merkungen
2	300	lebt	—	2	320	lebt	—
2	300	»	—	2	300	»	—
1	350	»	—	1	310	»	—
1	310	»	—	1	320	† 3 1/2	Milzbrand
1	300	»	—	1/2	300	† 2 3/4	»
1	370	† 5 2/3	Milzbrand	Kontrolle	280	† 2 1/2	»
1/2	330	lebt	—	»	290	† 2 1/2	»
1/2	370	† 5 1/2	Milzbrand	»	280	† 2 1/2	»
1/2	300	† 4 1/2	»	»	500	† 2 1/2	»
Kontrolle	330	† 2 1/2	»				
»	300	† 4 1/2	»				
»	280	† 2 1/2	»				
»	290	† 2 1/2	»				
»	280	† 2 1/2	»				
»	500	† 2 1/2	»				

Milzbrandserum von Esel Nr. 3.

Menge des Serums ccm	Ge- wicht des Tieres g	Aus- gang	Be- merkungen	Menge des Serums ccm	Ge- wicht des Tieres g	Aus- gang	Be- merkungen
4	280	lebt	—	2	270	lebt	—
2 ¹ / ₃	300	»	—	2	260	»	—
2	360	»	—	1	260	»	—
2	370	»	—	1/2	280	† 3 ¹ / ₂	Milzbrand
2	270	»	—	Kontrolle	480	† 2	»
2	270	»	—	»	320	† 2 ¹ / ₂	»
1	340	»	—				
1	300	»	—				
1	300	»	—				
1	290	† 7	Milzbrand				
1/2	400	† 3 ¹ / ₂	»				
Kontrolle	480	† 2	»				
»	400	† 3 ¹ / ₃	»				
»	320	† 2 ¹ / ₂	»				
»	300	† 2 ² / ₃	»				
»	280	† 2 ² / ₃	»				

Milzbrandserum von Esel Nr. 6.

Menge des Serums ccm	Ge- wicht des Tieres g	Aus- gang	Be- merkungen	Menge des Serums ccm	Ge- wicht des Tieres g	Aus- gang	Be- merkungen
2	280	lebt	—	2	410	*lebt	—
2	280	»	—	2	360	»	—
2	300	»	—	2	340	»	—
2	260	† 3 1/2	Milzbrand	2	310	»	—
1	390	lebt	—	2	310	»	—
1	290	»	—	2	310	»	—
1	260	† 8	Milzbrand	2	310	»	—
1	300	lebt	—	2	310	»	—
Kontrolle	270	† 2 1/3	Milzbrand	2	310	»	—
»	280	† 3 1/3	»	2	310	† 5	Milzbrand
				2	300	† 6	»
				1	400	lebt	—
				1	340	† 5	Milzbrand
				1/2	330	† 4 1/2	»
				1/2	400	† 3 1/2	»
				Kontrolle	530	† 3	»
				»	500	† 3	»
				»	530	† 3 1/2	»
				»	570	† 3 3/4	»

Die Versuche, welche über die Filtrierbarkeit der aktiven Substanz des Serums durch Berkefeldsche Kerzen zu entscheiden hatten, sind in Tafel I zusammengestellt, aus welcher in unzweideutiger Weise hervorgeht, daß die Immuns substanz das Berkefeldsche Filter zu passieren vermag. Es ist zwar nicht absolut auszuschließen, daß der Immunisierungswert des Serums nicht um etwas abgenommen hat, schon weil die Filtrierung an sich eine geringe Verdünnung des Serums bewirkt, doch war jedenfalls der geringe Verlust an Immuns substanz nicht imstande, den Gang der folgenden Versuche zu stören.

Tafel II.

Wertbestimmungen von Milzbrandserum Nr. 6

a) nach einfacher Filtrierung durch Berkefeld

b) nach mehrstündiger Berührung mit Milzbrandbakterienleibern und nachfolgender Filtrierung durch Berkefeld.

Menge des Serums ccm	Gewicht des Meerschweinchens g	Ausgang	Bemerkungen	Menge des Serums ccm	Gewicht des Meerschweinchens g	Ausgang	Bemerkungen
4	390	lebt	—	4	410	lebt	—
4	320	»	—	4	380	»	—
3	400	»	—	3	330	»	—
3	320	† 4 ¹ / ₂	Milzbrand	3	340	»	—
2	410	lebt	—	2	450	»	—
2	310	† 5	Milzbrand	2	310	»	—
1	400	lebt	—	1	380	»	—
1	340	† 5	Milzbrand	1	460	† 3 ¹ / ₂	Milzbrand
1/2	330	† 4 ¹ / ₃	»	1/2	490	† 3 ¹ / ₂	»
1/2	400	† 3 ¹ / ₂	»				
Kontrollier	530	† 2 ³ / ₄	»				
»	500	† 2 ³ / ₄	»				
»	530	† 3 ¹ / ₃	»				
»	570	† 3 ³ / ₄	»				

In einer zweiten Versuchsreihe konnte nunmehr dazu geschritten werden, in einfacher Weise festzustellen, ob die Immunsubstanz des Milzbrandserums sich wie ein Ambozeptor an ihr Antigen verankere; wenn dies der Fall war, so mußte das Serum den Immunkörper unter geeigneten Bedingungen bei Berührung mit einer Milzbrandbacillenemulsion an die Bakterienleiber abgeben und mithin einerseits das Serum an Schutzwert eingebüßt haben, andererseits der Milzbrandbacillus sensibilisiert worden sein. Zur Entscheidung dieser Frage wurde eine Agarplatte unseres Milzbrandvaccins, gegen welchen das Milzbrandserum Meerschweinchen zu schützen vermag, in 70 ccm Milzbrand-

serum fein verteilt, so daß eine homogene Emulsion der Bakterienleiber im Serum entstand, welche einige Stunden lang im Brutschrank und hierauf über Nacht im Eisschrank gehalten wurde. Hierauf wurde auf der einen Seite das mit den Bakterien in Berührung gelassene Serum, auf der anderen eine entsprechende Menge desselben in keiner Weise vorbehandelten Serums durch Berkefeldsche Filter geschickt. Die Wertbestimmungen der beiden Filtrate wurden parallel ausgeführt und sind in Tafel II zusammengestellt: es ergab sich, daß die beiden Filtrate etwa denselben Schutzwert besaßen, während die auf dem Filter zurückgebliebenen vom Serum befreiten Milzbrandbacillen ihre Virulenz beibehalten hatten.

Es zeigte demnach die aktive Substanz des Serums nicht das Verhalten eines Ambozeptors und durfte sich demnach von den spezifischen Zwischenkörpern unterscheiden, welche von Ottolenghi und Cler im Milzbrandserum gefunden wurden; und ebenso ist sie von den bakteriziden Substanzen des Normalserums zu trennen, welche Bail¹⁾ eingehend studiert hat.

In einer dritten Versuchsreihe wurde zur Charakterisierung der Immuns substanz der Versuch gemacht, zu bestimmen, ob dieselbe in eine der Fraktionen übergehe, die durch verschiedene Sättigung des Serums mit Ammonsulfat erhalten werden. Diese Fraktionierung mit Ammonsulfat wurde zuerst von Belfanti und Carbone²⁾ zum Studium des Diphtherieantitoxins verwendet, das sie in eine bestimmte Serumfraktion hineinlokalisierten, welche später von Pick,³⁾ dem wir breit angelegte Untersuchungen über die Fraktionierung normaler und Immuns sera verdanken, als Pseudoglobulin angesprochen wurde. Weiterhin übertrugen Pick selbst und Ide und Lemaire⁴⁾ die Fraktionierung

¹⁾ Bail, Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde, Infektionskrankheiten, I. Abteil., Orig.-Bd. XXXIV u. XXXVI.

²⁾ Belfanti e Carbone, Contributo alla conoscenza della anti-tossina difterica. Archivio per le scienze mediche 1898, Vol. XXII, N. 2.

³⁾ Pick, Zur Kenntnis der Immunkörper, Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie, Bd. I.

⁴⁾ Ide et Lemaire, Arch. internation. de pharmacodynamie, 6, 1899.

auf das Studium des Choleraserums, Pick auf das Tetanus- und Typhusserum, Fuhrmann¹⁾ auf präzipitierende und hämolytische Sera, Rodhain²⁾ auf das Streptococcenserum, indem es ihnen gelang, die Antikörper in der einen oder in der anderen Fraktion wiederzufinden. Zu entgegengesetzten Resultaten gelangte hingegen Wolff,³⁾ welcher auf Grund seiner auf das Choleraserum beschränkten Untersuchungen annimmt, daß das Ammonsulfat wegen seiner deletären Wirkung auf die Immunsbstanzen sich zum Studium derselben gar nicht eigne und daß die Antikörper an keine bestimmten Fraktionen der Sera gebunden seien. Proescher⁴⁾ soll es zwar geglückt sein, das Diphtherieantitoxin vom Pseudoglobulin zu trennen, und Belfanti⁵⁾ gelang es, das an die Pseudoglobulinfraktion verankerte Hämolysin von den roten Blutkörperchen absorbieren zu lassen, ohne erstere zu verändern, doch widersprechen diese Ergebnisse nicht der Annahme, daß zwischen beiden eine durch die üblichen chemischen Reagentien nicht angreifbare Bindung vorliege.

Es mag an dieser Stelle noch erwähnt werden, daß nach Galeotti⁶⁾ durch fraktionierte Ammonsulfatfällungen die Trennung von Eiweißkörpern verschiedener Natur nicht zu erreichen ist, sondern daß man nur verschiedene Mengen einer und derselben Mischung erhält. Aus dem verschiedenen physiologischen Verhalten der durch derartige Fällungen erhaltenen Fraktionen geht hervor, daß der Satz in dieser allgemeinen Form wohl nicht ohne weiteres auf Immunsera übertragen werden kann.

Schon im Jahre 1903 hatte ich mir die Frage vorgelegt, ob die Immunwirkung des Milzbrandserums vorwiegend einer

¹⁾ Fuhrmann, Über Präcipitine und Lysine, Hofmeisters Beiträge, Bd. III, S. 417.

²⁾ Rodhain, Beitrag zur Kenntnis der wirksamen Substanzen des Antistreptococcenserums, Hofmeisters Beiträge, Bd. III.

³⁾ A. Wolff, Über den Gehalt der einzelnen Eiweißfraktionen des Serums an Choleraimmunkörpern, Zentralbl. f. Bakteriologie, Bd. XXXIII, 1903.

⁴⁾ Proescher, Münchener med. Wochenschrift, 1902, Nr. 28.

⁵⁾ S. Belfanti, Sui legami dell'emolisina. Primo Congresso dei Patologi italiani Torino, 2.—4. Oktober 1902.

⁶⁾ Galeotti, Über die Gleichgewichte zwischen Eiweißkörpern und Elektrolyten, I. Mitteilung, Diese Zeitschrift, Bd. XLIV, H. 5 u. 6.

Fraktion desselben zukäme. Ich bereitete mir damals nach dem gewöhnlichen Verfahren aus einem Milzbrandserum vom Esel drei Fraktionen, (Pseudoglobulin, Euglobin, Serumalbumin), deren Titrierung Herr Prof. Sclavo am Kaninchen vornahm. Die Resultate, welche in Tafel III niedergelegt sind, sprechen zwar für eine gewisse Wirksamkeit des Pseudoglobulins und für eine geringere des Serumalbumins, doch schienen dieselben nicht eindeutig genug, so daß von weiteren Untersuchungen Abstand genommen wurde, bis mich die von mir ausgearbeitete Methode instand setzte, eine ziemlich exakte Wertbestimmung am Meerschweinchen vorzunehmen.

Tafel III.

Wertbestimmungen.

a) des Ausgangsserums (Milzbrandserum vom Esel).			b) der Pseudoglobulinfraktion 2 ccm = 1 ccm Ausgangsserum.			
Menge des Serums ccm	Gewicht des Ka- ninchens g	Aus- gang	Menge des Pseudo- globulins ccm	Gewicht des Ka- ninchens g	Aus- gang	Bemer- kungen
5	1050	lebt	10	1400	lebt	—
5	1150	»	10	1300	»	—
5	1220	»	10	1250	† 4	Milzbrand

c) der Serumalbuminfraktion 2 ccm = 1 ccm Ausgangsserum				Kontrollkaninchen		
Menge des Serum- albumins ccm	Gewicht des Ka- ninchens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Gewicht g	Ausgang	Be- merkungen
10	1300	† 2	Milzbrand	1250	† 3	Milzbrand
10	1150	† 4	»	1380	† 2½	»
10	1250	lebt	—	950	† 2	»

Zu meinen gegenwärtigen Studien verwendete ich Milzbrandserum vom Esel und von der Ziege, aus denen drei

Fraktionen, Pseudoglobulin, Euglobulin und Serumalbumin, gewonnen wurden, deren Immunisierungswert unter einander vergleichend bestimmt wurde, woran sich eine parallele Wertbestimmung zwischen der aktiven Fraktion und dem Ausgangsserum anschloß.

Tafel IV.

Wertbestimmungen an den Fraktionen eines Milzbrandserums vom Esel.

Pseudoglobulin 1,25 ccm = 1 ccm Ausgangsserum.				Euglobulin $\frac{3}{4}$ ccm = 1 ccm Ausgangsserum.			
Menge ccm	Gewicht des Meer- schweinchens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Menge ccm	Gewicht des Meer- schweinchens g	Aus- gang	Bemer- kungen
10	270	lebt	—	10	270	† 4	Milzbrand
10	280	>	—	10	200	† $3\frac{3}{4}$	>
8	270	>	—	8	270	† $3\frac{1}{3}$	>
8	260	>	—	8	260	† $3\frac{3}{4}$	>
6	290	>	—	6	260	† $3\frac{1}{3}$	>
6	280	>	—	6	270	† 3	>
4	260	>	—	4	260	† $2\frac{1}{3}$	>
4	260	<	—	4	280	† 15	>
4	260	† $5\frac{1}{2}$	Milzbrand	4	300	† $3\frac{1}{3}$	>
4	280	† 4	>	4	260	† $2\frac{1}{3}$	>
2	290	lebt	—	2	300	† $2\frac{3}{4}$	>
2	280	† $3\frac{1}{2}$	Milzbrand	2	270	† $2\frac{1}{3}$	>
1	260	† $3\frac{1}{3}$	>	1	260	† $2\frac{1}{3}$	>
1	270	† 3	>	1	260	† $2\frac{1}{3}$	>
Kontrolltier	280	† 2	>	Kontrolltier	340	† 2	>
>	280	† 2	>	>	320	† $2\frac{1}{3}$	>
>	330	† $1\frac{1}{2}$	>	>	280	† $2\frac{3}{4}$	>
>	340	† $2\frac{1}{3}$	>	>	330	† $2\frac{3}{4}$	>

Serumalbumin 1 ccm = 1 ccm Ausgangsserum.				Dialysat des nach Halbsättigung erhaltenen Filtrates.			
Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen
15	260	† 2 ¹ / ₃	Milzbrand	20	370	† 2 ² / ₃	Milzbrand
10	280	† 5 ¹ / ₂	»	10	275	† 2	»
10	320	lebt	—	10	275	† 2 ¹ / ₂	»
6	270	† 2 ¹ / ₃	Milzbrand	6	280	† 2 ¹ / ₂	»
6	290	† 2 ¹ / ₃	»	4	270	† 2 ¹ / ₂	»
4	270	† 2 ¹ / ₃	»	2	280	† 2 ¹ / ₂	»
4	270	† 2 ¹ / ₃	»	Kontrollier	280	† 2	»
2	270	† 2 ² / ₃	»	»	270	† 2	»
				»	290	† 2	»

Die derart erzielten Ergebnisse sind in den Tafeln IV—VII zusammengestellt. Den Wertbestimmungen der drei aus Milzbrandserum vom Esel gewonnenen Fraktionen ist in Tafel IV noch die Prüfung des Schutzwertes des nach Halbsättigung erzielten Filtrates hinzugefügt worden. Aus der Betrachtung der Tafel ergibt sich ohne weiteres, daß die aktive Substanz des Milzbrandserums vom Esel in der Pseudoglobulinfraktion enthalten war. Deshalb wurde zu einer vergleichenden Wertbestimmung zwischen dem Pseudoglobulin und dem Ausgangsserum übergegangen, welches ein Gemisch dreier von Eseln gewonnener Milzbrandsera darstellte, um über die Menge der in der Pseudoglobulinfraktion wiedergefundenen Immuns substanz orientiert zu sein; die bezüglichen Resultate, welche in Tafel V wiedergegeben werden, sind zwar für das Serum etwas günstiger ausgefallen als für das Pseudoglobulin, doch ist der Unterschied zwischen den Werten beider gering, so daß wohl anstandslos behauptet werden kann, es sei der größte Teil der aktiven Substanz in die Pseudoglobulinfraktion übergegangen.

Bei der fraktionierten Fällung eines Milzbrandserums, welches von einer hochimmunisierten Ziege stammte, erwies sich

wieder die Pseudoglobulinfraktion als die wirksamste, doch schien auch die Euglobulinfraktion bei hohen Dosen einen leichten Schutzwert zu entfalten, wie aus Tafel VI hervorgeht. Es erinnert dies Verhalten an einen von Pick¹⁾ erhobenen Befund, dem zufolge das Diphtherieantitoxin des Ziegenserums an die Euglobulinfraktion gebunden sein soll. Diese Verteilung der Immuns substanz zwischen zwei Fraktionen dürfte die aus Tafel VII sich ergebende geringere Wirksamkeit der Pseudoglobulinfraktion gegenüber dem Ausgangsserum erklären.

Tafel V.

Vergleichende Wertbestimmungen zwischen der Pseudoglobulinfraktion und dem entsprechenden Ausgangsserum (Milzbrandserum vom Esel).

Pseudoglobulin 1 ccm = 1 ccm Ausgangsserum				Ausgangsserum			
Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen
2	260	lebt	—	2	260	lebt	—
2	290	>	—	2	260	>	—
2	260	† 5 ¹ / ₂	Milzbrand	2	260	>	—
2	280	† 4 ¹ / ₂	>	2	310	† 5 ¹ / ₂	Milzbrand
1	260	lebt	—	2	300	lebt	—
1	370	>	—	1	260	>	—
1	370	† 6	Milzbrand	1	260	† 3 ¹ / ₂	Milzbrand
1	300	† 5 ¹ / ₂	>	1	320	† 3 ¹ / ₂	>
1	260	† 2 ¹ / ₂	>	1	260	† 2 ¹ / ₂	>

Kontrolltiere.

Gewicht g	Ausgang	Bemerkungen
450	† 2 ¹ / ₂	Milzbrand
450	† 1 ¹ / ₂	>
260	† 1 ³ / ₄	>
250	† 2 ¹ / ₂	>

¹⁾ Pick, l. c.

Tafel VI.

Wertbestimmungen an den Fraktionen eines Milzbrandserums
von der Ziege.

Pseudoglobulin 2 ccm = 1 ccm Serum.				Euglobulin $\frac{1}{2}$ ccm = 1 ccm Ausgangsserum.			
Menge ccm	Gewicht des Meer- schweinchens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Menge ccm	Gewicht des Meer- schweinchens g	Aus- gang	Bemer- kungen
10	260	lebt	—	10	340	$\dagger 3\frac{1}{2}$	Milzbrand
9	260	>	—	8	260	lebt	—
8	260	>	—	6	270	$\dagger 6$	Milzbrand
7	260	>	—	4	260	lebt	—
6	260	$\dagger 6\frac{1}{2}$	Milzbrand	2	290	$\dagger 2\frac{1}{2}$	Milzbrand
5	260	lebt	—	1	260	$\dagger 2\frac{1}{2}$	>
Kontrolltier	370	$\dagger 2\frac{1}{3}$	Milzbrand	Kontrolltier	400	$\dagger 2\frac{3}{4}$	>
>	250	$\dagger 2\frac{1}{3}$	>	>	250	$\dagger 1\frac{3}{4}$	>

Serumalbumin
1 ccm = 1 ccm Ausgangsserum

Menge ccm	Gewicht des Meerschweinchens g	Ausgang	Bemerkungen
10	260	$\dagger 3$	Milzbrand
8	260	$\dagger 3$	>
6	260	$\dagger 3$	>
4	260	$\dagger 3$	>
2	260	$\dagger 3$	>
1	260	$\dagger 3\frac{1}{3}$	>
Kontrolltier	400	$\dagger 2\frac{3}{4}$	>
>	250	$\dagger 1\frac{3}{4}$	>

Für die Frage nach der Haltbarkeit der Immuns substanz
des Milzbrandserums bot es ein gewisses Interesse, zu erforschen,
ob ein vor drei Jahren aus Milzbrandserum vom Esel dargestelltes

Pseudoglobulin, welches in wässriger Lösung im Dunkeln und im Eisschrank aufbewahrt worden war, seinen Immunisierungswert beibehalten hatte. Tafel VIII zeigt nun ohne weiteres, daß der Schutzwert gleich Null war, ebenso wie jener des unter ähnlichen Bedingungen aufbewahrten Euglobulins.

Tafel VII.

Pseudoglobulin 2 ccm = 1 ccm Serum				Ausgangsserum (Ziege)			
Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen
4	270	lebt	—	2	260	lebt	—
4	280	>	—	2	270	>	—
4	260	>	—	2	270	>	—
4	260	† 6	Milzbrand	2	280	>	—
2	260	† 4 ^{1/2}	>	1	260	>	—
2	260	† 4	>	1	270	>	—
2	260	† 4 ^{2/3}	>	1	310	† 6 ^{1/3}	Milzbrand
2	280	† 6 ^{1/3}	>	1	280	† 6 ^{3/4}	>

Kontrolltiere.

Gewicht g	Ausgang	Bemerkungen
260	† 2 ^{1/3}	Milzbrand
260	† 2 ^{3/4}	>
280	† 2 ^{3/4}	>
270	† 3 ^{3/4}	>

Die erzielten Ergebnisse lassen sich kurz in folgenden Schlußsätzen zusammenfassen:

1. Die Immuns substanz des Milzbrandserums geht durch Berkefeldsche Kerzen hindurch.
2. Die aktive Substanz des Milzbrandserums wird nicht wie ein Ambozeptor an die Milzbrandbacillen verankert.

3. Beim Milzbrandserum vom Esel und der Ziege wird die Immuns substanz zum größten Teile in der Pseudoglobulinfraktion, bei der Ziege zum geringeren Teile auch in der Euglobulinfraktion wiedergefunden.

4. Das wirksame Pseudoglobulin des Eselsserums büßt in wässriger Lösung mit der Zeit seinen Schutzwert ein.

Tafel VIII.

Vor drei Jahren fraktioniertes Serum.

Pseudoglobulin 2 ccm = 1 ccm Ausgangsserum				Euglobulin 1 ccm = 1 ccm Ausgangsserum			
Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen
8	660	† 4 ¹ / ₂	Milzbrand	8	630	† 2 ¹ / ₂	Milzbrand
6	660	† 5 ¹ / ₂	>	4	260	† 2 ¹ / ₂	>
4	260	† 4 ¹ / ₂	>	2	260	† 2 ¹ / ₂	>
3	260	† 2 ³ / ₄	>	1	300	† 2 ¹ / ₂	>
2	260	† 2 ¹ / ₂	>				

Serumalbumin 2 ccm = 1 ccm Ausgangsserum				Kontrolltiere		
Menge ccm	Gewicht des Meer- schwein- chens g	Aus- gang	Bemer- kungen	Gewicht g	Aus- gang	Bemer- kungen
8	690	† 4 ¹ / ₂	Milzbrand	370	† 1 ³ / ₄	Milzbrand
3	600	† 4 ¹ / ₂	>	700	† 5 ¹ / ₃	>
2	300	† 1 ³ / ₄	>	320	† 1 ³ / ₄	>
				530	† 4 ¹ / ₃	>