Aus dem Hygienischen Institut der Tierärztl. Hochschule zu Berlin.
Direktor: Geh. Med. Rat Prof. Dr. Frosch.

Das Verhalten der Erythrozyten und der Normalambozeptoren im Blute gesunder und kranker Pferde mit besonderer Berücksichtigung der infektiösen Anämie.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung
der Würde eines Doctor medicinae veterinariae
der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin

vorgelegt von

Kurt Kettner
Tierarzt zus Berlin

VERITAS IUSTITIA LIBERTAS
VETERINÄR-MEDIZINISCHE BIBLIOTHEK
FREIE UNIVERSITÄT BERLIN

Berlin 1920
Emil Ebering,
Mittelstr. 29

1955,71

Berlin, den 23. Juli 1920.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Frosch.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit gewidmet

Bei den Untersuchungen der hämolytischen Kraft der Sera zu diagnostischen Zwecken kommen besonders 2 Gesichtspunkte in Betracht.

1. Wie verhalten sich die roten Blutkörperchen von gesunden und kranken Organismen gegenüber einem spezifisch-hämolytischen Immunserum? und 2. wie verhält sich das Serum von Gesunden und Kranken in seiner hämolytischen Kraft auf artfremde Erythrozyten? Die folgenden Versuche haben nun den Zweck, diese Verhältnisse beim Pferde einer Prüfung zu unterziehen.

Ich beginne mit dem Verhalten der Erythrozyten bei gesunden und kranken Pferden gegenüber einem spezifischen hämolytischen Immunserum.

Erster Teil.

Der Vorgang der Hämolyse ist schon sehr lange bekannt. Man hatte gesehen, daß Blutkörperchen, wenn sie gewissen Einwirkungen ausgesetzt wurden, ihren Farbstoff an die umgebende Flüssigkeit abgaben, hatte auch gesehen, daß sich nicht alle Blutkörperchen gleich verhielten, sondern, daß die eine Art leichter, die andere schwerer aufgelöst wurde. Diese Tatsache benutzte man dazu, um Blutkörperchen von verschiedenen Individuen, von jungen und alten, von gesunden und kranken, auf ihre Widerstandsfähigkeit einem hämolytischen Agens gegenüber zu prüfen.

Die Einwirkungen, die nun Hämolyse hervorrufen, sind mannigfacher Art. Es können mechanische, thermische, elektrische, osmotische und chemische Einflüsse sein. Zur letzteren Art gehören sämtliche hämolytischen Gifte, die man je nach ihrer Herkunft in pflanzliche (Saponin, Ricin usw.), tierische (Schlangengift) und bakterielle Gifte (Tetanolysin usw.) einteilt. Ebenfalls hierzu gehören die Normal- und Immunserumhämolysine.

Das Verhalten menschlicher Erythrozyten gegenüber diesen verschiedenen Einwirkungen ist vielfach untersucht worden. So untersuchte Maragliano (56) gegen Hitze, Kälte und Trockenheit, Rollet (75), Bernstein (11), Lacker (44) und Scharffenroth (80) prüften die Einwirkungen des elektrischen Stromes, die Empfindlichkeit gegen mechanische Läsionen untersuchten in neuerer Zeit Meyer und Emmerich (59). Eine große Reihe von Versuchen galt auch dem Verhalten der Erythrozyten gegenüber Blutgiften:

Aether, Alkohol, Alkalien, Sublimat, Chloroform, Phenilhydrazin, Pyrodin, Oelsäure, Kobragift und in ganz besonderem Maße gegenüber dem Saponin. Die größte Aufmerksamkeit wandte man jedoch der Resistenz in verdünnten Kochsalzlösungen zu. Versuche mit hämolytischen Immunseren sind mir in der Literatur nur einige bekannt geworden, auf die ich noch später zurückkomme.

Was die Reaktion der Hämolyse betrifft, so ist sie je nach dem einwirkenden Agens verschieden. Sie beruht bald auf physikalischen, bald auf chemischen Vorgängen, die sich ihrerseits wieder an verschiedenen Bausteinen des Erythrozytenplasmas abspielen. Hamburger (30), der sich besonders mit der Hämolyse in verdünnten Kochsalzlösungen beschäftigte, erklärt den Vorgang folgendermaßen:

Die Blutkörperchen bestehen aus einem protoplasmatischen Netz, dem sogen. Stroma, in dessen geschlossenen oder nicht geschlossenen Maschen sich eine flüssige oder halbflüssige Masse befindet. Das Ganze ist von einer membranartigen, semipermeablen Protoplasmahülle umgeben. Die Erythrozyten unterliegen nun den Gesetzen der Osmose und erleiden nur in einer Salzlösung von ganz bestimmter Konzentration weder eine Quellung noch eine Schrumpfung. Eine derartige Salzlösung heißt isotonisch und entspricht der Salzkonzentration des Serums. In einer hyperisotonischen Lösung schrumpften die Blutkörperchen, in einer hypoisotonischen quellen sie. Bringt man nun Blutkörperchen in eine hypoisotonische Kochsalzlösung, so werden sie, um das osmotische Gleichgewicht wieder herzustellen, Wasser aus der umgebenden Flüssigkeit aufnehmen. Sie quellen. Sind die Konzentrationsunterschiede sehr groß, so wird so viel Wasser aufgenommen werden, daß der intraglobuläre Druck zu groß wird und die Protoplasmahülle berstet. Das Hämoglobin tritt dann aus, und die vorher deckfarbene Blutlösung wird lackfarben.

Während also die Hämolyse in verdünnten Salzlösungen einen physikalischen Prozeß darstellt, beruht die Hämolyse durch die meisten anderen Agentien auf chemischen Vorgängen, und zwar nimmt man an, daß fettspaltende oder fettlösende Substanzen die Lipoidmembran der Erythrozyten auflösen bezw. schädigen, so daß das Hämoglobin austreten kann. Ueber den genauen Vorgang dieses Prozesses herrscht noch keine Klarheit, besonders deswegen, weil der chemische Aufbau der roten Blutkörperchen noch wenig erforscht ist. Wir kennen zwar die einzelnen Bausteine, wissen jedoch nicht, in welcher Weise sie zueinander in Beziehung stehen (Abderhalden)) (1). Eine andere Ansicht vertritt Abderhalden, indem er das Vorhandensein einer Lipoidmenbran als fraglich hinstellt. Die Theorie der Saponinhämolyse ist Gegenstand einer ganzen Reihe von Arbeiten gewesen. Ich er-

wähne Abderhalden, Ransom (70), Pascucci (67), Kurt Meyer (60), Rywosch (77) und Port (68). Alle kommen darin überein, daß die Widerstandsfähigkeit gegen Saponin von dem Verhältnis abhängig ist, in dem sich das Lecithin zum Cholesterin in der Lipoidmembran der roten Blutkörperchen befindet. Und zwar steigt die Resistenz der Erythrozyten mit größerem Cholesteringehalt. Pascucci stellte dasselbe an künstlichen Blutkörperchen fest, die er sich aus mit Lecithin und Cholesterin imprägnierten Seidenstoffmembranen herstellte. Abderhalden hat in seiner quantitativ vergleichenden Analyse des Blutes die Menge der Lipoide Lecithin und Cholesterin genau bestimmt. Er stellte dabei fest, daß die Tiere, geordnet nach dem Cholesterin-Lecithinquotienten ihrer Blutkörperchen, umso widerstandsfähigere Erythrozyten hatten, je mehr Cholesterin absolut und im Verhältnis zum Lecithin sie besaßen, je größer also ihr Cholesterin-Lecithinquotient war.

In ähnlicher Weise kann man sich auch die Wirkung der Serumhämolysine vorstellen.

Eine andere Erklärung über den Vorgang der Hämolyse hat 1910 M. H. Fischer (21) gegeben. Er sieht von der Auffassung, nach der die roten Blutkörperchen von einer semipermeablen bezw. Lipoidmembran umgeben sind, ab, stellt sich vielmehr die Erythrozyten als eine Mischung mehrerer Kolloide vor. Und zwar handelt es sich um einen Eiweißstoff, das Stroma. In Mischung mit diesem Stroma befinden sich die beiden Lipoide Lecithin und Cholesterin. Diese 3 Bestandteile sind Emulsionskolloide, während der 4. Bestandteil, das Hämoglobin, ein Suspensionskolloid ist. Nach eingehenden Studien kommt er zu dem Schluß, daß die Verbindung zwischen dem Hämoglobin und den übrigen Bestandteilen des Blutkörperchens als Adsorptionsverbindung aufzufassen ist. Alle äußeren Einflüsse, wie Säuren, Salze, Wärme, Elektrizität usw., die das Adsorptionsverhältnis des Hämoglobins zu den anderen Kolloiden beeinflussen, können Hämolyse hervorrufen. Den Austritt des Hämoglobins aus dem Stroma trennt er scharf von der Volumveränderung der Erythrozyten. Beide Vorgänge können wohl zeitlich miteinander verknüpft sein, haben aber sonst nichts miteinander zu tun. Die Quellung erklärt sich so, daß irgendwelche äußeren Einflüsse vorhanden sind, die eine vermehrte Affinität der Kolloide zum Wasser zur Folge haben, während Stoffe mit entgegengesetzter Wirkung eine Schrumpfung der roten Blutkörperchen veranlassen.

Aber auch dies ist schließlich nur eine Theorie, die die Frage des eigentlichen Baues der Erythrozyten noch nicht löst.

Die Untersuchungsergebnisse aufzuzählen, die man im Verhalten der Erythrozyten gegenüber hämolytischen Agentien bisher bekommen hat, würde den Rahmen der Arbeit weit überschreiten. Hier sei nur folgendes bemerkt.

Bei weitem am meisten hat man das Verhalten gegen hypotonische Kochsalzlösungen und Saponin geprüft. Trotz einer großen Anzahl von Versuchen ist man doch nicht zu diagnostisch verwertbaren Resultaten gekommen. Es haben sich wohl bei verschiedenen Krankheiten bezw. Krankheitsgruppen in der großen Mehrheit der Untersuchungen teils Erhöhungen, teils Verminderungen der Resistenz gegen Kochsalzlösung ergeben, doch waren die Ergebnisse nie so konstant, daß man sie allein zur Diagnose hätte verwenden können.

Bei den Untersuchungen mit Saponin sind die zwischen Gesunden und Kranken in der Resistenz der roten Blutkörperchen gefundenen Unterschiede noch geringer. Einzelne Autoren wie Heuberger und Stepp (33) haben überhaupt eine Konstanz bei allen Erythrozyten einer Tierart angenommenen, indem sie geringe Schwankungen in der Resistenz auf den Wechsel der Erythrozytenzahl in der Volumeinheit zurückführen.

Bestimmte Beziehungen zwischen Kochsalz und Saponinhämolyse glaubt Roywosch (77) gefunden zu haben. (Steigen der einen Resistenz sollte verbunden sein mit Abnahme der anderen). Andere Forscher, wie Port (68) bestreiten dies.

Die einzelnen Eregbnisse dieser Versuche finden sich in der Zusammenstellung bei Sandaya (78), Göttinger Dissertation 1912. Hier interessieren besonders die Arbeiten, die das Verhalten der Pferdeblutkörperchen einer Prüfung unterzogen haben.

Abderhalden und Frei (2) fanden die Blutkörperchen gegen Saponin bei der infektiösen Anämie empfindlicher als bei ananderen Krankheiten.

Mayer (55) untersuchte das Widerstandsvermögen gegen NaCl Lösungen bei gesunden und kranken Pferden. Zwischen jungen und alten Individuen, zwischen Hengsten und Stuten usw. fand er keine Unterschiede. Erhöhte Resistenz ergab sich im akuten Stadium der Brustseuche, Pneumonie, Druse und Rotz, verminderte Resistenz trat besonders bei chronischen Krankheiten auf, die mit Kachexie einhergingen. Von den Krankheiten, die auch mir zur Untersuchung zur Verfügung standen, fand er bei akutem Rotz eine erhöhte Resistenz, bei Tetanus und Lungenentzündung keine Veränderung.

Wirth (89) untersuchte die Blutkörperchen speziell bei der infektiösen Anämie gegen Kochsalzlösung und Saponin. Er stellte teils Erhöhungen, teils Verminderungen der Resistenz fest, die aber von so geringer Bedeutung waren, daß sie zur Diagnosestellung nicht verwendet werden konnten. In einem Fall von Rotz fand er erhöhte osmotische Resistenz.

In neuester Zeit fand Borchers (12) in sieben von acht Fällen von infektiöser Anämie eine leichte Erhöhung der osmotischen Resistenz während des Fiebers. Das Verhalten der Erythrozyten gegen Saponin war ganz unregelmäßig. Auch konnte er einen Ein-

fluß des Alters und Geschlechts bei gesunden Pferden nicht feststellen. Dagegen war die Resistenz gegen Kochsalzlösungen vor der Getränke- und Futteraufnahme etwas erhöht, was er auf eine Eindickung des Blutes zurückführt. Im Gegensatz zu Wirth stellte er bei Rotz stark herabgesetzte osmotische Resistenz fest. Einen diagnostischen Wert spricht er den Untersuchungen nicht zu.

Aehnliche Untersuchungen (serologische) speziell zur Diagnose der infektiösen Anämie möchte ich der Vollständigkeit halber hier anführen.

Es fand Abderhalden mit seinen Mitarbeitern Weil (3), Frei (2) und Buchal (4) bei der Saponinhämolyse eine stärkere Hemmung durch Anämieserum als durch das Serum gesunder Pferde. Bei Rotz stellte er im Gegensatz ein geringeres Hemmungsvermögen fest. Er spricht der Methode diagnostische Bedeutung zu. Die Hemmung der Saponinhämolyse konnte Lührs neuerdings nicht in allen Fällen von infektiöser Anämie bestätigen.

Finzi (20), der das beständige Vorkommen von Auto- und Isolysinen im Blute anämiekranker Pferde gefunden hat, benutzt deren Nachweis zur Diagnose. Aber auch hiergegen haben sich schon Einwände geltend gemacht. Wirth kann die Autohämolyse nicht in allen Fällen bestätigen, und Lührs hat in neuerer Zeit auch Autohämolysine bei gesunden Pferden beobachtet.

Wie ich schon oben bemerkt habe, ist das Verhalten der Erythrozyten gegen Serumhämolysine nur selten untersucht worden. Tasawa (85) berichtet in Uebereinstimmung mit früheren Versuchen von Friedberger und Doepner (23) entgegen den Angaben von Laitinen (46), daß die Blutkörperchen von mit Alkohol behandelten Tieren gegenüber verschiedenen hämolytischen Agentien wie Saponin, Kobralezithio und Immunserum keine verminderte Resistenz besitzen. Laitinen benutzte zu seinen Versuchen normales Rinderserum. Friedb. und Doepner verwandten das Serum eines gegen Kaninchenblut immunisierten Meerschweinchens. Tasawa gebrauchte das Immunserum von einer Ziege. Morawitz und Pratt (61), später Itami und Pratt (37) fanden eine Steigerung der Resistenz gegen hämolytisches Serum bei der durch Gift bedingten Anämie des Kaninchen.

Eine erhöhte Resistenz der Erythrozyten von giftanämischen Tieren gegen Ziegenimmunserum stellten Hanna Hirschfeld (35) und Rosenthal (76) fest. Bei Ribierre (71) finden sich Angaben darüber, daß N. Chkliarevitch und G. Bielonowsky Blutkörperchen von gesunden und kranken Menschen einem spezifischen Hämolysin gegenüber geprüft haben. Ihre Arbeiten befinden sich in den „Annales de l'Académie médicine militaire de St. Pétersbourg 1901 und 1902. Leider waren mir diese Zeitschriften nicht zugänglich, da sie in Berliner Bibliotheken nicht vorhanden waren. In der mir zugänglichen Literatur ist mir nur eine ausführliche

Arbeit darüber bekannt geworden. Es ist die Arbeit von Peyton Rous (73a).

Ehrlich und Morgenroth (18), und später Sachs (79) haben durch Experimente bewiesen, daß sich die Serumhämolysine aus zwei Komponenten zusammen setzen und zwar einer thermostabilen, dem Ambozeptor und einer thermolabilen, dem Komplement. Eine dieser Komponenten allein bewirkt keine Hämolyse. Nach der Seitenkettentheorie hat man sich den Vorgang bekanntlich so vorzustellen, daß sich der Ambozeptor mit passenden Zellrezeptoren verbindet und so als Bindeglied zwischen Zelle und Komplement die hämolytische Wirkung des Komplements erst möglich macht. Während in fast jedem Serum schon Normalambozeptoren für verschiedene artfremde Erythrozyten vorhanden sind, so kann man sich durch Immunisation spezifisch wirkende Ambozeptoren herstellen, die auf die Zellen der Tierart besonders einwirken, mit denen sie hergestellt worden sind.

Peyton Rous prüfte nun die Erythrozyten gesunder und kranker Menschen gegenüber einem spezifischen Immunserum, das er sich durch Behandlung von Kaninchen mit gewaschenen Menschenblutkörperchen hergestellt hatte. Als Komplement benutzte er Menschenserum. Seine Versuchsanordnung war folgende. Jedes Gläschen wurde beschickt mit

0,5 ccm Ambozeptor in verschiedenen Verdünnungen
0,5 ccm Komplement 1:20 verdünnt
0,5 ccm 5 % Blutkörperchenaufschwemmung.

Die Gläschen stellte er auf zwei Stunden bei 37° in den Brutschrank. Nach dieser Zeit wurden die Resultate abgelesen und zwar Maximum und Minimumresistenz, d. h. das Gläschen, in dem gerade komplette Hämolyse aufgetreten war und das, in dem eine Spur von Hämolyse zu erkennen war, wurden notiert. Er erhielt bei allen gesunden Menschen übereinstimmende Resultate. Um Unterschiede in der Blutkörperchenresistenz kranker Menschen feststellen zu können, mußte das Blut einiger gesunder Menschen stets mituntersucht werden, da ja die Wirksamkeit der Immunserumhämolysine mit der Zeit nachläßt. Unverändert fand er die Resistenz der roten Blutkörperchen bei Typhus, Tuberkulose, Karzinom, Magenkrebs, chron. Endokarditis, sekundärer Anämie und Emphyem. Bei primärer Anämie fand er in vier von fünf Fällen die Resistenz verringert. Erhöht fand er sie in je einem Falle von Hämophilie, chron. parenchymatöser Nephritis und kongenitalen Ikterus. Er führte seine Untersuchungen mit zwei Immunambozeptoren aus, von denen der eine mit den roten Blutkörperchen eines schwarzen Menschen, der andere mit den Blutkörperchen eines Weißen hergestellt worden war. Beide Ambozeptoren gaben annähernd dieselben Resultate. Nebenher

prüfte er auch die Resistenz gegen NaCl-Lösungen, fand, daß kein gesetzmäßiges Verhalten zwischen beiden Agentien besteht und kommt zu dem Schluß, daß die Hämolyse mit spezifischem Serum nicht soviel Schwankungen unterliegt wie die Salzhämolyse.

Da mir diese Arbeit erst während meiner Versuche bekannt wurde, konnte ich die von Peyton Rous angegebene Technik nicht verwenden. Meine Technik war folgende:

Eigene Versuche.

Den Ambozeptor stellte ich mir durch Immunisation von Kaninchen mit gewaschenen Blutkörperchen des gesunden Pferdes I (Pferd „Hans" des hygienischen Institutes) her. Es wurden drei Kaninchen verwandt, denen ich nach der Fornetschen Schnellmethode in Abständen von 3 Tagen je dreimal Blutkörperchen intravenös injizierte. Zwei erhielten in fallender Reihe 3, 2, 1 ccm, eins in ansteigender Reihe 1, 2, 3 ccm. Sechs Tage nach der letzten Injektion wurde der Titer der Sera geprüft. Das Serum von dem Kaninchen, das mit steigenden Dosen immunisiert worden war, zeigte den höchsten Wert. 1 ccm in der Verdünnung 1:2000 löste einen ccm einer 3 % Pferdeblutkörperchenaufschwemmung bei Anwesenheit von 1 ccm Meerschweinchenkomplement in der Verdünnung 1:10, während die Sera der anderen Kaninchen nur bis 1:400 bezw. 1:800 lösten. Im Vergleich mit einem Hammelblutambozeptor, der meist eine 5 % Blutkörperchenaufschwemmung noch in einer Verdünnung 1:2000 bis 1:4000 löst, erscheint der Titer des Pferdeblutambozeptors sehr gering. Schon früher hat Wolf Franz (24) in einer ganzen Reihe von Versuchen festgestellt, daß der Titer des künstlichen Pferdeblutambozeptors weit hinter dem des Hammelblutambozeptors zurückbleibt.

Als Komplement wurde Meerschweinchenserum verwandt, da dieses durch hohen Komplementgehalt und geringen Gehalt an Normalambozeptoren ausgezeichnet ist. Es wurde stets in frischem Zustande, höchstens 4 Stunden nach der Blutentnahme gebraucht. Den vier Meerschweinchen, die ich mir zur Komplementgewinnung hielt, wurde im Abstand von 5—8 Tagen je nach Bedarf 2—5 ccm Blut durch Herzpunktion entnommen. Trotzdem im Laufe der Versuche bei jedem Meerschweinchen ca. zehnmal die Herzpunktion vorgenommen wurde, war nur ein Todesfall zu verzeichnen. Kollabierten die Tiere nach der Blutentnahme, so wurden ihnen 10 ccm physiologische Kochsalzlösung subkutan injiziert, was sich gut bewährte.

Das zu untersuchende Pferdeblut wurde steril aus der Jugularis in ein sogen. Schüttelfläschchen aufgefangen, in dem es durch 10 Minuten langes Schütteln mit Glasperlen defibriniert wurde. Es wurde dann vom Fibrin und Serum getrennt und

viermal in 0,9 % Kochsalzlösung gewaschen, um alle Serumreste, die bei der Hämolyse hemmend wirken, zu entfernen. In 0,85 % Kochsalzlösung trat häufiger spontane Hämolyse auf. Da durch das Schütteln mit Glasperlen schon eine mechanische Läsion bedingt ist, wie ich durch Auftreten einer leichten Rotfärbung des Serums fast stets beobachten konnte, so wurde jede Blutprobe genau 10 Minuten, möglichst gleich stark defibriniert, um alle Blutkörperchen bei allen Versuchen genau denselben Einwirkungen auszusetzen. Roth (74) gibt an, daß er beim Schütteln Hämolyse nur unter pathologischen Verhältnissen, z. B. beim hämolytischen Ikterus auftreten sah und Peyton Rous (73 b) behauptet, daß die Empfindlichkeit der Erythrozyten gegen mechanische Schädigungen individuell verschieden ist. Man könnte ja diese Läsionen vermeiden, wenn man an Stelle des Defibrinierens die Blutgerinnung durch Natrium-Zitrat, bezw. -oxalat aufhebt. Aber auch hierbei tritt, wie Snapper (83) angibt, eine Schädigung der Erythrozyten ein, die sich in einer Resistenzverminderung gegen hypotonische Kochsalzlösungen kundtut. Andererseits haben Wunschheim (90) und Leschly (48) wiederum bei ihren Versuchen keine Unterschiede zwischen defibrinierten und mit Natriumoxalat bezw. -zitrat behandeltem Blut feststellen können. Außerdem hat Wunschheim bei steril und nicht steril gewonnenem Blut übereinstimmende Resultate erhalten. Noch andere Faktoren, wie die Einwirkungen von Sauerstoff und Kohlensäure, die auch eine Aenderung der roten Blutkörperchen bedingen, spielen bei der vorbereitenden Behandlung der Erythrozyten eine Rolle. Alle diese Einflüsse aber auszuschalten, wird uns selbst bei der Anwendung unserer feinsten technischen Hilfsmittel nicht gelingen. Es handelt sich bei allen diesen Versuchen darum, alle Proben möglichst genau derselben Behandlung zu unterwerfen, um so für die eigentliche Untersuchung gleichmäßig vorbehandelte bezw. veränderte Erythrozyten zu haben.

Zu allen Versuchen wurde eine 3 % Blutkörperchenaufschwemmung verwandt. Jede einzelne Versuchsreihe bestand aus 8 — 10 Reagensgläschen. In jedes Gläschen kamen:

0,5 ccm Amboz. in fallenden Mengen
1,0 ccm 0,9 % NaCl-Lösung
0,5 ccm Meerschweinchenkomplement Verd. 1:10.
0,5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung.

Die Gläschen wurden tüchtig geschüttelt und dann auf 30 Minuten in ein Wasserbad von 37° gestellt. Nach dieser Zeit wurden nur die Gläschen notiert, in denen noch komplette Hämolyse eingetreten war. Nach 20 stündigem Aufenthalt im Eisschrank wurden die Resultate noch einmal abgelesen. Meist war kein oder nur ein sehr geringes Fortschreiten der Hämolyse nach 20 Stun-

den zu beobachten. Ich habe deshalb im folgenden nur die Ergebnisse nach ½ stündigem Aufenthalt im Wasserbade berücksichtigt. Zu jeder einzelnen Versuchsreihe kamen folgende Kontrollen:

1. 0,5 Kompl. — Amboz. 1.5 NaCl + 0,5 Blut.
2. — Kompl. 0,5 Amboz. 1.5 NaCl + 0,5 Blut.
3. — Kompl. — Amboz. 2.0 NaCl + 0,5 Blut.

Ich möchte vorwegnehmen, daß diese Kontrollen bei allen Versuchen negativ ausfielen. Es trat also durch Ambozeptor oder Komplement allein oder nur durch 0,9 % Kochsalzlösung niemals Hämolyse ein.

Da bisher bei Pferden derartige Versuche, soweit mir die Literatur zur Verfügung stand, nicht gemacht worden waren, war es zunächst von Wichtigkeit, das Verhalten der Blutkörperchen gesunder Individuen kennen zu lernen. Ich habe zu diesem Zwecke 13 einwandfrei gesunde Pferde verschiedenen Alters, Geschlechts und Rasse auf das Verhalten ihrer roten Blutkörperchen geprüft. Bei jedem einzelnen Versuch wurden die Blutkörperchen des gesunden Pferdes I, mit denen der Immunambozeptor hergestellt worden war, mitgeprüft, um für jeden Versuch einen Normalwert zu haben, denn der Ambozeptor, der mit der Zeit an Wertigkeit einbüßt, sowie das Komplement sind variable Größen. Jedoch ist durch Lüdtke (49) und neuerdings durch Hahn und Neu (28) festgestellt worden, daß der Titer des hämolytischen Komplements durch Blutentziehung beim Meerschweinchen und Kaninchen nicht verändert wird. Lange (45 a) behauptet das Gegenteil. Eine starke Verringerung der hämolytischen Kraft durch Blutentziehung habe ich jedenfalls bei Meerschweinchen auch nicht feststellen können. Aus dem oben angegebenen Grunde kann man natürlich auch nur die Ergebnisse einer Versuchsreihe miteinander vergleichen, die zur selben Zeit und unter gleichen Umständen angesetzt worden ist. Die Blutentnahme erfolgte bei sämtlichen Pferden vor dem Füttern vormittags zwischen 9 und 12 Uhr.

Ich lasse jetzt die Ergebnisse folgen, die ich bei gesunden Pferden erhielt. Bei jedem Pferd ist die Ambozeptorverdünnung angegeben, bei der noch komplette Lyse eintrat.

	N.	Geschl.	Alter	Rasse	Nährzust.	kompl. H. bis
Versuch I.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:1800
	II	Wallach	9 j.	Belgien	mittelmäßig	1:1200
	III	Wallach	7 j.	Belgien	gut	1:700
	IV	Stute	9 j.	Belgien	gut	1:1200
Versuch II.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:1200
	V	Stute	12 j.	Oldenburg	gut	1:1200

	N.	Geschl.	Alter	Rasse	Nährzust.	kompl. H. bis
Versuch III.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:900
	VI	Stute	8 j.	Ostpreußen	gut	1:900
	VII	Stute	14 j.	Belgien	schlecht	1:400
ersuch IV. Untersuch.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:1000
	VI	Stute	8 j.	Ostpreußen	gut	1:1000
	VIII	Wallach	7 j.	Belgien	gut	1:400
ersuch V. Untersuch.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:1000
	III	Wallach	7 j.	Belgien	gut	1:400
	IX	Wallach	9 j.	Ostpreußen	gut	1:600
ersuch VI.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:1000
	X	Stute	9 j.	Belgien	mäßig	1:500
	XI	Wallach	13 j.	rhein. belg.	gut	1:200
	XII	Wallach	12 j.	rhein. belg.	gut	1:700
ersuch VII. Untersuch.	I	Hengst		Ostpreußen	gut	1:700
	X	Stute	9 j.	Belgien	mäßig	1:400
	XIII	Wallach	8 j.	rhein. belg.	gut	1:800
	XIV	Stute	10 j.	Ostpreußen	gut	1:1000

Die Ergebnisse dieser Versuche zeigen, daß schon bei gesunden Pferden in dem Verhalten der Erythrozyten dem hämolytischen Immunserum gegenüber große Unterschiede bestehen. Gesetzmäßigkeiten in dem Verhalten der roten Blutkörperchen von jungen und alten Pferden, von Stuten und Wallachen lassen sich nicht feststellen. Rasse und Nährzustand spielen ebenfalls keine Rolle. Doch zeigen dieselben Pferde bei mehrmaligen Untersuchungen konstante Werte. (Vergl. Pferd III, VI und X.) Bemerkenswert ist, daß die Blutkörperchen des Pferdes I, mit denen der Immunambozeptor hergestellt ist, von diesem mit einer Ausnahme (Versuch VII) in allen Versuchen in stärkster Verdünnung hämolysiert werden. Es lag die Annahme nahe, daß es sich hier um eine spezifische Wirkung handelte. Um Klarheit hierüber zu erlangen stellte ich mir von den Blutkörperchen des Pferdes XI, die sich am widerstandsfähigsten gezeigt hatten, durch Kaninchenimmunisation einen neuen Ambozeptor her. Ich bezeichne den Ambozeptor des Pferdes I mit A, den des Pferdes XI mit B. Beide Ambozeptoren ließ ich nun auf die Blutkörperchen des Pferdes I und XI einwirken.

	Amboz. A, kompl. Häm. bis	Amboz. B, kompl. Häm. bis
Pferd I	1:800	1:50
Pferd XI	1:200	1:10

Es verhielten sich also die Erythrozyten des Pferdes XI gegen beide Ambozeptoren widerstandsfähiger als die Blutkörperchen des Pferdes I. Diese Tatsache läßt sich damit erklären, daß bei den Erythrozyten des Pferdes XI ein Mangel an Rezeptoren besteht. Da der Ambozeptor B einen zu geringen Titer hatte, wurde von weiteren vergleichenden Versuchen abgesehen. Ich glaube aber, daß dieser eine Versuch schon genügend zeigt, daß es sich um eine spezifische Wirkung in dem angedeuteten Sinne nicht handelt.

Zu denselben Ergebnissen mit mehreren Ambozeptoren kam auch Peyton Rous bei seinen Untersuchungen mit Menschenerythrozyten. (S. S. 16.)

Von kranken Pferden standen mir leider nur recht wenige Fälle zur Verfügung. Es wurden untersucht:

1 Fall von akutem Rotz,
1 Fall von Pneumonie,
1 Fall von Tetanus,
2 Fälle von Beschälseuche,
5 Fälle von infektiöser Anämie.

Dazu kommen noch 5 Räudepferde, die mit SO^2 behandelt wurden und 3 Immunpferde, die zur Herstellung von Rotlaufserum dienten. Bei jedem Versuch wurden die Blutkörperchen des Pferdes I mit untersucht.

Räude.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Räudepferd 1	kompl. Hämolyse bis	1:800
Räudepferd 2	kompl. Hämolyse bis	1:900
Räudepferd 4	kompl. Hämolyse bis	1:800
Räudepferd 3	kompl. Hämolyse bis	1:800

Eine Resistenzveränderung der Erythrozyten der mit SO_2 behandelten Pferde ist nicht festzustellen. Die gefundenen Werte halten sich alle in normalen Grenzen.

Rotlaufimmunpferde.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:800
Immunpferd 1	kompl. Hämolyse bis	1:600
Immunpferd 2	kompl. Hämolyse bis	1:1100
Immunpferd 3	kompl. Hämolyse bis	1:800

Auch hier keine Aenderung in dem Verhalten der Erythrozyten. Die Werte halten sich in den bei gesunden Pferden gefundenen Grenzen.

Beschälseuche (chronisch).

Die Pferde sind schon alle über ein Jahr krank. 1. und 3. sind Stuten, 2. ist ein Wallach.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Beschälseuche 1	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Beschälseuche 2	kompl. Hämolyse bis	1:500
Beschälseuche 3	kompl. Hämolyse bis	1:300

Keine diagnostisch verwertbare Resistenzveränderung gegenüber gesunden Pferden.

Tetanus.

Die Blutprobe wurde 4 Tage nach dem Auftreten der ersten Krankheitszeichen genommen.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1200
Tetanuspferd	kompl. Hämolyse bis	1:1500

Eine Resistenzverminderung gegenüber Pferd I. Derartige Unterschiede kommen aber auch bei gesunden Pferden vor (S. Pferd XIV.)

Rotz.

Es handelt sich um einen akuten, 3 Wochen alten Fall.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Rotzpferd	kompl. Hämolyse bis	1:700

Keine Veränderung in dem Verhalten der Erythrozyten. Da das Pferd sofort getötet wurde, konnte eine zweite Untersuchung leider nicht vorgenommen werden.

Pneumonie.

Datum	Temp.
20. 5.	40.3° C
21. 5.	40.0° C
22. 5.	40.0° C*
23. 5.	39.3° C
25. 5.	38.9° C
6. 6.	37.7° C**

*1. Blutentnahme am 22. 5.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Pneumonie	kompl. Hämolyse bis	1:500

**2. Blutentnahme am 6. 6.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1500
Pneumonie	kompl. Hämolyse bis	1:500

Die Resistenz der roten Blutkörperchen war während des Fiebers geringer als im Rekonvaleszentenstadium.

Anämie.

Ich hatte Gelegenheit, 4 an infektiöser Anämie erkrankte Pferde zu untersuchen, die mir von Herrn Professor Dr. Lührs, Leiter des militärveterinärmedizinischen Untersuchungsamtes zu Berlin, in liebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt wurden. Bei zwei Pferden (2. und 5.) war es mir möglich vor, während und nach dem Fieberanfall die Erythrozyten auf ihr Verhalten hin zu prüfen.

Pferd Nr. 2 (Nr. 1 wird im zweiten Teil der Arbeit erwähnt.)

Braune Stute Nr. 580 erkrankt am 25. 4. 20, Rezidiv am 7. 5. 20.

Temperaturen:

	morgens	abends
25. 4.	37.3° C	39.6° C
26. 4.	40.3° C	40.0° C
27. 4.	40.6° C	39.2° C
30. 4.	37.3° C	37.5° C
3. 5.	37.7° C	37.7° C
7. 5.	39.5° C	39.1° C

1. Blutentnahme am 26. 4. (40.3 Temp.).

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1500
Anämie	kompl. Hämolyse bis	1:1000

2. Blutentnahme am 27. 4. (40.6 Temp.).

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1200
Anämie	kompl. Hämolyse bis	1:800

3. Blutentnahme am 30. 4. (kein Fieber).

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Anämie	kompl. Hämolyse bis	1:800

4. Blutentnahme am 3. 5. (kein Fieber).

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Anämie	kompl. Hämolyse bis	1:800

5. Blutentnahme am 7. 5. (Rezidiv).

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:800
Anämie	kompl. Hämolyse bis	1:1000

Eine größere Resistenz während des ersten Fieberanfalles als in der fieberfreien Zeit. Während des zweiten Fieberanfalles besteht eine kleine Verminderung der Resistenz. Die Unterschiede sind jedoch so gering, daß sie keinen diagnostischen Wert besitzen.

Pferd Nr. 3.

Fuchsstute N. 342, erkrankt am 4. 5. 20, Blutentnahme am 5. 5. 20.

Temperaturen:

Datum	morgens	abends
5. 5.	39.5	39.3

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1000
Anämie 3	kompl. Hämolyse bis	1:1200

Ob die Resistenz hier während des Fieberanfalles verringert war, läßt sich nicht entscheiden, da ich das Pferd während der fieberfreien Zeit nicht untersuchen konnte.

Pferd Nr. 4.

Schimmelstute N. 827, erkrankt am 17. 5. 20.

Temperaturen:

Datum	morgens	abends
17. 5.	39.6	40.2
18. 5.	39.2	39.6

1. Blutentnahme am 17. 5.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:700
Anämie 4	kompl. Hämolyse bis	1:500

2. Blutentnahme am 18. 5.

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:700
Anämie 4	kompl. Hämolyse bis	1:500

Beide Untersuchungen ergaben die gleichen Resultate. Eine Untersuchung während der fieberfreien Zeit konnte auch hier nicht vorgenommen werden, da das Pferd noch während des Fieberanfalles getötet wurde.

Pferd Nr. 5.

Braune Stute Nr. 390, geimpft mit Anämieserum am 10. 5., erkrankt am 27. 5. 20.

Temperaturen:

Datum	morgens	abends
3. 5.	37. 7.	38.3
26. 5.	38.4	38.0
27. 5.	38.3	40.1
28. 5.	41.0	40.6
29. 5.	38.3	getötet

1. Blutentnahme am 3. 5. 20 (37,7 Temp.)

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:800
Anämie 5	kompl. Hämolyse bis	1:200

2. Blutentnahme am 28. 5. 20 (41.0 Temp.)

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1200
Anämie 5	kompl. Hämolyse bis	1:200

3. Blutentnahme am 29. 5. 20 (38. 3 Temp.)

Pferd I	kompl. Hämolyse bis	1:1200
Anämie 5	kompl. Hämolyse bis	1:200

Die Resistenz wär hier während des Fieberanfalles größer als vorher im Vergleich zu Pferd I.

Im Gegensatz zu gesunden Pferden, bei denen ich bei mehrmaligen Untersuchungen fast konstante Werte fand, ergaben sich bei kranken Pferden geringe Differenzen. So konnte in dem Fall von Pneumonie eine Resistenzverringerung während des Fiebers festgestellt werden; bei der infektiösen Anämie war in zwei Fällen eine Erhöhung während des Fiebers, in einem Fall (Rezidiv) eine Verminderung vorhanden. Man könnte annehmen, daß leichte Veränderungen der Erythrozyten, die sich teils in Erhöhungen, teils in Verringerungen der Widerstandsfähigkeit gegen ein hämolytisches Immunserum zu erkennen geben, durch Infektionsstoffe bedingt sind. Feste Schlüsse lassen sich des geringen Untersuchungsmaterials wegen natürlich nicht ziehen.

Einen diagnostischen Wert kann man der Methode nicht zusprechen, da sich sämtliche bei kranken Pferden gefundene Werte in denselben Grenzen wie bei Gesunden halten.

Im Gegensatz zu Peyton Rous fand ich schon bei gesunden Individuen große Schwankungen in der Erythrozytenresistenz. Doch lassen sich keine direkten Vergleiche ziehen, da R. mit Menschenblutambozeptor, mit Menschenkomplement und Menschenerythrozyten arbeitete.

Zweiter Teil.

Im zweiten Teil der Arbeit sollte das Verhalten der Normalambozeptoren im Blute gesunder und kranker Pferde einer Prüfung unterzogen werden. Bekanntlich besitzen die Seren von Menschen und Tieren die Fähigkeit, Blutkörperchen einer anderen oder auch derselben Tierart aufzulösen. Man unterscheidet danach: Heterolysine, die auf die roten Blutkörperchen einer anderen Tierart einwirken.

Isolysine, welche gegen die Blutzellen der gleichen Spezies gerichtet sind, und

Antolysine, welche auf die Erythrozyten des eigenen Individuums wirken.

Während Anto- und Isolysine nicht beständig vorkommen, hat man Heterolysine bisher in jedem Serum gefunden. Durch verschiedene Arbeiten ist nun festgestellt worden, welche Blutkörperchen von dem Serum einer bestimmten Tierart am leichtesten gelöst werden. Menschenserum gegenüber sind am empfindlichsten Hammel-, Meerschweinchen-, Kaninchen- und Rinderblutkörperchen. (40.) Zu quantitativen Bestimmungen der Hämolysine im Menschenserum sind meist Hammel- und Kaninchenblutkörperchen gebraucht worden. Ueber die hämolytische Kraft der Tiersera auf artfremde Erythrozyten hat Rißling (72) ausführliche Versuche angestellt. Seine Technik bestand darin, daß er zu 1 ccm einer 5 % Blutaufschwemmung fallende Mengen des betreffenden Normalserums gab und das Gläschen notierte, in dem noch komplette Hämolyse auftrat. Während R. mit Schweineserum, Rinderserum, Schaf-, Gänse-, Enten-, Hühner-, Tauben- und Kaninchenserum stets mit den Blutkörperchen einer oder mehrerer Tierarten Hämolyse erhielt, konnte er mit Pferdeserum keine Hämolyse bekommen. Schon Landois (47) hatte gefunden, daß normales Pferdeserum fast gar keine hämolytische Wirkung auf die Erythrozyten anderer Säugetiere ausübte. Selbst die sonst so leicht zerstörbaren Blutzellen vom Meerschweinchen zeigten im Pferdeserum erst nach 20 Stunden komplette Hämolyse.

Morgenroth und Sachs stellten dasselbe fest, jedoch erhielten sie einige Male mit Meerschweinchen- und Kaninchenblut Hämolyse.

Gürber und Höber (27) fanden keine Hämolyse mit Meerschweincherythrozyten.

Fred Boesner (10) gibt an, daß Pferdeserum Hundeblut sehr leicht löst, während die Blutkörperchen vom Rind, Meerschweinchen, Ziege, Katze, Maus, Kaninchen, Huhn und Mensch nicht gelöst werden.

Die Normalhämolysine wirken nun ebenso wie die Immunhämolysine durch das Zusammenwirken zweier Komponenten, dem thermostabilen Ambozeptor und dem thermolabilen Komple-

ment. Doch stimmen sie in ihrer Wirksamkeit nicht ganz überein. Die Normalambozeptoren zeichnen sich nämlich durch verringerte Thermostabilität und durch geringe Avidität ihrer zytophilen Gruppen aus, wie es ja durch das schwache hämolytische Vermögen des Normalpferdeserums sehr ausgeprägt zum Ausdruck kommt. Während die Immunambozeptoren meist eine Temperatur von 60 Grad ohne Schaden ertragen, können Normalambozeptoren schon bei 55 Grad ihre Wirksamkeit einbüßen. Das kommt für die Inaktivierung in Betracht.

Alle Untersuchungen mit dem Ziel, Seren gesunder und kranker Individuen in ihrer hämolytischen Kraft zu vergleichen, sind nur beim Menschen vorgenommen worden.

Ein großer Teil dieser Versuche erstreckt sich auf die Bestimmung der hämolytischen Kraft des Gesamtserums, ohne Komplement und Ambozeptor zu trennen. Andere haben außerdem noch die Bestimmung des Komplementgehalts zum Ziel, während nur wenig Arbeiten sich mit dem Gehalt an Ambozeptoren beschäftigen.

Neißer und Döring (66) untersuchten zuerst im Jahre 1901 das menschliche Serum auf seinen Hämolysingehalt. Sie verwandten eine 5 %ige Kaninchenblutlösung und erhielten bei 20 Seren von ganz verschiedenen Kranken normale Werte.

0,1—0,15 ccm menschlichen Serums genügten immer, um die in 1 ccm der Blutlösung befindlichen Erythrozyten zu lösen.

Kreibisch (42) gebraucht 3 ccm einer 4 % Kaninchenblutlösung zu seinen Versuchen. Er untersuchte folgende Fälle: 6 Pemphigus, 10 Erysipel, 5 Lues, 3 Combustio, 1 Purpura, 1 Pyämie, kam jedoch auch zu keinem diagnostisch verwertbaren Resultat.

Zu denselben negativen Ergebnissen kam Trommsdorf (86). Er fand wohl bei verschiedenen Krankheiten teils Erhöhung, teils Verringerung der hämolytischen Kraft des Serums auf eine 5 %ige Meerschweinchenblutlösung, hält die Methode aber für diagnostische Zwecke nicht geeignet. Er untersucht auch das Serum nicht frisch, sondern erst nach 24 stündigem Aufenthalt im Eisschrank. Wie nun Mandelbaum (52) in einer neuen Arbeit festgestellt hat, verlieren pathologische Seren im Gegensatz zu normalen bei 24 stündigem Aufenthalt im Eisschrank z. T. ihre komplettierende Kraft. Man muß diesen Faktor bei den älteren Arbeiten berücksichtigen.

Ehrlich und Morgenroth stellten eine Verringerung der hämolytischen Kraft des Serums bei Phosphorvergiftungen fest, dasselbe konstatierte Metalnikoff (58) bei chronischen Eiterungen, Bentivegna und Carini (5) bei Hunger.

Hedinger (31) konnte die Befunde Neißers und Dörings bestätigen. Auch er fand ziemlich konstante Werte bei gesunden

und kranken Menschen. Nur erhielt er bei der Urämie eine starke Abnahme der hämolytischen Fähigkeit des Normalserums.

Einen ähnlichen Befund erhob auch Laqueur (43) bei wiederholten Untersuchungen eines urämischen Blutserums.

Einen Fortschritt bedeuten die Untersuchungen Kentzlers, der als erster Komplement- und Ambozeptormenge in den Seren getrennt bestimmte (38). Besonders untersuchte er phthisische Menschen und fand keinen Unterschied im Komplementgehalt der Sera. Zu seinen Versuchen benutzte er spezifisch sensibilisierte Menschenblutkörperchen, zu denen er das zu untersuchende Serum gab, so daß also nur das Komplement zur Wirksamkeit gelangen konnte. Auf diese Weise verglich er speziell den Komplementgehalt.

Weiterhin führten Moro und Potpeschnigg (64) derartige Untersuchungen aus. Sie untersuchten die hämolytische Kraft und speziell den Komplementgehalt normaler und pathologischer Sera. Verwandt wurde eine 10 %ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung. Bei gesunden Menschen erhielten sie ziemlich konstante Werte. Die Ergebnisse bei Kranken waren folgende: der Komplementgehalt des Serums bei akuten Infektionskrankheiten wurde entschieden höher gefunden als beim Normalserum und verschiedenen anderen Krankheitsformen nicht infektiösen Charakters und zwar stieg der Gehalt mit der Schwere der klinischen Krankheitszeichen. Besonders deutlich war das Verhalten beim Typhus und bei der Pneumonie. Verfasser nehmen an, daß dem Ansteigen des Komplementgehaltes ein Sinken der Komplemente unter die Norm vorausgeht. Die Vermehrung des Komplements halten sie für ein Zeichen dafür, daß sich die Komplemente im lebenden Organismus an den Prozessen der Abwehr lebhaft beteiligen; deshalb fassen sie auch eine negative Serumreaktion als schlechtes prognostisches Zeichen auf. Sie untersuchten hauptsächlich Masern, Scharlach, Diphtherie und Typhus. Bei Neugeborenen fanden sie eine Komplementverringerung.

Auch Lüdke (50) spricht den Infektionen aller Art einen, wenn auch unwesentlichen Einfluß auf den Komplementgehalt des Blutserums zu. Und zwar glaubt er, daß irgendwelche zerstörenden Einflüsse auf die Bildung frischer Komplementmengen vorhanden sind.

Eine ausführliche Arbeit lieferte Hecht (32) im Jahre 1909. Er wandte zur Komplementbestimmung eine andere Methode an. Er verglich die Komplementwirkung der untersuchten Sera mit der Wirkung des Meerschweinchenkomplements. Er bestimmt zunächst die hämolytische Kraft des Menschenserums im ganzen, nimmt dann dieselben Mengen des inaktivierten Serums, fügt Meerschweinchenserum in verschiedenen Mengen und Blutkörperchenaufschwemmung hinzu. Die Menge des Meerschweinchen-

komplements, das die Lösung in derselben Zeit bewirkt wie das eigene Komplement, drückt nun den Komplementgehalt des Serums aus. Bei einigen pathologischen Seren fand er eine Verminderung der hämolytischen Kraft, und zwar lag die Erscheinung bei Lues und Lungentuberkulose besonders an Verminderung des Ambozeptors, während in einigen anderen Fällen Komplementmangel die Ursache war.

Breton, Massol, Minet (6) und Cathoire (13) fanden im Anfang der Krankheit ein Ansteigen der hämolytischen Gesamtkraft des Serums. Es traten jedoch schon bei gesunden Menschen so große Differenzen auf, daß sie der Methode keinen großen Wert beilegten.

Ssyrensky (84) konnte eine Erhöhung des Komplementwertes bei Typhus und Pneumonie feststellen.

Louis Beckmann und H. Jacobäus (7) fanden bei der Untersuchung von 30 gesunden Menschen, daß die hämolytische Wirkung des Serums von seinem Ambozeptorengehalt abhängig war. Dieser zeigte schon bei demselben Individuum zu verschiedenen Zeiten verschiedene Höhe, während der Gehalt an Komplementen fast konstant war. Nahrungsaufnahme und Hungerzustand beeinflußt weder Komplement noch Ambozeptor.

Weil und Kafka (88) fanden bei progressiver Paralyse verminderten Komplementgehalt. Später kam Kafka zu dem Schluß, daß es sich in Fällen mit fehlender Hämolyse des aktiven Serums nicht immer um Komplementschwund, sondern um Fehlen des Ambozeptors handelte.

Eliasberg (19) untersuchte das Blut Leprakranker und Paralytiker. Freies Komplement war nicht nachzuweisen, jedoch waren Ambozeptoren vorhanden. Er hält das Fehlen von Komplement bei Anwesenheit von Ambozeptoren als ein Zeichen für die Unheilbarkeit des Leidens.

Mauriac (54) gibt an, die hämolytische Gesamtkraft des Serums bei Typhus, Herzklappenfehler, katarrhal. Ikterus, chronischer Nephritis und Tuberkulose erhöht gefunden zu haben. Sehr schwach war die hämolytische Wirkung bei Kachexien, Leukämien und Lungenerkrankungen, ebenso bei Kindern unter 10 Monaten.

Desgleichen fand Détré (15) eine verringerte hämolytische Wirkung des Serums von Kindern auf Kaninchenblutkörperchen.

Sebastini (82) konnte bei Menschen und Tieren vor Ausbruch und während des Fiebers eine Abnahme der Komplemente beobachten.

Aus diesen Literaturangaben ist zu ersehen, daß übereinstimmende Resultate nicht erzielt worden sind. Die Ursache der Differenzen ist wahrscheinlich in den verschiedenen Arbeitsmethoden zu suchen, besonders in der Verwendung des zu unter-

suchenden Serums, das man teils frisch, teils erst in älterem Zustande gebraucht hat.

1916 hat Mandelbaum (52) über die hämolytische Kraft des Serums, speziell der Komplemente ausführliche Versuche angestellt. Er ließ zunächst frische Sera von gesunden und kranken Menschen auf ½ ccm sensibilisierter Hammelblutkörperchen eine halbe Stunde im Thermostaten bei 37 Grad einwirken. Von allen Seren waren 0,06 ccm erforderlich, um komplette Hämolyse hervorzurufen. Das Nabelschnurblut bildete eine Ausnahme. Es war komplementlos. Dieselben Sera untersuchte er dann noch einmal nach längerem Aufenthalt im Eisschrank, oder bei 37 Grad, indem er sie teils mit dem Blutkuchen, teils allein aufbewahrte. Er kam hierbei zu folgenden Resultaten:

1. Die Komplementmenge in jedem frischen Serum ist die gleiche.
2. Die Komplementmenge gesunder Sera bleibt bei Aufbewahrung im Eisschrank mehrere Tage unverändert.
3. Eine Reihe von pathol. Seren, spez. chronischer Tuberkulose und Lues verlieren innerhalb 24 Stunden bei Eisschranktemperatur ihre komplettierende Kraft fast vollkommen, ganz gleich, ob das Serum allein oder mit dem Blutkuchen aufbewahrt wird.
4. Jedes menschliche Serum ohne Blutkuchen bei 37 Grad über Nacht aufbewahrt verliert den größten Teil seiner hämolytischen Wirksamkeit durch Komplementschwund. Zusammen mit dem Blutkuchen bleibt der Komplementgehalt jedoch selbst bei der größten Anzahl pathologischer Sera erhalten.

Diese Erhaltung des Komplements glaubt er bedingt durch Stoffe, die von den Blutzellen nur bei Körpertemperatur abgegeben werden, die Sozine. Der schnellen Komplementabnahme an den Seren von Tuberkulösen und Luetikern bei Eisschranktemperatur spricht er diagnostische Bedeutung zu.

Mit Berücksichtigung der Ergebnisse M. haben dann neuerdings Cori und Radnitz (14) die Sera von Gesunden und Kranken einer Prüfung unterzogen. Sie untersuchten sowohl Ambozeptor- als auch Komplementgehalt. Während sie die Komplementbestimmung wie üblich mit sensibilisierten Hammelblutkörperchen ausführten, stellten sie den Ambozeptorgehalt folgendermaßen fest: Zu gewaschenen Hammelblutkörperchen fügten sie das zu untersuchende Serum, und falls das eigene Komplement nicht reichte, noch Meerschweinchenkomplement hinzu. Von einer Inaktivierung des eignen Komplements wurde abgesehen, da bei 56 Grad schon häufig eine Schädigung des Ambozeptors eintrat. Die von Mandelbaum in frischen Seren konstant gefundene Komplementmenge konnten sie nicht bestätigen, vielmehr fanden sie Schwankungen zwischen 0,25 und 0,015. Die Ambozeptorwerte hielten sich zwi-

schen 0,25 und 0,0019. In 63 % der untersuchten Fälle war der Ambozeptorwert höher als der Komplementwert. Bei Lues fanden sie den Komplementgehalt verringert. Hohe Ambozeptorwerte zeigten zwei Fälle von Diabetes mellitus, 1 Fall von Polycytämie, 1 Sepsis, 1 Nephritis. Wenig Ambozeptoren waren bei Leucämie und sekundärer Anämie vorhanden. Prognostische oder diagnostische Schlüsse ziehen sie aus ihren Untersuchungen nicht.

Eigene Versuche.

Da nun das Pferdeserum, wie wir oben gesehen haben, eine sehr geringe hämolytische Kraft hat, war es von vornherein klar, daß bei meinen Versuchen mit möglichst kleinen Blutkörperchenmengen gearbeitet werden mußte, um überhaupt eine Hämolyse zu erhalten. Zur Blutkörperchenaufschwemmung nahm ich gewaschene Meerschweincherythrozyten, da diese sehr leicht erhältlich waren und nach den Angaben Morgenroths von Normalpferdeserum häufig auch hämolysiert wurden. Sie wurden in 1 % Aufschwemmung verwandt. Das zu untersuchende Blut wurde den Pferden steril aus der Jugularis entnommen und nach dem Gerinnen sofort zentrifugiert. Spätestens 4 Stunden nach der Blutentnahme, also frisch, wurde das Serum dann stets untersucht. Hierzu gab ich in 6 — 8 Reagensröhrchen fallende Mengen des Serums, füllte bis zu 1 ccm mit 0,9 % NaCl - Lösung auf und ließ je einen Tropfen von der Meerschweinchenblutkörperchenlösung zufließen. Ich hatte im Vorversuch festgestellt, daß die Hämolyse mit Tropfen Blutkörperchenlösung in 1 ccm Flüssigkeit sehr hinnfällig zum Ausdruck kam. Bei allen Versuchen wurde dieselbe Pipette verwandt und diese stets im selben Winkel gehalten, so daß die zugesetzte Blutmenge in allen Gläschen dieselbe war. Die Röhrchen kamen dann auf ½ Stunde in das Wasserbad bei 37° und darauf 20 Stunden in den Eisschrank. Es wurden wieder die Gläschen mit kompletter Hämolyse notiert. Da die Ergebnisse nach ½ Stunde und nach 20 Stunden übereinstimmten, teile ich hier nur die Resultate nach 30 Minuten mit. Zu jeder Versuchsreihe gehörte eine Kontrolle mit Kochsalzlösung ohne Serum: Die Proben waren stets negativ.

Ich prüfte zunächst das Verhalten des Serums bei gesunden Pferden. Es wurden dieselben Pferde wie im 1. Teil der Arbeit benutzt. Die Nummern der Pferde stimmen mit denen im 1. Teil überein.

Versuch I

Pferd I	kompl.	Hämolyse	bis	0,05	ccm Serum
Pferd V	kompl.	Hämolyse	bis	0,05	ccm Serum
Pferd X	kompl.	Hämolyse	bis	0,08	ccm Serum
Pferd XIII	kompl.	Hämolyse	bis	0,07	ccm Serum
		Durchschnitt		0,0625	

Versuch II. Pferd I kompl. Hämolyse bis 0,05 ccm Serum
Pferd XIV kompl. Hämolyse bis 0,05 ccm Serum
Pferd XI kompl. Hämolyse bis 0,05 ccm Serum
Pferd XII kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Durchschnitt 0,0475

Es zeigt sich ein ziemlich konstantes Verhalten bei gesunden Pferden. Die Werte schwanken zwischen 0,08 und 0,04. Durchschnittswert = 0,055.

Die Ergebnisse bei kranken Pferden sind folgende:

Immunpferde:

Pferd I kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Immunpferd 1 kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Immunpferd 2 kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Immunpferd 3 kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum

Das Serum verhält sich wie bei gesunden Pferden.

Beschälseuche.

Pferd I kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Beschälseuche 1 kompl. Hämolyse bis 0,05 ccm Serum
Beschälseuche 2 kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Beschälseuche 3 kompl. Hämolyse bis 0,07 ccm Serum

Die Werte befinden sich in normalen Grenzen.

Pneumonie.

Das Pferd wurde zweimal untersucht. Während des Fieberstadiums am 22. 5. und im Rekonvaleszentenstadium am 6. 6.

1. Dat. 22. 5. Temperatur: 40,0°

Pferd I kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Pneumonie kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum

2. Dat. 6. 6. Temperatur 37,7°

Pferd I kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum
Pneumonie kompl. Hämolyse bis 0,04 ccm Serum

Das Pferd zeigt sowohl während des Fiebers als auch später normale Werte.

Anämie.

Pferd I.

Untersuchung am 21. April Temperatur 39,6°.
(Kontrollpferd) Pferd I kompl. Hämolyse bis 0,05 ccm Serum
Anämie kompl. Hämolyse bis 0,1 ccm Serum

Die hämolytische Kraft des Serums ist vermindert und zwar

befindet sich der Wert außerhalb der bei gesunden Pferden gefundenen Grenzen.

Pferd 2.

1. Untersuchung am 26. 4. Temperatur 40,3°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,04 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,09 ccm Serum

Auch hier ist eine abnorme Verringerung der hämolytischen Wirksamkeit des Serums vorhanden.

2. Untersuchung am 27. 4. Temperatur: 40,6°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,04 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,09 ccm Serum

3. Untersuchung am 30, 4. Temperatur: 37,5°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,04 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,05 ccm Serum

4. Untersuchung am 3. 5. Temperatur: 37,7°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,04 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,05 ccm Serum

5. Untersuchung am 7. 5. Temperatur: 39,5°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,05 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,1 ccm Serum

Das Serum zeigt eine verringerte hämolytische Wirkung während der Fieberanfälle. In der fieberfreien Zeit halten sich die Werte in normalen Grenzen.

Pferd 3.

Untersuchung am 4. 5. Temperatur: 39,5°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,04 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,2 ccm Serum

Es liegt eine starke Verringerung der hämolytischen Wirksamkeit im Fieber vor. Während einer fieberfreien Periode wurde das Pferd nicht untersucht.

Pferd 4.

1. Untersuchung am 17. 5. Temperatur: 39,6°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis 0,04 ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis 0,06 ccm Serum

2. Untersuchung am 18. 5. Temperatur: 39,2°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis	0,04	ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis	0,07	ccm Serum

Die Werte halten sich in diesem Falle in normalen Grenzen, sind aber durchschnittlich höher.

Pferd 5.

1. Untersuchung am 3. 5. Temperatur: 37,7°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis	0,05	ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis	0,06	ccm Serum

2. Untersuchung am 28. 5. Temperatur: 41,0°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis	0,05	ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis	0,1	ccm Serum

3. Untersuchung am 29. 5. Temperatur: 38,3°

Pferd I	kompl. Hämolyse	bis	0,05	ccm Serum
Anämie	kompl. Hämolyse	bis	0,15	ccm Serum

Das Pferd zeigt während des Fiebers und kurz nachher verringerte hämolytische Kraft seines Serums. Vor dem Fieberanfall hält sich der gefundene Wert in normalen Grenzen.

In 4 von den 5 Fällen der infektiösen Anämie konnte ich während des Fiebers eine Abnahme der hämolytischen Kraft des Serums unter die Norm beobachten. Bei den Pferden, die mehrmals untersucht wurden, zeigte es sich, daß sich der hämolytische Wert während der fieberfreien Zeit in normalen Grenzen hielt, kurz nach dem Fieberanfall aber noch verringert war. In allen anderen Fällen, auch bei der mit Fieber verlaufenden Pneumonie, war eine bedeutende Veringerung der hämolytischen Kraft nicht nachzuweisen. Eine Untersuchung des Serums von dem rotzkranken Pferde konnte leider nicht stattfinden.

Nachdem ich so das Verhalten des Gesamthämolysins untersucht hatte, fragte es sich, ob die Ambozeptoren bei der Verringerung der hämolytischen Kraft eine Rolle spielten. Es wurde also jetzt speziell das Verhalten der Ambozeptoren geprüft. Zu dem Zweck mußte das Komplement ausgeschaltet, also das zu untersuchende Serum inaktiviert werden. Ausgehend von den Angaben Sachs' im Kraus-Levaditi, daß die Inaktivierungstemperatur des im Pferdeserum enthaltenen Ambozeptors auf Meerschweinchenblutkörperchen 51° bis 52° beträgt, wurden die Sera ½ Stunde in ein Wasserbad von 51° gebracht. Temperaturen von 55° und 56°, die versuchsweise angewandt wurden, machten den Ambozeptor unwirksam. In eine Reihe von Gläschen wurde nun je ½ ccm inaktivierten Serums in verschiedenen Verdünnungen ge-

füllt, als Komplement wurde je ½ ccm Meerschweinchenserum in der Verdünnung 1:10 hinzugegeben, zum Schluß ein Tropfen 1 % Meerschweinchenblutkörperchenaufschwemmung beigefügt. Die Resultate wurden in denselben Zeiten wie bei den anderen Versuchen abgelesen.

Zu jedem einzelnen Versuch gehörten folgende 3 Kontrollen:

1.	½ ccm Amboz.	—	Kompl.	½ ccm NaCl	1 Tr. Blut
2.	—	Amboz. ½ ccm	Kompl.	½ ccm NaCl	1 Tr. Blut
3.	—	Amboz. —	Kompl.	1 ccm NaCl	1 Tr. Blut

um festzustellen, ob Ambozeptor, Komplement und NaCl-Lösung auch nicht allein hämolysierten. Nach Kafka kommen im Meerschweinchenserum nämlich häufig Antolysine vor. Ich möchte vorweg nehmen, daß alle Kontrollen negativ waren.

Leider konnte ich die Prüfung des Ambozeptorengehalts nur bei gesunden Pferden und bei den an infektiöser Anämie erkrankten vornehmen. Ich lasse jetzt die Ergebnisse folgen und füge zum Vergleich die Werte dabei, die sich bei der Untersuchung der betreffenden aktiven Sera ergeben haben.

Gesunde Pferde.

	Ambozeptorwert	Wert d. Gesamthämolysins
Pferd I	0,04	0,05
Pferd V	0,04	0,05
Pferd X	0,05	0,08
Pferd XIII	0,05	0,07
Pferd XIV	0,04	0,05
Pferd XI	0,03	0,05
Pferd XII	0,04	0,04

Die Ambozepterwerte halten sich also bei den untersuchten gesunden Pferden zwischen 0,03 und 0,05, d. h. 0,03—0,05 ccm Ambozeptor genügten, um in Gegenwart von ½ ccm Meerschweinchenkomplement in der Verdünnung 1:10 einen Tropfen Meerschweinchenblutkörperchen zu lösen.

Kranke Pferde (inf. Anämie)

Pferd 1.

Serum vom 21. 4. Temperatur: 39,6°

	Ambozeptorwert	Wert des Gesamthäm.
Pferd I	0,04	0,05
Anämie	bis 0,5 keine kompf. Hämolyse	0,1

Der Ambozeptor war schon ca. 4 Wochen alt. Hieraus erklärt sich vielleicht die sehr geringe hämolytische Wirkung.

Pferd 2.

Serum vom 7. 5. Temperatur: 39,5°

	Ambozeptorwert	Wert des Gesamthäm.
Pferd I	0,04	0,05
Anämie	0,15	0,1

Pferd 3.

Serum vom 4. 5. Temperatur: 39,5°

	Ambozeptorwert	Wert des Gesamthäm.
Pferd I	0,04	0,04
Anämie	0,5	0,2

Pferd 4.

Serum vom 18. 5. Temperatur: 39,2°

	Ambozeptorwert	Wert des Gesamthäm.
Pferd I	0,04	0,04
Anämie	0,1	0,07

Pferd 5.

1. Serum vom 3. 5. Temperatur: 37,7

	Ambozeptorwert	Wert des Gesamthäm.
Pferd I	0,04	0,05
Anämie	0,05	0,07

2. Serum vom 29, 5. Temperatur: 38,3°

	Ambozeptorwert	Wert des Gesamthäm.
Pferd I	0,04	0,06
Anämie	0,2	0,2

Bei allen Versuchen mit inaktiviertem Anämieserum, das während des Fiebers oder kurze Zeit darauf gewonnen wurde, ist eine Abnahme im Ambozeptorengehalt festzustellen, und zwar ist die Differenz im Ambozeptorgehalt zwischen gesunden und anämiekranken Pferden größer, als die Differenz, die sich in der Wirkung des Gesamthämolysins ergeben hat. Auch beim Pferd 4, bei dem als Ausnahme keine Verringerung der hämolytischen Wirksamkeit vorliegt, besteht ein erheblicher Ambozeptorenmangel. Die Ursache dieser Erscheinung ist nun entweder darin zu suchen, daß die Ambozeptoren im Tierkörper während des Fiebers verringert werden, oder, daß die Ambozeptoren der Anämiepferde labiler geworden sind und durch eine Temperatur von 51°, die bei gesunden Pferden keine Schädigung des Ambozeptors hervorruft, in ihrer Wirksamkeit beeinflußt werden. Dies zu entscheiden ist nicht die Aufgabe dieser Arbeit. Für die prak-

tische Seite der Untersuchungen hat diese Frage keine Bedeutung.

Hierfür genügt die Tatsache, daß bei der angewandten Technik die Anämiesera weniger Ambozeptoren enthalten als die Sera gesunder Pferde.

Bei dem geringen Untersuchungsmaterial, das mir zur Verfügung stand, kann man natürlich keine allgemeinen Schlüsse ziehen. Erst, wenn man derartige Untersuchungen mit reichlicherem Versuchsmaterial wiederholen kann, indem man auch besonders gleichzeitig möglichst viele andere fieberhaften Erkrankungen und sekundäre Anämien in die Untersuchung hineinzieht, läßt es sich entscheiden, ob der Methode ein diagnostischer Wert für die infektiöse Anämie beizumessen ist.

Zusammenfassung.

I.

1. Die Widerstandsfähigkeit der Erythrozyten einem spezifischen hämolytischen Immunserum gegenüber unterliegt schon bei gesunden Pferden großen Schwankungen.

2. Bei mehrmaligen Untersuchungen gesunder Pferde ergeben sich fast konstante Werte.

3. Bei kranken Pferden erleiden die Erythrozyten während des Krankheitsprozesses häufig Veränderungen, die sich in geringer Resistenzerhöhung bezw. -verminderung zu erkennen geben.

4. Sämtliche bei kranken Pferden gefundenen Werte halten sich aber in den Grenzen der bei gesunden Pferden erzielten Ergebnisse. Der Methode ist deshalb kein diagnostischer Wert beizulegen.

II.

1. Bei gesunden Pferden halten sich die Werte der Gesamthämolysine und die Ambozeptorenwerte in den Grenzen zwischen 0,04 und 0,08 bezw. 0,03 und 0,05.

2. In den 5 untersuchten Fällen von infektiöser Anämie zeigt sich ein starker Mangel an normalen hämolytischen Ambozeptoren, in 4 von 5 Fällen auch eine Abnahme in der hämolytischen Kraft der aktiven Sera, während in einem Fall von fieberhafter Pneumonie die hämolytische Wirkung des Serums nicht verändert ist.

3. Der Nachweis des verminderten Gehaltes an normalen hämolytischen Ambozeptoren könnte für die Diagnose der infektiösen Anämie Bedeutung haben. Doch kann darüber erst an Hand eines größeren Versuchsmaterials entschieden werden.

Literatur

1. **Abderhalden**: Zeitschr. für phys. Chemie 1909, Bd. 70.
2. **Abderhalden** und **Frei**: Archiv für Tierheilkunde 1910, Bd. 36.
3. **Abderhalden** und **Weil**: Archiv für Tierheilkunde 1912, Bd. 38.
4. **Abderhalden** und **Buchal**: Archiv für Tierheilkunde 1911, Bd. 37.
5. **Bentivegna** und **Carini**: La Sperimentale 1900, Bd. 5.
6. **Breton, Massol, Minet**: Compt. rend. de la Soc. de Biol. 67.
7. **Louis Beckmann** und **Jacobäus**: Compt. rend. de la Soc. de Biol. 67.
8. **Bordet**: Ann. de l'inst. Pasteur 1896 und 1898.
9. **Bellei**: Münch. med. Wochenschr. 1904, 2.
10. **Fred Boerner**: Journal of inf. deseases 1915, 17.
11. **Bernstein**: Zentralblatt für die mediz. Wissensch. 84.
12. **Borchers**: Veterinärmed. Dissert. Berlin 1920.
13. **Cathoire**: Compt. rend. de la Soc. de Biol. 69.
14. **Cori** und **Radnitz**: Zeitschr. f. Immunitätsf. 1920, 5.
15. **Détré**: Compt. rend. hebd. des soéanc. med. de Bordeaux 1912.
16. **v. Dungern**: Münch. med. Wochenschr. 1900, 20.
17. **Ehrlich**: Immunitätsforschung 1904.
18. **Ehrlich** und **Morgenroth**: Berl. klin. Wochenschr. 1899—1901.
19. **Eliasberg**: Berl. kind. Wochenschr. 1911.
20. **Finzi**: Rev. gén. 1911, 18.
21. **Fischer**: Das Oedem, Dresden 1913.
22. **Friedemann**: Biochem. Zeitschr. Bd. 80.
23. **Friedberger** und **Doepner**: Zentralbl. f. Bakt. 1908, 46.
24. **Wolf Franz**: Zeitschr. f. Immunitätsf. 14.
25. **Fränkel**: Zeitschr. f. Immunitätsf. 10 Ref.
26. **Gruber**: Münch. mediz. W. 1901, 48 und 49.
27. **Gurber** und **Höber**, zit. nach **Rißling**: Zentralbl. Bakt. 44.
28. **Hahn** und **Neu**: Z. f. Immunitätsf. 29. Bd., 3 und 4.
29. **Hahn** und **Trommsdorf**: Münch. med. W. 1902.
30. **Hamburger**: Osmotischer Druck und Ionenlehre 1—3.
31. **Hedinger**: Deutsch. Archiv f. klin. Mediz. 1902, 74.
32. **Hecht**, Wiener klin. W. 1909, S. 265.
33. **Heuberger** und **Stepp**: D. Archiv f. klin. Med. 1902, 106.
34. **Hempel**: Z. f. Immunitätsf. 1909, 5.
35. **Hanna Hirschfeld**: Fol. haem. 9, 1910.
36. **Hutyra-Marck**: 1918 I S. 890.
37. **Itami** und **Pratt**: Bioch. Zeitschr. 1909, 18.

38. **Kentzler:** Berl. klin. W. 1905.
39. **Kolle-Wassermann:** Handbuch der pathog. Mikroorganismen.
40. **Kostrzewsky:** Zentralbl. für Bakt. 68, 1913.
41. **Kraus** und **Levaviti:** Handbuch der Immunitätsforschung.
42. **Kreibisch:** Wiener klin. W. 1903, 27.
43. **Laqueur:** Arb. aus d. path. Inst. zu Berlin 1901.
44. **Lacker:** Wiener med. Presse 1890.
45. **Landsteiner** und **v. Eisler:** Wiener klin. W. 1904, 24.
45a. **Lange:** Zeitschr. f. Immunitätsforschung 1917.
46. **Laitinen:** Z. f. Hygiene 1908, 58.
47. **Landois:** Lehrbuch der Physiol.
48. **Leschly, W.:** Z. f. Immunitätsf. 24, 1916.
49. **Lüdke:** Zentralblatt f. Bakt. 37 und 40.
50. derselbe: Verh. d. med. physik. Gesellsch. zu Würzburg 1908, Bd. 39.
51. **Lührs:** Zeitschr. für Vet.kunde 1919, 11 und 11.
52. **Mandelbaum:** Münch. med. W. 1916, 29.
53. **Manvaring:** Zentralbl. f. Bakt. 40.
54. **Mauriac:** Gaz. hebd. des scéances de la Soc. de Biol. 1912.
55. **Mayer:** Monatsh. f. Tierheilkunde, 24.
56. **Maragliano:** Z. f. klin. Med., 1892.
57. **Metschnikoff:** Ann. de l'inst. Pasteur 1895.
58. **Metalnikoff:** Ann. de l'inst. Pastteur 14.
59. **Meyer** und **Emmerich:** D. Archiv f. klin. Med. 46.
60. **Kurt Meyer:** Hofm. Beiträge 1908, Bd. 11.
61. **Morawitz** und **Pratt:** Münch. med. W. 1908.
62. **Morgenroth** und **Sachs:** Berl. klin. W. 1902, 30.
63. **Moro:** Wien. med. W. 1908.
64. **Moro** und **Potpeschnigg:** Wien. med. W. 1908, 1.
65. **P. Th. Müller:** Infektion und Immunität.
66. **Neisser** und **Döring:** Berl. klin. W. 1901.
67. **Pascucci:** Hofm. Beiträge 1905, 6.
68. **Port:** D. Archiv für klin. Med. 99.
68a. derselbe: Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. 69, 1912.
69. **Radziewsky:** Z. f. Hygiene 37, 1901.
70. **Ransom:** D. med. W. 1901, 27.
71. **Ribierne:** Fol. haem. II 1905.
72. **Rißling:** Zentralbl. f. Bakt. 44.
73. **Peyton Rous:** Journ. of exp. med. 1909, 11.
73a. derselbe: Journ. of exp. med. 1916, 23.
74. **Roth:** Archiv f. klin. Med. 1913.
75. **Rollet:** Pflügers Archiv 1900, 82.
76. **Rosenthal:** Fol. haem. 10, S. 253.
77. **Rywosch:** Pflügers Archiv 1907, 116. Bd.
78. **Sandaya:** Göttinger Diss. 1912.
79. **Sachs:** Münch. med. W. 1904, 7.
80. **Scharffenroth:** Diss. Halle 1884.

81. **Schern**: Technik der vet. Serodiagnostik.
82. **Sebastini**: Zentralbl. f. exp. Medizin 1912.
83. **Snapper**: Biochem. Z. 43, 1912.
84. **Ssyrensky**: Wratschneb. Gaz. 1912, N. 16.
85. **Tasawa**: Z. f. Immunitätsf. 18, 1913.
86. **Trommsdorf**: Zentralblatt für Bakt. 32.
87. **Wassermann**: Münch. med. W. 1913.
88. **Weil und Kafka**: Med. Klinik 1911.
89. **Wirth**: Monatsh. f. Thk. 29.
90. **Wunschheim**: Archiv f. Hygiene 54, 1905.

Lebenslauf.

Ich, Karl Robert Volkmar Kurt Kettner, evgl. Konfession, wurde am 23. 6. 1894 als Sohn des Fabrikanten Robert Kettner und seiner Ehefrau Anna, geb. Bötticher zu Berlin geboren. Meine erste Schulbildung erhielt ich auf dem Jahn-Realgymnasium zu Berlin-Lichtenberg, das ich Ostern 1913 mit dem Zeugnis der Reife verließ. Bis zur Mobilmachung studierte ich 3 Semester in Berlin Veterinärmedizin. Von August 1914 bis zur Demobilmachung im Dezember 1918 stand ich in Heeresdiensten. Im Januar 1919 nahm ich mein Studium wieder auf und erhielt meine Approbation im Dezember 1919. Von Januar bis Juli 1920 arbeitete ich dann zur Anfertigung meiner Dissertation im hygienischen Institut der tierärztlichen Hochschule zu Berlin.

846000000558999

Freie Universität Berlin