

## VI.

**Die chemische Reizbarkeit thierischer Zellen.**

Ein Beitrag zur Lehre von der Entzündung und Eiterung.

Von Dr. Friedrich Roemer aus Alzei.

(Hierzu Taf. II.)

---

Im November 1890 trat Buchner mit einer Arbeit<sup>1</sup> an die Oeffentlichkeit, die geeignet ist, über manche noch offene Fragen der Physiologie und Pathologie durch experimentelle Daten theils Aufklärung zu geben, theils eine solche anzubahnen. Bei seinen gemeinschaftlich mit Wauer unternommenen Versuchen über Hemmung der Milzbrandinfection<sup>2</sup> durch den Pneumobacillus (Friedländer) machte Buchner die Beobachtung, dass sterilirte Emulsionen des Pneumobacillus subcutan bei Warmblütern stets locale Ansammlung von Eiterkörperchen veranlassen. Später zeigte er mit Knüppel<sup>3</sup>, dass 17 chemisch und biologisch verschiedene Bakterienarten in Form von sterilisirten Emulsionen Kaninchen unter die Haut gebracht, sämmtlich zu aseptischer Eiterinfiltration an der Injectionsstelle führen. Eingehende kritische Untersuchungen, betreffs derer wir auf das Original verweisen, führten Buchner zur Erkenntniss der wichtigen Thatsache, dass die eitererregende chemische Substanz der Bakterienzelle selbst, nicht deren Stoffwechselproducten angehört. Es gelang Buchner den wirksamen Stoff in der Form von Alkalialbuminaten (Proteine) nach einem von Nencki angegebenen Verfahren chemisch darzustellen<sup>4</sup>). Durch die mit Lange unternommenen Röhrchenversuche (s. 6. Abschnitt) konnte er

<sup>1)</sup> Von einem festen Nährboden (Kartoffeln, Agar) wird die Bakterienmasse abgeschabt und mit schwacher Kalilauge (0,5 pCt.) verrieben; dabei bildet sich bei vielen Bakterienarten ein zäher Schleim, der sich bei Digestion im Wasserbade verflüssigt. Die Flüssigkeit wird filtrirt und aus dem Filtrat durch verdünnte Salz- oder Essigsäure das Protein ausgefällt. Dasselbe wird auf einem Filter ausgewaschen und löst sich leicht im Wasser bei Zusatz einiger Tropfen Sodalösung.

nachweisen, dass diese aus verschiedenen Bakterienarten hergestellten „Alkaliproteine“ stark chemotactisch auf Leukocyten wirken. Die aus Pflanzenzellen nach dem gleichen Verfahren gewonnenen Proteine — Glutencasein (aus Weizenkleber) und Legumin (aus Erbsen) — zeigten sich ebenfalls als starke chemotaktische Reizmittel. Basirend auf der von manchen Autoren gemachten Beobachtung, dass bei Resorptionsvorgängen die Leukocyten betheiligt sind, wurden betreffs ihrer Chemotaxis auch die Alkalialbuminate thierischer Zellen einer Prüfung unterzogen. So hatten Proteine aus Muskel, Leber, Lunge, Niere alle deutlich ausgesprochenes positives Resultat.

Am Menschen wurde durch Pyocyanusprotein und Gluten-casein (subcutan) eine heftige mehrere Tage andauernde, aseptische, erysipelartige Entzündung mit leichter Temperatursteigerung erzeugt.

In Erwägung der Thatsachen, dass die Leukocytose als Theilerrscheinung einer Reihe von sieberhaften, entzündlichen Prozessen sich darstellt, prüfte ich auf Buchner's Veranlassung die Wirkung der Alkaliproteine auf das Blut.

### 1. Leukocytose durch Alkaliproteine<sup>4</sup>.

Die Versuche wurden nur an Kaninchen ausgeführt. Die Injection in das Blut geschah durch eine Ohrvene, in die mittelst einer Hohlnadel eingestochen wurde. In der Regel habe ich nur das Ohrvenenblut untersucht, da hier die Leukocytose am stärksten war. Die Blutkörperchenzählung stellte ich mit dem Zeiss-Thoma'schen Apparat an und wählte als Verdünnungslüssigkeit die Toison'sche Mischung<sup>\*)</sup>, in der weisse und rothe Blutkörperchen bequem zugleich gezählt werden können.

1., 2., 3. Versuch. Nach der Injection steigt die Zahl der Leukocyten an, und nach ungefähr 8 Stunden hat die Leukocytose bereits ihren Höhepunkt erreicht. Unter der Einwirkung der Bakterienproteine hält die Vermehrung länger an, während bei Alkaliproteinen aus Pflanzen- und Thierzellen ein Herabsinken sich bald bemerkbar macht; schon nach etwa 24 Stunden ist das ursprüngliche Verhältniss wieder eingetreten.

<sup>4)</sup> Destillirtes Wasser 160 ccm, neutrales Glycerin 30 ccm, Natriumsulfat 8 g, Chlornatrium 1 g, Methylviolett 0,025 g.

Aber auch bei Bakterienproteinen ist etwa 48 Stunden nach der Injection die Zahl der Leukocyten wieder auf die Norm gesunken. Im Höhestadium liegen in allen Fällen die weissen Blutkörperchen zum Theil in Gruppen und Haufen (2—10 Stück) zusammen.

4. Versuch. Auch nach subcutaner Injection der Proteine kann man eine Vermehrung der Leukocyten beobachten; dieselbe kommt aber möglicherweise wegen ungenügender Resorption der Alkaliproteine hier selten zu Stande. Die Leukocytose entwickelt sich wesentlich langsamer, als wie nach direkter Einführung der Substanz in's Blut.

5. u. 6. Versuch. Werden die Bakterienproteine öfters in 24 stündigen Intervallen eingeführt, so steigert sich mit jeder Injection die Leukocytose und kann nach 3—4 Injectionen einen abnorm hohen Grad erreichen (1:38, 1:59). Entsprechend der steigenden Leukocytenzahl nimmt auch die Anzahl der in Gruppen und Haufen zusammenliegenden weissen Blutkörperchen zu.

In Bezug auf die Zahl der rothen Blutkörperchen habe ich in keinem dieser noch auch der späteren Versuche etwas Besonderes wahrnehmen können.

Intravenöse und subcutane Injection von sterilem, destillirtem Wasser (10 bzw. 20 ccm) verändert das Zahlenverhältniss der Blutkörperchen nicht.

Die vorstehenden Befunde dürfen als ein Beitrag zur Erklärung der entzündlichen Leukocytose angesehen werden.

Die Studien über die Vermehrung der weissen Blutkörperchen bei fieberhaften, entzündlich-exsudativen Prozessen, womit wir durch die Forschungen von Böckmann, Halla und Tumas näher bekannt geworden sind, hat in neuerer Zeit v. Limbeck<sup>5</sup> wieder aufgenommen und im Wesentlichen übereinstimmend mit seinen Vorgängern gefunden, dass bei Pneumonie, Erysipel, Pleuritis, Peritonitis und eitriger Meningitis parallel mit der Fiebercurve die Zahl der weissen Blutkörperchen steigt und sinkt.

Nach den gegenwärtig mitgetheilten Versuchen dürfte sich diese Thatsache folgendermaassen erklären lassen:

Bei entzündlich-exsudativen Prozessen werden sowohl Bakterien, als auch Zellen des Organismus derart geschädigt, dass sie absterben und zerfallen. Von

absterbenden und todten Bakterien- und Thierzellen gehen lösliche Bestandtheile der plasmatischen Leibessubstanz, als wirksamster Stoff wohl die Proteine, in die Gewebesäfte, von da in Lymphe und Blut über und bewirken durch einen formativen auf die Leukozyten ausgeübten Reiz deren Proliferation und damit eine Leukocytose.

## 2. Theilung der Leukocyten im Blut; der formative Reiz.

Das schon erwähnte Zusammenliegen der Leukocyten in Gruppen und Haufen gab mir Anlass zu vermuten, dass diese Zellen sich hier durch Theilung im Blute selbst vermehren. Diese Annahme wurde bestärkt, als bei den in 24ständigen Intervallen wiederholten Injectionen von Alkaliprotein die Zahl der in Haufen zusammenliegenden Leukocyten eine ihrer Gesammtzahl entsprechende Zunahme zeigte.

Nun richtete ich das Experiment eigens auf eine Entscheidung der Frage zu.

7. u. 8. Versuch. 2 bezw.  $3\frac{1}{2}$  Stunden nach vorhergegangener Proteininjection, also zu einer Zeit, wo eine vollkommene Vertheilung der wirksamen Flüssigkeit anzunehmen war, eine ausgesprochene Vermehrung der Leukocyten aber noch nicht stattgefunden oder wie im 8. Versuch die Leukocytose das Höhestadium noch nicht erreicht hatte, wurde das eine noch intakte Ohr des Kaninchens mittelst einer Klemmschraube fest abgeschraubt und darauf abgeschnitten. Bei langsamem Einschrauben füllen sich die Ohrvenen, so dass später zum Untersuchen hinreichend Blut vorhanden ist. Das abgeschnittene Ohr kam dann auf 6 bezw.  $4\frac{1}{2}$  Stunden in den Brütöfen ( $37^{\circ}$ — $38^{\circ}$ ), damit die injicirte Flüssigkeit im Ganzen 8 Stunden bei Körpertemperatur auf die Blutzellen wirkte. Nach Verlauf dieser Zeit wurde das Ohr aus dem Brütöfen herausgenommen und das venöse Blut mit dem Zeiss-Thoma'schen Zählapparat untersucht. Es war in Folge des Aufenthaltes bei  $37^{\circ}$  durch das Verdunsten etwas concentrirter, aber nicht geronnen. Die Zählung ergab eine Vermehrung der Leukocyten auf das Dreifache. Sie lagen auch hier in Gruppen und Haufen.

Mehrfach angestellte Controlversuche, Abschneiden des Ohres ohne vorhergegangene Injection und Verbringen in den Brütofen auf 6—7 Stunden, zeigten keine besonderen Veränderungen im Verhältniss der weissen zu den rothen Blutkörperchen.

Nun trat ich der Frage auch histologisch näher und stellte aus dem Blut im Höhestadium der Leukocytose (1:59, 6. Versuch) Dauerpräparate her\*). Als Fixationsmethode wurde in allen Fällen der feuchte Weg eingehalten, da ich gleich Löwit die Ueberzeugung gewann, dass sowohl die Kerne während der Amitose, als auch die nicht in Theilung befindlichen Kerne dadurch in einer Weise fixirt werden, die der Wirklichkeit wesentlich näher kommt, als die nach Einwirkung hoher Temperaturen (Trockenmethode) beobachteten Kernbilder.

Für das mehrfach erwähnte Zusammenliegen der Leukocyten in Gruppen und Haufen lassen sich verschiedene Gründe anführen.

Einmal wäre es denkbar, dass in der Milz, den Lymphdrüsen, dem Knochenmark eine regere Neubildung von Zellen stattfindet und die Leukocyten von da in vermehrter Zahl durch Blut und Lymphe weitergeführt werden und im langsameren Venenstrom zusammenkleben.

Es könnte aber auch die Vermehrung der Leukocyten im Blut auf die chemotactische Wirkung der Proteine zurückzuführen sein, indem dadurch die ausserhalb der Blutbahn gelegenen

\*) Die von mir hauptsächlich benutzte Fixations- und Färbemethode ist von A. L. Gaule (Americ. Natural 1887. Method of staining and fixing the Elements of blood) angegeben.

Das frische auf dem Objectträger fein ausgestrichene Blut kommt in feuchtem Zustande unmittelbar in

1. gesättigte, wässrige Sublimatlösung 6 Min.
2. Destillirtes Wasser 2 Min.
3. Alcohol absolutus 5 Min.
4. Destillirtes Wasser 1 Min.
5. Hämatoxylin 6 Min. (20 Tropfen 5 proc. alkoholischer Hämatoxylinlösung in 100 ccm  $\frac{1}{2}$  proc. wässriger Alaunlösung).
6. Destillirtes Wasser 1 Min.
7. Eosin 2 Min. (1 g Eosin, 60 ccm Alcoh. abs., 140 ccm Aq. dest.).
8. Alcohol absolutus 5 Min.
9. Toluol.
10. Canadabalsam.

Wanderzellen zur Einwanderung in das Gefässsystem veranlasst werden und dort zusammenkleben; die letztere Erklärung wurde neuerdings thatsächlich von Tschistowitsch bei experimenteller Leukocytose durch Tuberculin versucht (s. 7. Abschnitt).

Beide Auslegungen erweisen sich als unhaltbar.

Wenn die beträchtliche Vermehrung der Leukocyten im venösen Blut auf Neubildung in der Milz, den Lymphdrüsen, dem Knochenmark beruhen sollte, so müsste sie doch auch im arteriellen Blute nachzuweisen sein; denn bevor das von den blutbildenden Organen abgeföhrte Blut in die Ohrvenen gelangt, muss es die Arterien passiren. Nun ist aber die Vermehrung im ganzen arteriellen Gebiet eine unbeträchtliche (6., 12., 19., 21. Versuch) und Leukocyten in Gruppen oder Haufen habe ich dort gar nicht beobachtet.

Von noch grösserem Gewicht sind aber die folgenden Gegenbeweise.

In den Dauerpräparaten, die ich aus venösem Blut im Höhstadium der Leukocytose (1:59) in der oben beschriebenen Weise anfertigte, sind paarweise zusammenliegende Leukocyten nicht nur gleich gross, sondern ihre Kerne auch auffallend ähnlich gebaut, gleichsam in demselben Entwickelungsstadium. Man erhält den Eindruck, als ob die Theilung eben zu Ende gegangen wäre (Fig. 1—6).

Den Schlussbeweis bilden die zahlreichen in verschiedenen Stadien befindlichen Leukocyten in Theilung. Solche Theilungsbilder sind so häufig, dass sie das Entstehen der Leukocytose im Blute selbst sehr wahrscheinlich machen.

Durch die im Vorstehenden mitgetheilten Befunde — Zusammenliegen der Leukocyten in Haufen, Steigerung der in Gruppen und Haufen liegenden Leukocyten entsprechend ihrer Gesammtzahl, grosse Aehnlichkeit paarweise zusammenliegender Leukocyten, Theilungsvorgänge im Blut, endlich Leukocytose im abgeschnittenen Ohr — glaube ich die genannten Einwände gegen die Theilung der Leukocyten im Blut entkräftet zu haben.

Durch passendes Nebeneinanderstellen in verschiedenen Theilungsstadien befindlicher Leukocyten lässt sich ein Bild von dem Ablauf des ganzen Theilungsprozesses geben\*).

\*) Die Beschreibung des Theilungsvorganges ist im Interesse der Klarheit

Während an der äusseren Zelle noch nichts Augenfälliges zu bemerken ist, vollziehen sich im Kerninnern schon wichtige den Theilungsvorgang einleitende Veränderungen. Der Kern hat eine ellipsoide Gestalt angenommen. Ein durch Grösse auffallender Chromatinknoten, der in der Aequatorialebene, in der Mitte des Kerns gelegen ist, theilt sich (Fig. 8) und die beiden neu entstandenen Knoten, die durch einen feinen Faden noch lange verbunden bleiben, rücken nach den Kernpolen zu auseinander (Fig. 9—11). Dieser Vorgang im Kerninnern wurde bereits von Löwit an in Theilung begriffenen Leukocyten (Löwit's Leukoblasten) der Warm- und Kaltblüter beobachtet und *divisio per granula* genannt<sup>6</sup>.

Sind die Chromatinknoten etwa in den Brennpunkten des ellipsoiden Kerns angelangt, dann beginnt die Einschnürung am Kern (Fig. 10, 11). Die Theilungsebene entspricht meist der Aequatorialebene, so dass in der Regel gleiche Theilungsstücke geliefert werden; eine Theilung in ungleiche Hälften kommt aber vor (Fig. 14).

Die Trennung der Kerne vollzieht sich durch eine einfache Durchschnürung. Die Kernformen, die dabei entstehen, werden dadurch verschieden, dass die Einschnürung bald einseitig beginnt, bald von allen Seiten gleichzeitig sich vollzieht. Während sich der Kern einschnürt, geht bei erhaltener Membran im Innern des Kerns eine sichtbare Trennung desselben in zwei Hälften von Statten. Die chromatinhaltige Kernsubstanz zieht sich in der Richtung nach den Kernpolen hin von der Einschnürungsebene zurück. Es entsteht dadurch zwischen zwei dunkel gefärbten Kernhälften ein lichter Zwischenraum, welcher von der durchscheinenden, noch erhaltenen Kernmembran eingehüllt ist, so dass die Membran brückenartig die dunklen, chromatinreichen Kernhälften verbindet (Fig. 12, 14).

Mit dem Fortschreiten des Theilungsprozesses rücken die Kerne weiter auseinander und die helle Brücke wird schmäler, bandartig (Fig. 15, 17, 26). Zuletzt zieht sich nur noch ein feiner Faden von dem einen zum anderen Kern hinüber (Fig. 13).

etwas schematischer gehalten, als sich ein so variabler Prozess, wie die Amitose, in Wirklichkeit darstellt.

Erfolgt die Einschnürung des Kerns von allen Seiten gleichmässig (Hantelform Fig. 11), so ist das Verbindungsband in der Mitte gelegen (Fig. 14, 15, 17)\*); beginnt sie einseitig und schreitet nach der gegenüber liegenden Seite fort (Nierenform, Fig. 3, 16), dann liegt das Verbindungsband in der ursprünglichen Kernperipherie (Fig. 13)\*\*); beginnt aber die Durchschnürung auf zwei gegenüber liegenden Seiten in gleicher Höhe und vollzieht sich so, dass die Schnürfurchen nicht in der Mitte zusammentreffen, sondern an einander vorbeigehen nach der entgegengesetzten Seite (S-Form, Fig. 22), so zieht sich in diesem Falle das Verbindungsband von der einen Seite des einen Kerns zur gegenüber liegenden des anderen\*\*\*).

Schliesslich bleibt noch eine Art der Amitose zu erwähnen, die damit beginnt, dass der Kern in seiner Mitte von zwei gegenüber liegenden Stellen aus eine Eindellung erfährt. Darnach zieht sich die chromatische Substanz von der Kernmitte zurück und an ihrer Stelle sieht man eine lichte, von den beiden gegenüber liegenden Theilen der einander näher gerückten Kernwand gebildete Membran. Diese reisst ein und dann haben wir den durchlöcherten Kern (Fig. 27). Die Zweitheilung ist angebahnt und vollzieht sich gänzlich dadurch, dass die noch chromatinreichen Verbindungsstücke des zur Zweitheilung neigenden Kerns in der oben beschriebenen Weise (Zurückweichen des Chromatins, liches Verbindungsband, fadenförmige Verbindung) sich durchschnüren und so die Zweitheilung vollständig machen.

Dass die hier beschriebenen Kerntheilungsvorgänge regelmässig von einer Theilung der Zelle gefolgt sind, möchte ich eben so wenig behaupten, als man sicher sagen kann, Kernmitosen führen immer zur späteren Zelltheilung. Jedenfalls folgt die Theilung der Zelle auf die amitotische Kerntheilung häufiger als man vielfach bisher anzunehmen geneigt war.

Der Vorgang bei der Kerndurchschnürung ist bereits von Arnold beschrieben und mit der Bezeichnung Fragmentirung belegt worden<sup>7</sup>. Die Theilungsbilder, die er an Leukocyten, Wanderzellen und Riesenzellen gesehen hat, zeigen dem äusse-

\* ) Vergl. J. Arnold, dieses Archiv Bd. 97. Taf. IV. Fig. 15.

\*\*) Ebenda Fig. 14.

\*\*\*) Ebenda Fig. 16.

ren Aussehen nach eine grosse Aehnlichkeit mit den meinen. Vergleichsweise sind solche schon oben citirt worden. Das, was Arnold mit Rücksicht auf den Vorgang im Kerninnern — Umlagerung und Vermehrung der chromatischen Substanz — indirecte Fragmentirung nennt, entspricht der von mir gegebenen Beschreibung nicht.

Nach der Kerntheilung folgt die Theilung der ganzen Zelle und zwar in derselben Ebene, in der sich die Durchschnürung des Kerns vollzogen hat (Fig. 14—17). Der Beginn der Zelleinschnürung fällt häufig in einen Zeitpunkt, wo die beiden Kerne noch durch das lichte Band verbunden sind (Fig. 14, 15, 17). Während sich die Zelltheilung vollzieht, können in den beiden getrennten Kernen bereits weitere progressive Metamorphosen vor sich gehen (Fig. 15, 16, 17, 22, 26). Die neue Theilungsebene der Kerne steht dabei immer senkrecht auf der früheren.

Auch Mitosen hatte ich an Leukocyten des Blutes zu beobachten Gelegenheit (Fig. 28—31). Sie lagen in den gleichen Präparaten neben den Amitosen. Die Mitosen, die ich gesehen, stammen alle von einem einzigen Fall (12. Versuch) und lagen in der V. cruralis. Allerdings waren sie hier nicht gerade selten; in einem Präparat konnte ich 10 Leukocyten in Mitose zählen. Hier sei noch erwähnt, dass im circulirenden Blut normaler Kaninchen Mitosen von Spronck<sup>8</sup> schon vor mir gesehen wurden.

Wie oben bereits bemerkt, betrifft die Vermehrung der weissen Blutkörperchen besonders das venöse Blut. In mehreren Versuchen habe ich darauf besonderes Augenmerk gerichtet und gefunden, dass zu einer Zeit, wo im arteriellen Blut keine oder nur schwache Vermehrung der Leukocyten sich nachweisen lässt, die Leukocytose im venösen Gebiet bereits einen hohen Grad erreicht hat und dass die Proliferation der Leukocyten und dem entsprechend auch ihre Anzahl um so beträchtlicher erscheint, je weiter peripherisch das Venenblut untersucht wird (6., 12., 19., 21. Versuch). Es ist denkbar, dass in den venösen Capillaren und in den kleinen Venen, wo in Folge der schnelleren Erweiterung des Strombettes das Blut langsamer fliesst, die Leukocyten an den Gefässwänden anliegen und dort in Folge der ruhigeren Lage, ähnlich wie in den kleinen Venen des

Knochenmarks, der Theilungsprozess sich ungestörter vollziehen kann. Damit stimmte die Thatsache überein, dass im Kaninchenohr, wo der Blutstrom gewiss ein sehr langsamer zu sein pflegt, die Neigung zur Proliferation am ausgesprochensten ist.

Das Ergebniss vorstehender Untersuchungen möchte ich in folgende Sätze zusammenfassen:

Nach Einführung von proteinhaltigen Flüssigkeiten, die aus Bakterien-, Pflanzen- und Thierzellen dargestellt sind, entsteht im Thierkörper innerhalb weniger Stunden eine Leukocytose. Die Vermehrung der weissen Blutkörperchen vollzieht sich dadurch, dass sich dieselben im venösen Blut, besonders in den peripherisch gelegenen kleinen Venen, fast ausschliesslich nach dem Typus der Amitose theilen. Wir besitzen also Substanzen, die im Stande sind, durch einen chemischen, auf den Zellkern ausgeübten Reiz eine normal verlaufende Zelltheilung einzuleiten.

Anhangsweise sei hier erwähnt, dass ich auch nach vorhergegangener Blutentziehung im venösen Blut Theilungsvorgänge an Leukocyten vereinzelt beobachten konnte (Fig. 13, 19).

### 3. Altersformen der Leukocyten.

Das Schicksal der künstlich vermehrten Leukocyten lässt sich verfolgen. Am bequemsten war dies möglich in den beiden Fällen, wo die Leukocytose durch die in Intervallen wiederholten Proteininjectionen einen so hohen Grad erreicht hatte (1:38, 1:59). Im Höhestadium, 8 Stunden nach der letzten Injection, wo die Zahl der Theilungsvorgänge im Blut eine sehr grosse war, fanden sich in den gefärbten Dauerpräparaten fast nur Leukocyten mit einem runden oder polymorphen Kern und solche mit zwei Kernen (Fig. 1—6, 10, 11, 12, 14, 17, 18, 20—27). Die letzteren sind wohl hier meist im Sinne der progressiven Metamorphose zu deuten. Weisse Blutzellen mit drei und mehr Kernen waren verhältnismässig selten. Ein ganz anderes Bild bot sich im fixirten, gefärbten Präparat 24 bezw. 48 Stunden nach der letzten Einspritzung. Die Mehrzahl der Leukozyten hatte drei und noch mehr Kerne, die durch feine Fäden zu-

sammenhingen (Fig. 32—41). Eine Abnahme der weissen Blutkörperchen an Zahl war hier noch nicht zu bemerken.

Die Neigung zum Zerfall hatte aber in der That bereits begonnen. Denn in der Toison'schen Verdünnungsflüssigkeit liess sich nicht mehr die grosse Zahl der Leukocyten feststellen, wie 8 Stunden nach der letzten Injection. Statt der grossen Haufen von 15 bezw. 20 Leukocyten, sah man nach 24 bezw. 48 Stunden nur noch gekörnte Klumpen, die von zerfallenen Leukocyten herührten; das Protoplasma derselben war in einander geschwommen, die Kerne waren noch erhalten und gaben den Klumpen das körnige Aussehen. Einzelne nicht zerfallene Leukocyten lagen darin eingebettet.

Diese regressive Metamorphose vollzieht sich ebenfalls durch Kernfragmentirung. Der äussere Vorgang ist ganz ähnlich, wie er bei der Zweittheilung der Kerne bereits beschrieben ist. Bei der Vergleichung der Bilder von Fig. 19 u. 23 (obere Hälften) und Fig. 6 mit denen von Fig. 32—41 wird dies ohne Weiteres klar. Zuerst ist der Kern ein gewundener, polymorpher, später zieht sich die chromatische Substanz nach drei und mehr Punkten hin zusammen. Die dadurch entstandenen, die einzelnen dunkler gefärbten Kerne verbindenden, hellen Brücken werden immer schmäler und zuletzt fadenförmig; wir haben die mehrkernige Zelle. Die Kerne deshalb polymorph zu nennen, weil sie noch durch Fäden verbunden sind, wie es von manchen Autoren geschieht, halte ich nicht für angezeigt.

Die jetzt vielfach verbreitete Ansicht, dass mehrkernige Leukocyten Altersformen sind, bestätigt sich hier durch das Thierexperiment. Ich halte es aber keineswegs für berechtigt, daraus den Schluss zu ziehen, dass überhaupt alle mehrkernigen Zellen nicht mehr zur Proliferation fähig sind.

#### 4. Verhalten der Leukocyten im Blut bei Eiterung durch todte Bakterien.

Durch die Forschungen zahlreicher Autoren (Pasteur, Leber, Grawitz, de Bary, Scheuerlen, de Christmas, Wyssokowitsch, Steinhaus, Buchner mit Wauer und Knüppel, Ledderhose, R. Koch) ist die eitererregende Wir-

kung abgetödteter Bakterieniculturen nachgewiesen; nun gilt aber seit Cohnheim die Auswanderung weisser Blutkörperchen als eine Theilerscheinung der Entzündung und Eiterung und es ist daher von Interesse, etwas über das Verhalten der Leukocyten im Blute während einer experimentellen, aseptischen Eiterung durch abgetödtete Bakterien zu erfahren. Es finden sich darüber bis jetzt keine Angaben und ich nahm mir vor, diese Lücke auszufüllen.

Auch hier wurde nur am Kaninchen experimentirt. Um einen deutlichen Effect zu sehen, griff ich gleich zu hohen Dosen. Trotzdem 0,5 bis 2 g Bakterien auf einmal zur Verwendung kamen, gingen die Thiere verhältnissmässig selten und nur, wenn sie jung oder schwächlich waren, zu Grunde. Die Bakterien wurden von gut entwickelter Kartoffelcultur abgeschabt, mit destillirtem Wasser im Verhältniss von 1:10 zu einer feinen Emulsion verrieben, durch mehrstündigem Kochen der Emulsion abgetödtet und dann unter antiseptischen und aseptischen Vorsichtsmaassregeln dem Thiere unter die Haut eingeführt. Die Untersuchung des Blutes geschah kurz vor und in verschiedenen Zwischenräumen nach der Injection (Zeiss-Thoma'scher Zählapparat, Toison'sche Verdünnungsflüssigkeit, s. oben).

9.—13. Versuch. Schon wenige Stunden nach der Injection ist eine beträchtliche Verminderung der weissen Blutkörperchen zu constatiren. Dieselbe nimmt noch einige Zeit zu und im Höhestadium ist von der ursprünglichen Leukocytenzahl in der Toison'schen Verdünnungsflüssigkeit nur ein auffallend geringer Bruchtheil — manchmal bis zu  $\frac{1}{10}$  und noch weniger — nachzuweisen, so dass das Verhältniss der weissen zu den rothen Blutkörperchen ein ganz abnormes geworden ist. Die Verminderung betrifft sowohl arterielles, wie venöses Blut. An den Injectionsstellen konnte ich um die todten Bakterienmassen herum Ansammlung von Eiterkörperchen, Bindegewebswucherung und Oedem\*) der Subcutis beobachten.

Diese Befunde scheinen eine neue Stütze für Cohnheim's Lehre von der Auswanderung der Leukocyten zu bilden, können aber thatsächlich nicht dafür angesehen werden. Denn filtrirt

\*) Vergl. damit den 8. Abschnitt „Bakterienextracte — Lymphagoga“.

man mit der Chamberlandkerze von der sterilisirten Bakterienemulsion die wässrige Flüssigkeit ab, so hat dieselbe, trotzdem sie frei von Bakterien ist, sowohl nach intravenöser, als auch nach subcutaner Einführung eine beträchtliche Abnahme der Leukocyten im Blut zur Folge (17.—21. Versuch). Es kommt aber weder bei directer Injection dieser bakterienfreien Flüssigkeit in's Blut, noch auch wegen der raschen Resorption nach subcutaner Einspritzung derselben zu einer Eiterung und es darf also nicht eine Auswanderung der Leukocyten als die Ursache ihrer Abnahme ausgegeben werden. So bleibt es vor der Hand unentschieden, wie weit bei dieser Verminderung die Chemotaxis durch todte Bakterien betheiligt ist, wie weit andererseits die klare, bakterienfreie, aber bakterielle Stoffe enthaltende Flüssigkeit, die offenbar den Zerfall der Leukocyten beschleunigt und damit Ursache ihrer Abnahme wird.

14.—16. Versuch. Auch nach subcutaner Injection grösserer Mengen von lebenden Culturen des *Bac. pyocyanus* (wohl auch anderer Bakterienarten) tritt die Verminderung der weissen Blutzellen in der oben beschriebenen Weise ein. Von der Eiterung durch todte Bakterien unterscheidet sich aber hier der weitere Verlauf dadurch, dass der spätestens nach 24 Stunden eintretende Tod des Thieres die Untersuchung abbricht, während das Thier mit der aseptischen Eiterung meist den Eingriff übersteht und in Folge dessen noch weitere interessante Erscheinungen zur Beobachtung kommen.

Werden nehmlich die Blutkörperchen etwa 48 Stunden nach der Injection der todten Bakterien gezählt, so zeigt sich nicht, wie vorher eine Verminderung der weissen, sondern das ursprüngliche Verhältniss im Blute hat sich wieder eingestellt. Die Leukocyten liegen in Gruppen zu zweien und mehr zusammen, im fixirten, gefärbten Präparat sind Theilungsvorgänge zu beobachten (Fig. 8, 9, 15, 16, 28—31).

Diese Erscheinung ist wohl einfach dahin auszulegen, dass formativ reizende Stoffe in den todten Bakterien enthalten sind, die nach ihrer Einführung in den Körper der Bakterienzelle entzogen werden, mit den Gewebssäften in das Blut gelangen und in der für Alkaliproteine beschriebenen Weise die Leukocyten zur Theilung anregen (s. 2. Abschnitt).

Die Injectionen abgetödteter Bakterienculturen gehören also zu den einfachsten Mitteln, um Theilungsvorgänge von Leukozyten im Blute zu erzeugen.

### 5. Darstellung und chemische Reactionen von Bakterienextracten.

Die im Vorstehenden abgehandelte experimentelle Eiterung war für mich der Ausgangspunkt einer Reihe von weiteren Untersuchungen.

Bei den Controlversuchen mit der von den Bakterien abfiltrirten, wässrigen Flüssigkeit zeigte sich nehmlich, dass nach der Injection derselben auf die anfängliche Verminderung der weissen Blutkörperchen eine Leukocytose folgte und diese um so beträchtlicher war, je länger ich die 10procentige, wässrige Bakterienemulsion vor dem Filtriren durch die Chamberlandkerze kochte oder stehen liess. Da diese Leukocytose durch eine den Alkaliproteinen analoge Wirkung bedingt sein musste, hatte ich Veranlassung zu vermuthen, dass durch das Kochen und Stehenlassen die lösliche plasmatische Leibessubstanz der Bakterienzelle in das Wasser übergeführt wird.

Thatsächlich giebt die von der Emulsion abfiltrirte Flüssigkeit verschiedene ausgesprochene Eiweissreactionen und so wird auch hierdurch die innere Identität dieser Flüssigkeit mit den Alkaliproteinen anschaulich gemacht.

Es lässt sich nachweisen, dass der Trocken- und Eiweissgehalt des Filtrats sowohl nach vorhergegangenem Kochen der Emulsion, als auch durch längeres Stehenlassen derselben zunimmt<sup>9</sup>, dass also der Inhalt der Bakterienzelle, soweit er in Wasser löslich ist, durch diese beiden Proceduren extrahirt wird. Das gehaltreichste Extract erhält man, wenn Kochen und Stehenlassen combinirt werden.

Die Darstellung ist im Princip analog der Gewinnung des Tuberculins und unterscheidet sich nur dadurch von derselben, dass Koch eine 4—5 pCt. Glycerin enthaltende flüssige Nährlösung (Kalbfleischinfus oder Fleischextractlösung), in der die Tuberkelbacillen 6—8 Wochen bei Brüttemperatur gewachsen waren, auf  $\frac{1}{10}$  des Volums eindampfte und dadurch die Cultur extrahirte<sup>10</sup>, während ich zur Extraction der auf festem Nähr-

boden gewachsenen Bakterien nur destillirtes Wasser nahm und die Emulsion nicht eigens vor dem Filtriren eindampfte. Ein Glycerinzusatz ist zum Extrahiren nicht nöthig und nur behufs besserer Conservirung von Belang.

Die von mir dargestellten Bakterienextracte sind proteinhaltig. Die Eiweissreactionen, die ich bei denselben gefunden, stimmen zum Theil mit den von R. Koch, Hüppe und Scholl und von M. Hahn für Tuberculin angegebenen überein. Präcises über die Natur der in der Flüssigkeit enthaltenen Eiweisskörper auf Grund der im Folgenden mitgetheilten Reactionen auszusagen, ist nicht möglich; das erfordert eingehendes, chemisches Studium. Immerhin können dieselben als vorläufige Anhaltspunkte dienlich sein.

Die Lösung der Bakterienextracte (*Bac. pyocyaneus*) reagirt neutral und giebt folgende Eiweissreactionen:

1. Millon: weisslicher Niederschlag, der sich beim Kochen roth färbt.

2. Biuret: Violettfärbung der Flüssigkeit.

3. Essigsäure in der Kälte zugesetzt starke Trübung, die sich beim Kochen aufhellt, eine schwache Trübung bleibt zuweilen zurück; Ferrocyanalium verstärkt die Trübung nicht, die durch Essigsäure in der Kälte hervorgerufen wurde; Essigsäure im Ueberschuss macht die Trübung nicht verschwinden.

4. Kochen der neutralen Flüssigkeit keine Fällung; Essigsäurezusatz bewirkt schwache Trübung, nicht so stark, wie in der Kälte.

5. Conc. Salpetersäure tropfenweise zugesetzt macht Trübung, die sich löst

a) beim Kochen,

b) im Ueberschuss der Säure,

c) bei Zusatz von Kalilauge im Ueberschuss unter Orangefärbung (Xanthoproteinreaction).

6. Trichloressigsäure giebt einen Niederschlag, der beim Kochen bestehen bleibt.

7. Zusatz von Alcohol absolutus zeigt am nächsten Tag einen leichten Bodensatz und schwache Trübung der Flüssigkeit.

Es ist natürlich klar, dass in den Extracten ausser den Proteinen auch andere Stoffe enthalten sein können, über deren Natur und Wirkung wir noch nichts wissen.

Wenn ich aber die in der Folge<sup>1)</sup> mitgetheilten Reizwirkungen, die sämmtlich als Theil- oder Begleiterscheinungen bei entzündlichen Prozessen vorkommen, mit den von Buchner bei den Alkaliproteinen gemachten Erfahrungen vergleiche, so bin ich geneigt anzunehmen, dass diese Erscheinungen hauptsächlich sich auf den Gehalt der Bakterienextracte an Proteinen zurückführen lassen. Die Zukunft wird diese hohe Wahrscheinlichkeit wohl zur Gewissheit machen, sobald die Proteine chemisch rein isolirt zur Prüfung gezogen werden.

### 6. Chemotaxis durch Bakterienextracte.

Die pyogene Eigenschaft abgetödteter Bakterienculturen beruht, wie Buchner darthun konnte, auf chemischen von dem Zellleib der Bakterien stammenden Stoffen. Derartige Substanzen stellte er nach Nencki in der Form von Alkaliproteinen dar und fand die chemotactische Eigenschaft der todten Bakterienzelle in diesen isolirten Eiweissstoffen wieder.

Da auch in den Bakterienextracten vorzüglich die löslichen eiweissartigen Bestandtheile der Bakterienleibessubstanz enthalten sind, liess sich von diesen die gleiche Wirkung erwarten.

Ich bediente mich bei den hierauf gerichteten Untersuchungen des von Buchner und anderen eingeschlagenen Verfahrens. Spindelförmige Glasrörchen werden mit dem sterilirten Extract gefüllt, an beiden Enden zugeschmolzen und dann durch längeres Kochen mit ihrem Inhalt sterilisirt. Darauf führt man sie unter antiseptischen und aseptischen Vorsichtsmaassregeln unter die Rückenhaut eines Kaninchens ein, schiebt sie subcutan nach einem 20—30 cm von der Einführungsstelle entfernten Ort vor und bricht sie dort unter der Haut an den Enden ab. Nach ein bis drei Tagen ist an den abgebrochenen Enden ein deutlicher aus Eiterkörperchen bestehender Ppropf zu sehen. Das Bakterienextract kam in dieser Weise in 2- und 0,2 procentiger Lösung mit ausgesprochenem, positivem Resultat zur Prüfung. Der gebildete Eiterppropf wurde mittelst Controlaussaaten auf Agar betreffs der etwa darin enthaltenen Bakterien untersucht

<sup>1)</sup> 6.—9. Abschnitt.

und erst dann, wenn keine Colonien gewachsen waren, das Ergebniss als ein positives verzeichnet.

Für das proteinhaltige Extract des Tuberkelbacillus, das Tuberculin, ist die chemotactische Eigenschaft ebenfalls bereits nachgewiesen (Hüppe und Scholl, Bardach, Tschistowitsch).

### 7. Leukocytose durch Bakterienextracte.

Ausser der Chemotaxis bewirken die Alkaliproteine, wenn sie in's Blut gelangen, wie ich fand, eine Leukocytose. Ein Gleichtes liess sich für die proteinhaltigen Bakterienextracte nachweisen.

17.—21. Versuch. Die Injection der Extracte hat zuerst eine hochgradige Verminderung der Leukocyten zur Folge, die sich bei intravenöser Injection früher (nach 8—10 Stunden), bei subcutaner später (nach etwa 24 Stunden) in das Gegentheil umkehrt. Die Vermehrung der Leukocyten kommt ebenso, wie nach der Injection der Alkaliproteine dadurch zu Stande, dass die Extracte einen formativen Reiz auf die Zelle ausüben und in Folge dessen eine reiche Proliferation der weissen Blutkörperchen im Blute stattfindet. In den fixirten, gefärbten Blutpräparaten, findet man während der Leukocytose zahlreiche Theilungsvorgänge von weissen Blutkörperchen.

Auch bei diesen Untersuchungen zeigten sich wieder auffallende Differenzen betreffs der Leukocytenzahl zwischen dem arteriellen und venösen Blut.

21. Versuch. Zu einer Zeit, wo im arteriellen Gebiet die Zahl der Leukocyten noch geringer ist, als vor der Injection, lässt sich im Venenblut bereits eine Leukocytose nachweisen und dieselbe ist um so beträchtlicher, je weiter peripherisch das venöse Blut untersucht wird\*). Die stärkste Leukocytose ist auch hier in der Ohrvene vorhanden, wo das Blut besonders langsam strömt.

Die beträchtliche Abnahme der Leukocyten vor der Vermehrung ist ein gewiss sehr bemerkenswerther Befund, der noch weiterer Aufklärung bedarf. Ich vermuthe, dass in den Bakterienextracten Stoffe sind, die den Zerfall der weissen Blutkörperchen anregen und dadurch ihre Verminderung bewirken. Jedenfalls würde dann noch zu entscheiden sein, ob dieser Vor-

\*) Vergl. damit die Bemerkungen im 2. Abschnitt.

gang durch die im Vergleich zu den Alkaliproteinen noch wenig veränderten Bakterienproteine der Extracte veranlasst wird, an die sich dann später die Leukocyten gewöhnt hätten, oder ob andere, vielleicht noch unbekannte Substanzen daran schuld sind.

N. Tschistowitsch<sup>11</sup> hat dem gesunden Thier (Kaninchen) Tuberculin injicirt und danach Leukocytose beobachtet. Die Dosis, die er nahm, war eine verhältnissmässig geringe, die Vermehrung der Leukocyten daher nicht so beträchtlich, wie ich sie zu beobachten gewohnt war.

Meine Extracte unterscheiden sich von den Alkaliproteinen in ihrer Wirkung auf das Blut darin, dass diese unmittelbar eine progressive Metamorphose der Leukocyten auslösen, die bei intravenöser Injection nach 8 Stunden ihren Höhepunkt erreicht hat, während die Einspritzung der Extracte anfangs eine beträchtliche Verminderung zur Folge hat, die sich darauf erst in eine Leukocytose umkehrt.

Während der Leukocytose durch Extracte finden sich trotz zahlreicher Theilungsvorgänge auch reichlich mehrkernige Leukocyten im Blut. Zur Verfolgung des Entstehens von mehrkernigen, weissen Blutkörperchen aus solchen mit polymorphem Kern, sind die proteinhaltigen Bakterienextracte nicht brauchbar. Hierzu eignen sich bis jetzt nur die mehrmals wiederholten Injectionen der Alkaliproteine, durch die allein, wie es scheint, so ganz ausserordentliche Zahlen wie 1:38, 1:59 zu erreichen sind.

Die Leukocytose bei fieberhaften, entzündlich - exsudativen Prozessen wird durch die Gewinnung und Wirksamkeit der Bakterienextracte dem Verständniss noch einen Schritt näher geführt (vgl. den 1. Abschnitt).

Wie bei der Darstellung der Bakterienextracte während des Aufenthaltes der Bakterien in Wasser die löslichen, formativ reizenden Stoffe aus der todten Zelle durch Maceration ausgelaugt werden, so muss wohl auch innerhalb des Thierkörpers unter dem Einfluss der Körpersäfte an den abgestorbenen Bakterienzellen in ähnlicher Weise eine Extraction solcher Substanzen stattfinden. Aber es kommt hier noch ein anderes Moment in Betracht, das zuerst von Buchner betont wurde. Nicht nur die todten Bakterien geben ihren Inhalt an umspülende Flüssigkeiten

ab, sondern auch die lebenden, sobald sie sich unter ungünstigen Lebensbedingungen befinden. Die Ausscheidung von Proteinen ist nach Buchner eine Alterserscheinung der Bakterien, welche einem krankhaften Zustande der Zelle, dem Involutionsprozess, dem allmählichen Absterben entspricht. Wenn also ein Mikroorganismus durch die Körpersäfte des betreffenden Thierorganismus geschädigt wird, so muss es zur Ausscheidung der chemotactisch wirkenden und formativ reizenden Substanzen kommen.

Dass die Fähigkeit des formativen Reizes nicht nur bakteriellen Stoffen zukommt, sondern auch den Producten thierischer Zellen, ist auf Grund der Wirkung der Muskelalbuminate bereits ausgesprochen. Horbaczewski bestätigt und erweitert diese Ansicht, indem er durch reines Nuclein eine Leukocytose hervorrufen konnte<sup>12</sup>. Da aber bei Entzündung und Eiterung zahlreiche Körperzellen absterben und zerfallen, so sind gewiss die von diesen Zellen stammenden ersten Zerfallsproducte neben den bakteriellen Substanzen als wichtige Quelle des formativen Reizes anzusehen. Aehnlich wie ich (vergl. 1. Abschnitt) erklärt Horbaczewski das Entstehen der entzündlichen Leukocytose dahin, dass bei der exsudativen Entzündung das Gewebe zerfällt und schliesslich schwindet, dass bei diesem Zerfall auch das Nuclein frei werden muss und nach der Resorption seine Wirkung entfalten kann, die sich in Form einer Leukocytose kund giebt.

### 8. Bakterienextracte — Lymphagoga.

Die hierauf bezüglichen Untersuchungen habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Professor Gaertner in Wien ausgeführt; eingehender Bericht über die dabei gewonnenen Resultate ist in unsern gemeinsamen Publicationen<sup>13</sup> zu finden. Ich wiederhole hier die wichtigsten Daten, weil die Versuche mit den von mir dargestellten Stoffen ausgeführt wurden und ihrem Wesen nach in den Gedankengang dieser Arbeit hereingehören.

Durch die Forschungen Heidenhain's<sup>14</sup> sind unsere Ansichten über die Lymphbildung wesentlich verändert und erweitert worden. Er fand verschiedene Arten von Substanzen, die in's Blut gebracht im Stande sind, den Lymphstrom erheblich

zu beschleunigen. Heidenhain theilt die Substanzen, die diese Wirkung ausüben in zwei Gruppen. Die eine Gruppe, die uns hier speciell interessirt, hat nach Heidenhain's Ansicht direc-ten Einfluss auf die Capillarendothelien und löst an diesen einen Reiz aus, der in erhöhter „Secretion“ von Lymphe aus dem Blut zum Ausdruck kommt. Am interessantesten in dieser Gruppe ist das Krebsmuskelextract. Heidenhain glaubt, dass in der lymphtreibenden Wirkung dieser Substanz die Aetioologie der Urticaria enthalten ist.

Dazu gehören auch die Bakterienextracte. Fast unmittelbar nach der Einspritzung in's Blut (*V. cruralis*), steigert sich die in der Zeiteinheit aus dem Ductus thoracicus ausströmende Lymphmenge ganz erheblich — in einem Falle z. B. auf das Neunfache. Die Wirkung der Extracte liess sich noch nach  $6\frac{1}{2}$  Stunden nachweisen. Es kamen das Extract des *Bac. pyocyaneus*, *Pneumobacillus* (Friedländer) und *Tuberkelbacillus* (Tuberculin), sämmtlich mit positivem Resultat zur Verwendung.

Die Gerinnbarkeit der Lymphe und ihr Gehalt an Trocken-substanz nimmt nach der Injection zu. Nach meiner Ansicht liegt in diesen Resultaten die Erklärung für das Zustandekommen der entzündlichen Exsudate, soweit dieselben aus seröser Flüssigkeit bestehen, die durch die Capillaren aus dem Blut abgeschieden wird. Allerdings kommt dabei noch in Betracht, dass in Folge mykotischer Einwirkung auch die Resorption des Exsu-dats eine verlangsamte sein mag.

Die Erinnerung der Thatsache, dass die Bakterienzelle die-selben Farbstoffe verdichtet, wie der Kern der thierischen Zelle, gab mir Anlass zu vermuthen, dass ebenso wie die aus dem Bakterienzellleib stammenden Extracte auch das Nuclein, der Hauptbestandtheil des Zellkerns, einen Einfluss auf die Lymph-absonderung haben dürfte. Es kam in gelöstem Zustande (0,5 g) mit positivem Resultat (Vermehrung der Lymphmenge auf das Fünffache) zur Prüfung. Im Einklang damit steht die von Horbaczewski durch Nuclein erzeugte intensive Leukocytose (s. 7. Abschnitt).

#### 9. Fieber durch Bakterienextracte.

Buchner beobachtete am Menschen nach der Injection von

Alkaliprotein (3,5 mg Trockensubstanz) neben einer hochgradigen, aseptischen, erysipelartigen Entzündung eine leichte Temperatursteigerung ( $37,8^{\circ}$ ). Bei einer Ziege von 30 kg stieg nach der Injection von 2 ccm 6 prozentigen Alkaliproteins des Bac. pyocyaneus die Temperatur von  $39,2^{\circ}$  auf  $40,1^{\circ}$ . Ferner bewirkt das Tuberculin, wie Koch selbst beobachtete, am gesunden Menschen eine fieberhafte Temperatur.

22.—26. Versuch. Die von mir dargestellten Extracte des Bac. pyocyaneus haben nach subcutaner Injection am Hunde eine Steigerung der Körperwärme um  $1,2^{\circ}$  bzw.  $1,3^{\circ}$  hervorgerufen, bei Meerschweinchen stieg dieselbe bis zu  $2,4^{\circ}$  höher. Das Fieber war schon nach 3—5 Stunden in dieser Höhe zu beobachten und nach 24 Stunden wieder verschwunden.

#### 10. Tuberculinreaction durch Bakterienextracte.

Da sowohl in der Darstellung als auch in der Wirkung die Analogie der Bakterienextracte mit dem Tuberculin für alle Fälle nachgewiesen war, blieb es noch übrig, zu untersuchen, ob nicht der durch den Tuberkelbacillus im tuberculösen Gewebe und den Zellen der Umgebung gesetzte Reizzungszustand, ebenso wie durch das Tuberculin auch durch andere Bakterienextracte gesteigert werden könne, mit andern Worten, ob nicht eine chronische tuberculöse Entzündung sich durch Proteine nicht spezifischer Bakterien in eine acute entzündliche Reizung überführen lasse.

Da Koch einen Weg angab<sup>10</sup>, die Tuberculinwirkung am tuberculösen Thier in allen Fällen zu erkennen, war die Entscheidung einfach und sicher. Koch spritzt so viel Tuberculin ein (0,5 g), dass das Thier (Meerschweinchen) getötet wird; es stirbt, wenn es vor mindestens 4 Wochen geimpft war, innerhalb 6—30 Stunden nach der Injection und zeigt einen ganz charakteristischen Sectionsbefund. Die Erscheinungen am tuberculösen Meerschweinchen nach Injection von Extract des Bac. pyocyaneus und Pneumobacillus (Friedländer) in einer 0,5 g Tuberculin entsprechenden Dosis stimmen alle auffallend mit den von Koch gegebenen Beschreibungen überein<sup>15</sup>.

Die Thiere gehen 6—30 Stunden nach der Einspritzung zu Grunde. Die tuberculösen Geschwüre an der Impfstelle haben

infiltrirte, lebhaft geröthete Ränder. An den in der Nähe liegenden Lymphdrüsen, besonders den inguinalen, ist die Kapsel durch Injection geröthet und an den Organen (Leber, Milz, Lunge) sieht man ebenfalls besonders in der Peripherie tuberculöser Heerde intensive Röthung, die theils durch starke Gefässfüllung, theils durch nicht selten beobachtete Blautaustritte bedingt ist. In der Leber fiel ausserdem eine starke Leukocyteninfiltration auf. Die Gedärme sind durch Gefässinjection mehr oder weniger geröthet.

Im Gegensatz zu der Temperatursteigerung bei gesunden Thieren ist an den tuberculösen nach der Injection ein enormer Temperaturabfall (bis zum Tode etwa um 10°) zu constatiren.

Die schon früher an anderer Stelle mitgetheilte „Tuberculinreaction durch Bakterienextracte“ erfuhr bereits nach Abschluss dieser Arbeit durch Buchner, der meine Angaben nachprüfte, eine Bestätigung<sup>16</sup>.

Buchner hat gleichzeitig mit mir an einer verbesserten, natürlicheren Gewinnung der Proteine gearbeitet und als besonders wirksames Mittel für die Extraction des Bakterieninhaltes mit Wasser das vorhergehende scharfe Trocknen der feuchten Bakterienmasse kennen gelernt. Er fällte aus solchen wässrigen Extracten die Proteine mit Alkohol aus und fand damit dieselben Wirkungen wie ich mit meinen Bakterienextracten, nehmlich Chemotaxis, Fieber und bei tuberculösen Thieren Tuberculinreaction. Am gesunden Menschen konnte er ebenso, wie seinerzeit mit todten Bakterien und den Alkaliproteinen nach subcutaner Injection eine aseptische, intensive, erysipelartige Entzündung erzeugen.

Die Tuberculinreaction rief er mit Pyocyanus-, Pneumobacillus- und Prodigiosusextract und -protein hervor. Ein Unterschied zwischen der Tuberculinreaction mit Koch's Tuberculin und diesen Proteinen war nicht zu erkennen. Ebenso wie ich sah Buchner Temperaturabfall an den tuberculösen Thieren nach der Injection. Bei Buchner gingen die gesunden Meerschweinchen an den Extracten ebenfalls zu Grunde, ohne die für Tuberculinreaction charakterischen Veränderungen zu zeigen; nach der Injection der von mir durch Kochen und Stehenlassen

der Bakterienemulsion gewonnenen Extracte blieben gesunde Meerschweinchen am Leben. Es scheint also doch noch ein Unterschied zwischen den beiden Extracten zu bestehen.

Ich habe die angenehme Pflicht, allen Herren, die mir die Durchführung dieser Arbeit ermöglichen, meinen Dank abzustatten.

Die Untersuchungen wurden im bakteriologischen Laboratorium des Operationscourses für Militärärzte und in dem histologischen Institut zu München, ferner in dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie zu Wien ausgeführt.

Den Vorständen dieser Laboratorien, Herrn Stabsarzt Dr. H. Buchner, Herrn Professor von Kupffer und Herrn Professor Stricker und den Assistenten Herren DDr. A. A. Böhm und A. Oppel sage ich für die freundliche Aufnahme und vielfache Unterstützung aufrichtigen Dank. —

### Versuchstabelle.

#### 1. Versuch<sup>1)</sup>.

Einem grossen Kaninchen werden 2 ccm sterilisiertes Alkaliprotein des Pneumobacillus (Friedländer) durch eine Ohrvene in das Blut injiziert.

	Zeit.	Verhältn. der weissen zu den roten Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	9 Uhr	1 : 583 <sup>2)</sup>	Injection des Proteins.
	11 -	1 : 500	
	3 -	1 : 466	
	5 - 30 Min.	1 : 291 (2) <sup>3)</sup>	
	9 - 30 - Abends	1 : 291	
2. Tag.	9 - Morgens	1 : 412	
3. -	9 - -	1 : 538	

<sup>1)</sup> Bei allen Versuchen wurde unter antiseptischen Vorsichtsmaassregeln und mit sterilen Flüssigkeiten (ausser im 14.—16. Versuch) gearbeitet.

<sup>2)</sup> Das Blut stammt in allen Fällen, wo nichts Besonderes bemerkt ist, aus einer Ohrvene.

<sup>3)</sup> Die in Klammer stehende Zahl, hier „(2)“, bedeutet, dass in diesem Blut die Leukocyten zum Theil in Gruppen und Haufen zusammenliegen; hier liegen die Leukocyten also zum Theil paarweise zusammen. Das Zusammenliegen ist wahrscheinlich immer ein Zeichen der progressiven Metamorphose (siehe darüber den 2. Abschnitt).

## 2. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 6 ccm in verdünnter Sodalösung aufgelöstes, sterilisiertes Glutencasein durch eine Ohrvene in das Blut injicirt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.	Injection des Glutencaseins.	
			1. Tag.	2. Tag.
9 Uhr	1 : 734			
11 - 15 Min.	1 : 353			
2 - 30 -	1 : 159 (2—3)			
4 - 40 -	1 : 415			
2. Tag. 9 -	1 : 864.			

## 3. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 10 ccm 6 procentiges, sterilisiertes Alkaliprotein aus Kalbsmuskel durch eine Ohrvene in das Blut injicirt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.	Injection des Muskelproteins.	
			1. Tag.	2. Tag.
8 Uhr 20 Min.	1 : 487			
1 - 20 -	1 : 293			
2 - 50 -	1 : 286			
4 - 20 -	1 : 153 (2—10)			
6 - 40 -	1 : 247			
2. Tag. 2 -	1 : 369.			

## 4. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 5 ccm sterilisiertes Alkaliprotein des *Bac. pyocyaneus* verdünnt mit 15 ccm steriles, destillirtem Wasser an 4 verschiedenen Stellen (je 5 ccm) subcutan injicirt und unter der Haut durch Kneten verstrichen.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.	Injection des Proteins.	
			1. Tag.	2. -
11 Uhr	1 : 365			
6 - 30 Min.	1 : 315			
2. - 9 - 30 -	1 : 292			
3. - 10 -	1 : 178 (2—4)			
4. - 10 -	1 : 124 (2)			
5. - 10 -	1 : 350.			

## 5. Versuch.

Einem grossen Kaninchen wird sterilisiertes Alkaliprotein des *Bac. pyocyaneus* in Intervallen von 24 Stunden durch eine Ohrvene in das Blut injicirt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag. 8 Uhr 45 Min.	1 : 318	I. Injection von 4 ccm Protein.
4 - 45 -	1 : 152 (2)	
2. - 10 - 50 -	1 : 126 (2)	II. Injection von 2 ccm Protein.
6 - 40 -	1 : 159	
3. - 9 - — -	1 : 152	III. Injection von 2 ccm Protein.
6 - 30 -	1 : 102 (2—4)	
4. - 8 - 50 -	1 : 73 (2—4)	IV. Injection von 2 ccm Protein.
5 - — -	1 : 38 (2—20)	
5. - 10 - — -	1 : 69 (2—10)	
5 - 30 -	1 : 233 (2—5) <sup>1)</sup> .	

Das Thier macht während des Versuches einen leidenden Eindruck und frisst wenig.

#### 6. Versuch.

Einem grossen Kaninchen wird sterilisiertes Alkaliprotein des Bac. pyocyanus in Intervallen von 24 Stunden durch eine Ohrvene in das Blut injicirt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag. 9 Uhr 15 Min.	1 : 304	I. Injection von 5 ccm Protein.
5 - — -	(2) <sup>2)</sup>	
2. - 7 - 45 -		II. Injection von 3 ccm Protein.
3 - — -	(2—4) <sup>2)</sup>	
3. - 8 - 45 -		III. Injection von 4 ccm Protein.
4 - 45 -	1 : 59 (2—15)	Theilungsvorgänge Fig. 10— 12, 14, 17, 18, 20—27.
5 - 30 -	1 : 242	Blut aus der Art. cruralis.
4. - 9 - 45 -	1 : 206 <sup>3)</sup>	
5. - 10 - 15 -	1 : 350 <sup>3)</sup> .	

#### 7. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 8 ccm sterilisiertes Alkaliprotein aus Kalbsmuskeln durch eine Ohrvene in das Blut injicirt; nach Verlauf

<sup>1)</sup> In der Toison'schen Verdünnungsflüssigkeit finden sich entsprechend den früheren Leukocytenhaufen Klumpen violett gefärbter Körner, in denen einzelne erhaltene Leukocyten eingebettet liegen; im Dauerpräparat sind viele mehrkernige Leukocyten (siehe darüber im 3. Abschnitt).

<sup>2)</sup> Die Leukocyten liegen in den fixirten Präparaten zum Theil in Gruppen zusammen, eine Zählung wurde nicht angestellt.

<sup>3)</sup> Auch hier finden sich, wie im vorigen Versuch, entsprechend den früheren Leukocytenhaufen Körnerklumpen mit vereinzelten Leukocyten darin; im Dauerpräparat sind viele mehrkernige Leukocyten (s. Fig. 32—41).

von 2 Stunden wird das intacte Ohr fest abgeschnürt, dann abgeschnitten und auf 6 Stunden in den Brütofen ( $37^{\circ}$ ) gelegt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
8 Uhr 40 Min.	1: 531	Injection des Muskelproteins.
11 - 40 -	1: 477	
4 - 40 -	1: 168 (2—8)	Blut des abgeschnittenen Ohres.

#### 8. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 6 ccm sterilisiertes Alkaliprotein aus Kalbsmuskeln durch eine Ohrvene in das Blut injicirt; nach Verlauf von  $3\frac{1}{2}$  Stunden wird das intacte Ohr fest abgeschnürt, dann abgeschnitten und auf  $4\frac{1}{2}$  Stunden in den Brütofen gelegt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den roten Blutkörperchen.	Bemerkungen.
9 Uhr 50 Min.	1: 809	Injection des Muskelproteins.
1 - 20 -	1: 459 (2—3)	
5 - 50 -	1: 288 (2—5)	Blut des abgeschnittenen Ohres.

#### 9. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 2 g abgetödteter Cultur des *Bac. pyocyaneus* (auf Kartoffeln) in Form einer wässrigen 10prozentigen Emulsion, die durch 2ständiges Kochen sterilisirt wurde, subcutan in mehreren Portionen injicirt und durch Kneten vertheilt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den roten Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag. 10 Uhr 45 Min.	1: 318	Injection.
2. - 10 - 45 -	1: 1100	Die Haut an den Injectionsstellen ist geröthet und geschwollen.
3. - 10 -	1: 408 (2—3)	Theilungsvorgänge Fig. 15 u. 16.
4. - 10 -	1: 413	An den Injectionsstellen sind weiche knotenartige Verdickungen, die nach einigen Tagen fest werden.

#### 10. Versuch.

Einem grossen Kaninchen wird 1 g abgetödteter Cultur des *Pneumococcus* (Friedländer) (auf Kartoffeln) in Form einer wässrigen 10prozentigen Emulsion, die durch 2ständiges Kochen sterilisirt wurde, subcutan in 2 Portionen injicirt und durch Kneten vertheilt,

	Zeit.	Verhältn. d. weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	1 Uhr	1 : 690	Injection.
	5 - 30 Min.	1 : 1085	Das subcutane Gewebe der abhängigen Bauchpartien ist ödematos geschwollen, das Thier macht einen leidenden Eindruck.
	8 - 30 - Abends	1 : 1780	
2. -	2 -	1 : 1480	
3. -	3 -	1 : 1025	Es grenzt sich eine klein-hühnereigrosse Geschwulst unter der Bauchhaut ab.
4. -	7 -	} 1 : 614	Ohrarterienblut.
	7 - 20 Min. Abends		Ohrvenenblut. Die Geschwulst ist umschriebener und fester geworden. Das Verhalten des Thieres ist wieder ein normales.

## 11. Versuch.

Einem grossen Kaninchen wird 1 g abgetödteter Cultur des *Bac. pyocyaneus* (auf Kartoffeln) in Form einer wässrigen 10prozentigen Emulsion, die durch 2ständiges Kochen sterilisiert wurde, subcutan in 2 Portionen injicirt und durch Kneten vertheilt.

	Zeit.	Verhältn. d. weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	12 Uhr	1 : 576	Injection.
	6 - 30 Min.	1 : 6150	Die Injectionsstelle ist leicht geröthet.
2. -	9 -	1 : 323 (2)	Die Injectionsstelle ist leicht geröthet; das Thier macht einen leidenden Eindruck; es wird getötet.

Sectionsbefund: An der Injectionsstelle ausgeprägte, massenhafte Ansammlung von Eiterkörperchen und Bindegewebswucherung. Dazwischen zerfallene Bakterienmassen, leichtes, blutig-seröses Oedem, stark injicirte Gefässe.

## 12. Versuch.

Einem mittelgrossen Kaninchen werden 2 g abgetödteter Cultur des *Bac. pyocyaneus* (auf Kartoffeln) in Form einer wässrigen 10prozentigen Emulsion, die durch 2ständiges Kochen sterilisiert wurde, subcutan in mehreren Portionen injicirt und durch Kneten vertheilt.

	Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	11 Uhr 40 Min.	1 : 542	Injection.
	5 - 40 -	1 : 1530	
2. -	10 - 20 -	1 : 1170	
	11 - 20 -	1 : 3650	Blut aus der Art. cruralis.
	5 - 30 -	1 : 676	Das Thier macht einen leidenden Eindruck; die Subcutis an den abhängigen Bauchpartien ist ödematos.
3. -	10 - — -	1 : 304 (2)	
	10 - 30 -	1 : 954	Blut aus der Art. carotis.

Das Thier wird getötet; Mitosen (Fig. 28—31) und Amitosen (Fig. 8 und 9) in der V. cruralis.

Sectionsbefund: Blutig-seröses Oedem des subcutanen Zellgewebes an den abhängigen Bauchpartien. Flächenhaft ausgebreitete eitrige Infiltration an den Injectionsstellen.

#### 13. Versuch.

Einem kleinen Kaninchen werden 0,5 g abgetöteter Cultur des *Bac. pyocyaneus* (auf Kartoffeln) in Form einer wässrigen, 10prozentigen Emulsion, die durch einständiges Kochen sterilisiert wurde, subcutan injicirt und durch Kneten vertheilt.

	Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	12 Uhr	1 : 530	Injection.
	5 - 50 Min.	1 : 3500	
2. Tag.	8 - Morgens	1 : 915	Blut aus der V. cruralis.
	9 - -	1 : 12000	Blut aus dem linken Herz.

Das Thier geht am 9. Morgens zu Grunde.

Sectionsbefund: Die Gefässe an der Injectionsstelle sind injicirt, leichte flächenhafte, eitrige Infiltration. Kein Oedem.

#### 14. Versuch.

Einem kleinen Kaninchen wird 1 g lebender Cultur des *Bac. pyocyaneus* (auf Kartoffeln) in Form einer frisch bereiteten, wässrigen, 10prozentigen Emulsion subcutan in 2 Portionen injicirt und durch Kneten vertheilt.

	Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	10 Uhr	1 : 512	Injection.
	2 - 20 Min.	1 : 8900	
	6 - 40 - Abends	1 : 10160	

Das Thier geht in der Nacht zu Grunde.

Sectionsbefund: Trüb-blutigseröses Oedem der Subcutis in der Umgebung der Injectionsstellen und an den abhängigen Bauchpartien.

#### 15. Versuch.

Einem mittelgrossen Kaninchen wird 1 g lebender Cultur des *Bac. pyocyanus* (auf Kartoffeln) in Form einer frisch bereiteten, wässrigen, 10prozentigen Emulsion subcutan in 2 Portionen injicirt und durch Kneten vertheilt.

Verhältn. der weissen

Zeit.	zu den rothen	Bemerkungen.
	Blutkörperchen.	

1. Tag.	9 Uhr 40 Min.	1 : 385	Injection.
	5 - 20 -	1 : 5300	
2. Tag.	2 -	1 : 365	

Das Thier geht um 2 Uhr 15 Min. zu Grunde.

Sectionsbefund: Trüb-blutigseröses Oedem der Subcutis in der Umgebung der Injectionsstellen und an den abhängigen Bauchpartien.

#### 16. Versuch.

Einem kleinen Kaninchen werden 0,2 g lebender Cultur des *Bac. pyocyanus* (auf Kartoffeln) in Form einer frisch bereiteten, wässrigen, 10prozentigen Emulsion subcutan injicirt und durch Kneten vertheilt.

Verhältn. d. weissen

Zeit.	zu den rothen	Bemerkungen.
	Blutkörperchen.	

1. Tag.	12 Uhr	1 : 572	Injection.
	4 -	1 : 2350	
	8 - Abends	1 : 2120	
2. Tag.	8 - 30 Min. Morgens	1 : 863	Die Haut über der Injectionsstelle ist geröthet; Oedem der Subcutis.

Das Thier geht um 11 Uhr zu Grunde.

Sectionsbefund: Starkes blutigseröses Oedem der Subcutis in der Umgebung der Injectionsstelle und an den abhängigen Bauchpartien.

#### 17. Versuch.

Einem mittelgrossen Kaninchen werden 20 ccm einer klaren Flüssigkeit, die von einer 10prozentigen, wässrigen Emulsion des *Bac. pyocyanus* nach zweistündigem Kochen mit der Chamberlandkerze abfiltrirt wurde, subcutan in mehreren Portionen injicirt.

Verhältn. der weissen

Zeit.	zu den rothen	Bemerkungen.
	Blutkörperchen.	

1. Tag.	12 Uhr 30 Min.	1 : 347	Injection.
	4 - 50 -	1 : 827	
	6 - 30 - Abends	1 : 781	

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
2. Tag. 9 Uhr 30 Min. Morgens	1 : 236 (2—3)	Die Haut über der Injectionsstelle ist geröthet.
3. Tag. 10 -	1 : 328 (2)	Die Röthung ist verschwunden.
6 - Abends	1 : 442	

## 18. Versuch.

Einem mittelgrossen Kaninchen werden 30 ccm einer in der gleichen Weise wie beim 17. Versuch gewonnenen Flüssigkeit in mehreren Portionen subcutan injicirt.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den roten Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag. 10 Uhr	1 : 477	Injection.
6 - Abends	1 : 1526	
2. Tag. 2 - 30 Min.	1 : 233 (2)	
3. Tag. 12 -	1 : 434	

## 19. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 30 ccm Bakterienextract (Bac. pyocyanus) subcutan in mehreren Portionen injicirt; die zum Filtriren verwandte 10prozentige, wässrige Emulsion hat 8 Tage bei Zimmertemperatur gestanden und wurde in dieser Zeit 12 Stunden gekocht.

Zeit.	Verhältn. der weissen zu den roten Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag. 10 Uhr 30 Min.	1 : 401	Injection.
6 - Abends	1 : 809	
2. Tag. 9 - 30 Min.	1 : 245 (2—5)	Die Haut über der Injectionsstelle ist geröthet.
6 - — - Abds.	1 : 131 (2—6)	Blut aus der V. cruralis.
8 - — - -	1 : 142 (2)	Blut aus der A. cruralis.
8 - 15 - -	1 : 301	Blut aus einer Vene des Hinterbeins.
8 - 30 - -	1 : 219 (2—6)	
3. Tag. 10 -	1 : 135 (2—5)	Die Röthung der Haut ist verschwunden.
6 - 30 - -	1 : 230 (2—3)	
4. Tag. 12 -	1 : 292	

## 20. Versuch.

Einem mittelgrossen Kaninchen werden jedesmal 20 ccm Bakterienextract (Bac. pyocyanus) in 24stündigen Intervallen subcutan injicirt;

die zum Filtriren verwandte 10procentige, wässrige Emulsion hat 8 Tage bei Zimmertemperatur gestanden und wurde in dieser Zeit 8 Stunden gekocht.

		Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag,	11 Uhr	1 : 573	I. Injection.
	7 -	1 : 1430	
2.	12 -	1 : 200 (2--4)	II. Injection.
	8 -	1 : 397 (2--3)	Erste Injectionsstelle geröthet.
3.	11 -	1 : 293 (2)	III. Injection.
	6 -	1 : 344 (2--4)	Zweite Injectionsstelle geröthet.
4.	- 9 - 30 Min.	1 : 332 (2)	Dritte - - -
	5 -	1 : 306 (2)	
5.	- 11 - 30 -	1 : 445	Die Röthung ist geschwunden.
6.	- 12 -	1 : 593	
7.	- 10 -	1 : 615	

### 21. Versuch.

Einem grossen Kaninchen werden 15 ccm Bakterienextract (Bac. pyocyanus) mit einem Trockengehalt von 1,9 pCt. intravenös injicirt; die zum Filtriren verwandte 10 procentige wässrige Emulsion hat 4 Wochen bei 37° gestanden und wurde in dieser Zeit 30 Stunden gekocht.

		Verhältn. der weissen zu den rothen Blutkörperchen.	Bemerkungen.
1. Tag.	11 Uhr 40 Min.	1 : 596	11 Uhr 40 Min. bis 12 Uhr 40 Min. Injection.
2	- 40 -	1 : 2120	
3	- 40 -	1 : 1005	
4	- 20 -	1 : 4135	Blut von einem Schnitt in die Schnauze.
6	- 20 - Abds.	1 : 1430	
8	- 40 - -	1 : 289 }	Blut aus verschiedenen Ohr- venen.
9	- 20 - -	1 : 658 }	
2. Tag.	9 - 30 -	1 : 137 (2)	
10	- 30 -	1 : 1720	Blut aus der A. cruralis.
11	- 30 -	1 : 1035	- - - dem linken Herzen.
11	- 40 -	1 : 574 (2)	- - - rechten -
12	- — -	1 : 221 (2)	- - - der V. cava inferior.
12	- 10 -	1 : 274 (2)	- - - einer Vene d. Sprung- gelenks.

Das Thier wurde um 11 Uhr 30 Min. getötet.

### 22. Versuch.

Einem Hund von 3770 g werden 10 ccm von demselben Extract des Bac. pyocyanus wie beim 21. Versuch (Trockengehalt 1,9 pCt.) subcutan injicirt.

	Zeit.	Temperatur.	Bemerkungen.
1. Tag.	11 Uhr 10 Min.	38,9°	Injection.
	2 - 50 -	40,1°	Die Injectionsstelle ist schmerhaft, nicht geröthet.
	7 - Abends	39,1°	
2. Tag.	10 -	39,4°.	

## 23. Versuch.

Einem Hund von 2540 g werden 15 ccm Extract des Bac. *pyocyaneus* mit einem Trockengehalt von 0,9 pCt. subcutan injicirt.

	Zeit.	Temperatur.	Bemerkungen.
1. Tag.	11 Uhr 30 Min.	38,9°	Injection.
	3 - — -	40,2°	Die Injectionsstelle ist etwas schmerhaft, nicht geröthet.
	5 - 30 -	39,5°	
	8 - 30 - Abends	38,7°	
2. Tag.	8 - 30 - Morgens	39,2°.	

## 24. Versuch.

Einem Meerschweinchen werden 6 ccm wässriges Extract des Bac. *pyocyaneus* (Trockengehalt 1,9 pCt.) subcutan injicirt.

	Zeit.	Temperatur.	Bemerkungen.
1. Tag.	12 Uhr	38,2°	Injection.
	3 - 20 Min.	40,5°	Das Thier ist während des ganzen Versuches lebhaft.
	5 - — -	40,6°	
	8 - 15 -	40,5°	
2. Tag.	8 -	39,6° <sup>1)</sup>	
3. Tag.	8 -	39°	

## 25. Versuch.

Einem Meerschweinchen werden 6 ccm wässriges Extract des Bac. *pyocyaneus* (Trockengehalt 1,9 pCt.) subcutan injicirt.

	Zeit.	Temperatur.	Bemerkungen.
1. Tag.	11 Uhr	39,1°	Injection.
	5 - 30 Min.	40,6°	Das Thier ist etwas weniger lebhaft.
2. -	11 -	38,8°	

## 26. Versuch.

Einem Meerschweinchen werden 6 ccm wässriges Extract des Bac. *pyocyaneus* (Trockengehalt 1,9 pCt.) subcutan injicirt.

	Zeit.	Temperatur.	Bemerkungen.
1. Tag.	10 Uhr 45 Min.	39,8°	Injection.
	6 - 45 -	40,7°	Das Thier ist etwas weniger lebhaft.
2. -	12 -	39,5°	

<sup>1)</sup> heisst in der Wiener klin. Wochenschrift irrthümlich 40,6°.

## Literatur.

1. H. Buchner, Die chemische Reizbarkeit der Leukocyten und deren Beziehung zur Entzündung und Eiterung. Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 47.
2. H. Büchner, Ueber Hemmung der Milzbrandinfection und über das aseptische Fieber. Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 10.
3. H. Büchner, Ueber eiterungserregende Stoffe in der Bakterienzelle. Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 30. — A. Knüppel, Ein experimenteller Beitrag zur Aetiologie der Eiterung. Inaugural-Dissertation. München 1890.
4. Fr. Roemer, Ueber den formativen Reiz der Proteine Büchner's auf Leukocyten. Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 36.
5. R. v. Limbeck, Klinisches und Experimentelles über die entzündliche Leukocytose. Zeitschr. für Heilkunde. Bd. X. Heft VI. S. 392.
6. M. Löwit, Ueber Neubildung und Zerfall weisser Blutkörperchen. Sitzungsberichte der k. k. Akademie der Wissenschaften zu Wien. Bd. 92. Abth. III. 1885. — M. Löwit, Ueber Neubildung und Be schaffenheit der weissen Blutkörperchen. Ziegler-Nauwerck's Beiträge. Bd. X. Heft 3. S. 213.
7. J. Arnold, Beobachtungen über Kerne und Kerntheilungen in den Zellen des Knochenmarks. Dieses Archiv Bd. 93. 1883. — Ueber Kern- und Zelltheilung bei acuter Hyperplasie der Lymphdrüsen und Milz. Dieses Archiv Bd. 95. 1884. — Weitere Beobachtungen über die Theilungsvorgänge an den Knochenmarkszellen. Dieses Archiv Bd. 97. 1884. — Ueber Theilungsvorgänge an den Wanderzellen. Archiv für mikroskop. Anat. Bd. 30. S. 205. — Weitere Mittheilungen über Kern- und Zelltheilungen in der Milz. Archiv für mikroskop. Anat. Bd. 31. S. 541.
8. Spronck, Over Regeneratie en Hyperplasie van Leukocyten in het circuleerend bloed. Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde. 29. März 1889.
9. Fr. Roemer, Darstellung und Wirkung proteinhaltiger Bakterienextracte. Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 51.
10. R. Koch, Weitere Mittheilungen über das Tuberculin. Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43.
11. N. Tschistowitsch, Ueber die morphologischen Veränderungen des Blutes bei den Injectionen der Koch'schen Flüssigkeit. Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 34.
12. J. Horbaczewski, Beiträge zur Kenntniss der Bildung der Harnsäure und der Xanthinbasen, sowie der Entstehung der Leukocytosen im Säugethierorganismus. Sitzungsberichte der k. k. Akademie der Wissenschaften zu Wien. Bd. 100. Heft IV. Abth. III. 1891.
13. G. Gaertner und Fr. Roemer, Ueber die Einwirkung von Bakterien-extracten auf den Lymphstrom. Wiener medicinische Blätter.

1891. No. 42. — Ueber die Einwirkung von Tuberculin und anderen Bakterienextracten auf den Lymphstrom. Wiener klin. Wochenschr. 1892. No. 2.
14. R. Heidenhain, Versuche und Fragen zur Lehre von der Lymphbildung. Pflüger's Archiv für Physiologie. 1891. Heft V.
15. Fr. Roemer, Tuberculinreaction durch Bakterienextracte. Wiener klin. Wochenschr. 1891. No. 45.
16. H. Buchner, Tuberculinreaction durch Proteine nicht specifischer Bakterien. Münchener med. Wochenschr. 1891. No. 49.
- 

### Erklärung der Abbildungen<sup>1)</sup>.

#### Tafel II.

Sämmtliche Figuren sind mittelst des Abbé'schen Zeichenapparates bei Zeiss Apochrom.-Objectiv homog. Immersion, 16 mm Brennweite, Ocular No. 12 in der Fusshöhe des Mikroskopes gezeichnet.

- Fig. 1—6. Paarweise zusammenliegende Leukocyten im Höhestadium der Leukocytose (1 : 59, 6. Versuch).
- Fig. 7. Paarweise zusammenliegende Leukocyten nach vorhergegangener Blutentziehung.
- Fig. 8 und 9. Amitotische Leukocyten nach vorhergegangener Injection einer sterilisierten Bakterienemulsion (12. Versuch).
- Fig. 10, 11, 12, 14, 17, 18, 20—27. Amitotische Leukocyten im Höhestadium der Leukocytose (1 : 59, 6. Versuch).
- Fig. 13 und 19. Amitotische Leukocyten nach vorhergegangener Blutentziehung.
- Fig. 15 und 16. Amitotische Leukocyten nach vorhergegangener Injection einer sterilisierten Bakterienemulsion (9. Versuch).
- Fig. 28—31. Mitotische Leukocyten nach vorhergegangener Injection einer sterilisierten Bakterienemulsion (12. Versuch).
- Fig. 32—41. Altersformen der Leukocyten 24 und 48 Stunden nach der letzten Proteinjection (6. Versuch).

<sup>1)</sup> Sämmtliche Leukocytenbilder stammen aus venösem Blut.

