

Acta Medica Okayama

Volume 6, Issue 4

1938

Article 1

JUNI 1941

Experimentelle Studien über intratracheale Immunisierung

Minoru Tai*

*Okayama University,

Copyright ©1999 OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL. All rights reserved.

Experimentelle Studien über intratracheale Immunisierung*

Minoru Tai

Abstract

Im Hinblick auf diese experimentellen Resultate zeitigten alle Immunisierungsmethoden durch die Trachea positive Ergebnisse, ohne Rücksicht auf die Antigenarten und die Einführungsmethode (Rinderserum, -pulver, intratracheale Einspritzung, Einblasen oder Inhalation u. a.). Die Resorptionszustände waren folgende: wenn man mit waerloslichem Material, d.h. mit Serum, experimentierte, so konnte man infolge der guten Resorption schon nach 30 Minuten Antigen im Blut nachweisen; wenn man mit nicht-waerloslichem Material, d.h. mit Rinderserumpulver, experimentierte, so konnte man Antigen im Blut erst nach 1 Stunde spurenweise und nach 2 Stunden klar und sicher nachweisen, weil das Material durch die Sekretionsflüssigkeit gelöst und resorbiert wird. Ich stellte fest, daß das Stadium, in welchem resorbiertes Antigen im Blut am zahlreichsten erschien, 5 Stunden bis 8 Tage nach der Immunisierung auftrat. Bei mit Rinderserum immunisierten Kaninchen erreichte man die größte Antigenmenge im Blut bei ca. 0.128-0.512cc. Bei mit Serumpulver immunisierten Kaninchen erreichte die Resorptionsmenge des Antigens im Blut beinahe einen 1 : 20 gegenüber dem Resultate mit Serum (Serumpulver ca. 0.064-0.256 g). Wenn man diese Resultate mit denen von Endo vergleicht, so ergibt sich eine leichte Verschiebung. Er gab an, daß er bei dem die Antigenität vergleichenden Versuch mit Trocken- und Feuchtantigen gegen Tracheaimmunisierung mit Feuchtantigen ein zwanzigfach so gutes Resorptionsantigen im Blut nachweisen konnte als mit Trockenantigen. Ich konnte das durch die Trachea im Blut resorbierte Antigen in einem Fall lange Zeit nach der Antikörperbildung, und in einem anderen Fall kurze Zeit danach schwer nachweisen, im letzten Falle nämlich wurde die Reaktion undeutlich und verschwand. Die Erscheinung stimmt mit den Angaben von Hamburger u. Moro, Dehne u. Hamburger, Opie u. a. überein, daß bei subkutaner Injektion von Antigen die Antikörperbildung später eintritt und die Retentionszeit des Antigens länger ist.

*Copyright (C) OKAYAMA UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

Aus dem Hygienischen Institut der Med. Fakultät Okayama
(Vorstand: Prof. Dr. M. Ogata).

Experimentelle Studien über intratracheale Immunisierung

Von

Minoru Tai.

Eingegangen am 20. Dezember 1939.

Einleitung.

In vorhergehenden Arbeiten habe ich die pernasale Sensibilisierung genau untersucht. Doch ist die Frage der Antigenresorption in den tieferen Atemwegen von mir bisher unberührt geblieben und ich möchte darum dieses wichtige Gebiet hier behandeln. Über die Antigenresorption in den tieferen Atemwegen wie Tracheen und Bronchien ist schon viel berichtet worden. Die pathogenen oder nicht pathogenen Mikroorganismen und Stäubchen gelangen teilweise durch die trachealen und bronchialen Schleimhäute in das Körperinnere. Wenn Antigenstoffe, wie Bakterien und organische Stoffe, resorbiert werden, so erhebt sich hinsichtlich der lokalen Berührungsstelle wie der allgemeinen Sensibilisierung die Immunitätsfrage. Die Tatsache, daß durch die tracheale Schleimhaut das Antigen resorbiert wird, ist seit langem bekannt. *Besredka*¹⁾ im Pasteur-Institut in Paris versuchte die respiratorische Immunisierung mit Paratyphus-, Tuberkulose- und Diphtheriebazillen und veröffentlichte als Ergebnis, daß bei dieser Immunisierungsweise die Immunkörper später als bei der gewöhnlichen Immunisierungsweise auftreten und der Immunwert niedrig und kurzfristig sei. *Besnoit, Leclaince* und *Morel*²⁾, *Schweleff*³⁾, *Blumenthal*⁴⁾ und *Simitch*⁵⁾ injizierten das Antigen auf dem Luftwege oder direkt in die Lunge. *Pfenniger*⁶⁾ studierte die Antikörperbildung auf Grund von Experimenten *Besredkas* mittels verschiedener auf dem Luftwege zugeführter Antigene. *Friedberger* und *Mita*⁷⁾, sowie *Busson*⁸⁾ wiesen die Entstehung der aktiven Anaphylaxie auf dem Luftwege nach. *Hirose*⁹⁾ wies die Antikörperbildung und aktive Anaphylaxie auf dem Luftwege mit Pferdeserum als Antigen nach. *Endo*¹⁰⁾ wies mittels Rinderserum und Rinderserumpulver die Antikörperbildung auf dem Luftwege nach. *Sakauchi*¹¹⁾ wies die Antikörperbildung nach, indem er

Typhus-, Cholera- und Dysenteriebazillen und Serum in die Luftwege einführt. *Itoh*¹²⁾ wies bei Kaninchen eine auf dem Luftwege stattfindende Immunisierung nach. *Okazaki* und *Saito*¹³⁾ wiesen auf dem Luftwege Antigenresorption nach. *Matsuda*¹⁴⁾ wies die obere Luftimmunisierung mittels verschiedener Bakterien nach, *Tsukada*¹⁵⁾ versuchte die obere Luftwegimmunisierung mittels Tuberkelbazillen. Die Angaben über Studien hierüber sind so zahlreich, daß man sie nicht alle einzeln aufführen kann. Neuerdings berichtete ich über die Antigenresorption und das Verhalten des gebildeten Antikörpers bei pernasaler Immunisierung und hier will ich über pernasale Immunisierung, besonders über den Vorgang der Antigenresorption und das Schicksal des gebildeten Antikörpers genaue Angaben machen. Ich benutzte als Antigen Rinderserum und das ausgetrocknete Serumpulver desselben. Als Versuchstiere wurden ausgewachsene und gesunde Kaninchen mit einem Körpergewicht von zirka 2000 - 2500 g benutzt.

Untersuchungsmethode.

Ich benutzte *Uhlenhuths*che Originalmethode¹⁶⁾ und *Ogatas*che (Verdünnungspräzipitations-) Methode¹⁷⁾, dabei wandte ich je nach dem Grade positiver Reaktion folgende Bezeichnungen an: Zeichen: (≡): 15 Minuten, (≡≡): 30 Minuten, (⊕): 1 Stunde und (+): 2 Stunden, (±): undeutliche Reaktion und (—): negativ.

A) Bestimmungsmethode des Antigengehaltes.

Ich benutzte Antirinderserum von Kaninchen, welches den *U*'schen Titer 1 : 50,000 besaß, und untersuchte es nach *U*'scher Originalmethode. Zuerst verteilte ich von diesem Antirinderserum je 0.1 cc in Kapillarröhrchen und schichtete in absteigender Menge verdünntes Serum des Versuchstieres darüber.

B) Bestimmungsmethode des Antikörpergehaltes.

Das Serum des Versuchskaninchens wurde nach der Verdünnungsmethode mit Präzipitin unseres Instituts je nach bestimmter Inkubationszeit bestimmt.

C) Sensibilisierung.

Zur Immunisierung ist es nötig, das Antigen direkt in die Trachea einzuführen. Zu diesem Zweck befestigte ich das Versuchskaninchen so in Rückenlage, daß der Kopf hoch stand und das Antigen leicht in den unteren Teil der Trachea und in die Lungenalveolen einfließen konnte. Mit der Prawatz-Spritze injizierte ich Serum in

die Trachea am unteren Teil des Thyreoidealknorpels. Rinderserumpulver wurde folgenderweise eingeführt: Ich schnitt die Trachea an dem unteren Teil des Thyreoidealknorpels auf, stäubte durch das Inzisionsloch mit dem Spritzflakon das Serumpulver ein und ließ es inhalieren.

Versuchsergebnisse.

Bei der Resorption des Antigens durch die Schleimhaut der Luftwege ist das flüssige (z. B. Serum) Antigen zur Immunisierungsmethode auf dem Luftwege viel besser geeignet als das feste (z. B. Blutkörperchen). Serumpulver wird erst resorbiert, nachdem es sich durch die Sekretionsflüssigkeit von der Tracheaschleimhaut gelöst hat und es ist natürlich, daß in diesem Fall die Resorption sehr verlängert wird.

A) Immunisierung mittels Rinderserum.

Ich befestigte die Versuchstiere vom Körpergewicht 2000 - 2500 g in Rückenlage und injizierte 5 cc Rinderserum mit der Prawatzspritze direkt in die Trachea. Wenn man zu schnell injiziert, so fließt das Antigen wieder aus der Nase; deshalb ist es besser, langsam zu injizieren. Ich untersuchte den Antigengehalt im Blut der Kaninchen stundenweise und erhielt folgende Resultate:

Tabelle 1. Nachweis des durch die Trachea resorbierten Antigens und der Antikörperbildung.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 7 K. G. 2320 g								
	U'sche Methode	Ogata's Methode	2	4	8	16	32	64	128	256	
		B. z.	V. t.	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
5 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten eingespritzt											
sofort	1: 52	1: 5	1: 8	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	+	±	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	+	+	+	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	±	+	±	—	—	—	—	—
" 3 "	/	/	/	±	±	±	+	—	—	—	—
" 5 "	/	/	/	±	±	±	±	±	+	—	—
" 1 Tage	/	/	/	±	±	±	±	±	±	±	—
" 2 Tagen	1: 25	1: 5	1: 8	±	±	±	±	±	±	+	—

(Fortsetzung der Tabelle 1.)

Zeitverlauf	Antikörper			Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 7 K. G. 2320 g								
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	
		B. z.	V. t.	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	
nach 3 Tagen	1: 25	1: 5	1: 8	###	###	###	###	##	##	##	##	—
" 4 "	1: 250	1: 50	1: 25	###	###	###	###	##	##	##	##	—
" 5 "	1: 250	1: 50	1: 25	###	###	###	###	##	##	##	##	—
" 6 "	1: 250	1: 50	1: 25	###	###	###	###	##	##	##	##	—
" 7 "	1: 2,500	1: 500	1: 50	###	###	###	##	##	##	##	##	—
" 9 "	1: 2,500	1: 500	1: 50	###	###	###	##	##	##	##	##	—
" 10 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 50	##	##	##	##	—	—	—	—	—
" 11 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 50	##	##	##	—	—	—	—	—	—
" 12 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 50	##	##	##	—	—	—	—	—	—
" 13 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	##	—	—	—	—	—	—	—	—
" 14 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 20 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 21 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 79 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 80 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 115 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 116 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 204 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 209 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 234 "	1: 100	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 236 "	1: 100	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Bei Kaninchen Nr. 7 (in Tabelle 1) wurde resorbiertes Antigen im Blut im Verhältnis 1:2 nach *Uhlenhuthscher* Präzipitinmethode schon nach 30 Minuten intratrachealer Applikation gefunden, nach 2 Tagen wurde der höchste Antigengehalt im Blut mit 1:128 nachgewiesen, vom 4. Tage an begann sich das Antigen zu vermindern, am 6. Tage zeigte es ein Verhältnis 1:64, am 7. Tage 1:32, am 9. Tage 1:16, am 10. Tage 1:2, am 11. Tage nur noch Spuren und am 13. Tage verschwand es völlig. Das gebildete Präzipitin wurde erst am 4. Tage nachgewiesen, nahm mit der Zeit zu und erreichte am 13. Tage seinen Höhepunkt, während von dieser Zeit an Antigen im Blut gar nicht mehr nachgewiesen wurde. Die nachweisbare Dauer des Antikörpers belief sich auf etwa 236 Tage.

Bei Kaninchen Nr. 8 in Tabelle 2 wies ich resorbiertes Antigen im Blut i.V. 1:2 nach 30 Minuten nach, nach 1 Stunde i.V. 1:4 und

nach 1 Tage höchstens i.V. 1:128. Vom 3. Tage an begann es täglich abzunehmen, zeigte sich am 8. Tage i.V. 1:8, am 9. Tage i.V. 1:2 und vom 10.-13. Tage nur in Spuren. Die Antikörperbildung wurde

Tabelle 2.

Zeitverlauf	Antikörper			Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 8 K. G. 2350 g							
	U'sche Methode	Ogata's Methode		2	4	8	16	32	64	128	256
		B. z.	V. t.	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
5 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten eingespritzt											
sofort	1: 25	1: 10	1: 4	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	++	++	—	—	—	—	—	—
„ 1 „	/	/	/	++	+	—	—	—	—	—	—
„ 2 „	/	/	/	++	++	+	++	—	—	—	—
„ 3 „	/	/	/	##	++	++	+	++	—	—	—
„ 5 „	/	/	/	##	##	##	++	++	+	—	—
„ 7 „	/	/	/	###	###	###	##	++	++	++	—
„ 1 Tage	1: 25	1: 10	1: 4	###	###	###	##	##	++	+	—
„ 2 Tagen	1: 25	1: 10	1: 4	###	###	###	###	##	++	++	++
„ 3 „	1: 100	1: 25	1: 8	###	###	###	###	##	++	+	++
„ 4 „	1: 100	1: 25	1: 8	###	###	###	###	++	++	++	—
„ 6 „	1: 500	1: 100	1: 25	###	###	###	##	++	++	++	—
„ 8 „	1: 1,000	1: 500	1: 25	##	##	++	++	++	++	—	—
„ 9 „	1: 2,500	1: 500	1: 50	##	++	++	++	—	—	—	—
„ 10 „	1: 2,500	1: 500	1: 50	##	++	++	—	—	—	—	—
„ 11 „	1: 2,500	1: 500	1: 100	##	++	—	—	—	—	—	—
„ 13 „	1: 2,500	1: 500	1: 100	±	—	—	—	—	—	—	—
„ 14 „	1: 2,500	1: 500	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 18 „	1: 2,500	1: 500	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 19 „	1: 2,500	1: 500	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 49 „	1: 2,500	1: 500	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 50 „	1: 500	1: 500	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 85 „	1: 250	1: 500	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 86 „	1: 100	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 137 „	1: 100	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 138 „	1: 100	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 253 „	1: 100	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 258 „	1: 100	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 273 „	1: 25	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 276 „	1: 25	1: 500	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/

schon am gleichen Tage nachgewiesen, nahm am 9. Tage noch zu und erreichte am 11. Tage ihr Maximum. Die Existenzdauer des Antikörpers betrug 276 Tage; er verschwand mit der Bindungs-zonenreaktion.

Tabelle 3.

Zeitverlauf	Antikörper			Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 9 K. G. 2448 g							
	U'sche Methode	Ogata's Methode		2	4	8	16	32	64	128	256
		B. z.	V. t.	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256
5 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten eingespritzt											
sofort	1: 10	1: 5	1: 2	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	±	—	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	±	+	±	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	±	±	+	±	—	—	—	—
" 3 "	/	/	/	±	±	±	+	±	—	—	—
" 5 "	/	/	/	±	±	±	±	+	±	—	—
" 7 "	/	/	/	±	±	±	±	±	+	—	—
" 1 Tage	1: 25	1: 10	1: 2	±	±	±	±	±	+	+	—
" 2 Tagen	1: 25	1: 10	1: 2	±	±	±	±	±	+	+	—
" 3 "	1: 100	1: 25	1: 8	±	±	±	±	±	±	+	±
" 6 "	1: 250	1: 50	1: 25	±	±	±	±	±	±	+	±
" 8 "	1: 500	1: 50	1: 25	±	±	±	±	±	±	±	—
" 9 "	1: 500	1: 50	1: 25	±	±	±	±	±	+	—	—
" 10 "	1: 1,000	1: 100	1: 25	±	±	±	±	±	+	—	—
" 11 "	1: 1,000	1: 100	1: 25	±	±	±	±	±	—	—	—
" 12 "	1: 1,000	1: 100	1: 50	±	±	+	—	—	—	—	—
" 13 "	1: 1,000	1: 100	1: 50	±	±	—	—	—	—	—	—
" 14 "	1: 1,000	1: 100	1: 50	±	—	—	—	—	—	—	—
" 15 "	1: 1,000	1: 100	1: 50	—	—	—	—	—	—	—	—
" 19 "	1: 1,000	1: 100	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/
" 20 "	1: 1,000	1: 100	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/
" 54 "	1: 500	1: 100	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/
" 55 "	1: 500	1: 100	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/
" 133 "	1: 250	1: 100	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/
" 138 "	1: 250	1: 100	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/
" 148 "	1: 250	1: 100	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/
" 153 "	1: 100	1: 100	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/
" 183 "	1: 100	1: 100	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/
" 186 "	1: 50	1: 100	1: 2	/	/	/	/	/	/	/	/

Bei Kaninchen Nr. 9 in Tabelle 3 konnte 30 Minuten nach der Einführung des Antigens in die Trachea resorbiertes Antigen im Blut nicht nachgewiesen werden; nach 1 Stunde zeigte sich Antigen im Blut i.V. 1:4 (nach *Uhlenhuth*), nach 1 Tage i.V. 1:128, am 6. Tage verändert, aber vom 8. Tage an nahm es allmählich ab; am 12. Tage, an welchem die Antikörperbildung deutlich war, nahm das Antigen rasch ab und zeigte 1:8. Am 13. Tage zeigte es sich nur mehr in Spuren. 3 Tage nach der Immunisierung wurde ein leichter Grad der Antikörperbildung beobachtet, deren Dauer 186 Tage betrug. (Tabelle 4 s. S. 464.)

Nach 30 Minuten wurde das Antigen im Versuchskaninchen gefunden und vermehrte sich später bis zum 3. Tage. Dann zeigte es Neigung sich zu vermindern. Wie bei Kaninchen Nr. 2 ergab sich 1:4 nach 30 Minuten, 1:64 nach 3 Stunden, 1:128 nach 3 Tagen und nach 4 Tagen neigte das im Blut resorbierte Antigen dazu, sich zu vermindern; an demselben Tage injizierte ich zum zweiten Mal Antigen intra Trachea und wies nach 5 Tagen Antigen im Blut i.V. 1:512 nach, nach 8 Tagen verminderte sich das Antigen im Blut im Verlauf der folgenden Tage. Nach 11 Tagen verminderte es sich rasch und nach 12 Tagen konnte ich Antigen nur in Spuren nachweisen. Die Präzipitinbildung bei diesem Tier verlief folgenderweise: 3 Tage nach der Antigenintratracheainjektion bemerkte man schwache Antikörperbildung, dieser Präzipitinwert nahm im Verlauf der Tage zu. Nach zweimaliger Sensibilisierung wurde diese Antikörperbildung sehr stark angeregt und zirka 10 Tage nach der ersten Injektion und 6 Tage nach der zweiten erreichte der Präzipitinwert seinen Höhepunkt. Dieser höchste Titer hielt 5 Tage an und nahm dann allmählich ab. Doch die positive Zeit dauerte ungefähr 308 Tage. (Tabelle 5 s. S. 465.)

Bei Kaninchen Nr. 3 in Tabelle 5 wies ich im Blut spurenweise resorbiertes Antigen nach 30 Minuten nach, im Verlauf der Zeit nahm das Antigen im Blut zu, erreichte nach 5 Stunden den höchsten Stand von 1:128 und blieb bis zu 4 Tagen gleichwertig. Nach 4 Tagen injizierte ich zum zweiten Male Antigen und am nächsten Tage (nach 5 Tagen) war das Antigen im Blut 1:512. Bis zu 8 Tagen war der Antigengehalt im Blut nach *U'scher* Methode unverändert. Nach 9 Tagen nahm das Antigen im Blut gegenüber dem Vortag außerordentlich ab, nach 10 Tagen nahm es noch weiter ab und nach 12 Tagen konnte es im Blut nur mehr spurenweise nachgewiesen werden, es verschwand beinahe aus dem Blut.

Die Antikörperbildung wurde nach 3 Tagen nachgewiesen; im Verlauf der Zeit nahm der Antikörper zu, nach 8 Tagen nahm er rasch und noch nach 11 Tagen deutlich zu, von diesem Tage an

Tabelle 4.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 2 K. G. 2200 g									
	U'sche Methode	Ogata's Methode	2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024
		B. z.	V. t.	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:

5 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten
eingespritzt

sofort	1: 25	1: 5	1: 8	±	±	-	-	-	-	-	-	-	-
nach 1/2 Std.	/	/	/	++	+	±	-	-	-	-	-	-	-
" 1 "	/	/	/	##	##	++	+	-	-	-	-	-	-
" 2 "	/	/	/	##	##	##	##	++	±	-	-	-	-
" 3 "	/	/	/	###	###	###	##	+	+	-	-	-	-
" 5 "	/	/	/	###	###	###	###	++	±	-	-	-	-
" 7 "	/	/	/	###	###	###	###	###	++	±	-	-	-
" 2 Tagen	1: 50	1: 25	1: 8	###	###	###	###	###	##	±	-	-	-
" 3 "	1: 100	1: 25	1: 25	###	###	###	###	###	##	+	±	-	-
" 4 "	1: 100	1: 25	1: 25	###	###	###	###	##	##	+	-	-	-

4 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten
eingespritzt

nach 5 Tagen	1: 250	1: 25	1: 25	###	###	###	###	###	###	###	##	++	±
" 6 "	1: 500	1: 250	1: 50	###	###	###	###	###	###	###	##	++	-
" 7 "	1: 10,000	1: 500	1: 100	###	###	###	###	###	###	##	++	+	-
" 8 "	1: 10,000	1: 500	1: 100	###	###	###	###	###	++	+	+	±	-
" 9 "	1: 10,000	1: 500	1: 100	###	###	###	##	++	+	+	-	-	-
" 10 "	1: 10,000	1: 500	1: 150	###	###	###	##	++	±	-	-	-	-
" 11 "	1: 10,000	1: 500	1: 150	###	###	++	±	-	-	-	-	-	-
" 12 "	1: 10,000	1: 500	1: 150	±	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 13 "	1: 10,000	1: 500	1: 150	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 14 "	1: 10,000	1: 500	1: 150	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 15 "	1: 10,000	1: 500	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 27 "	1: 10,000	1: 500	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 28 "	1: 5,000	1: 500	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 83 "	1: 2,500	1: 500	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 84 "	1: 2,500	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 267 "	1: 500	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 272 "	1: 500	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 303 "	1: 250	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 308 "	1: 250	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Tabelle 5.

Zeitverlauf	Antikörper			Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 3 K. G. 2350 g										
	U'sche Methode	Ogata's Methode		2	4	8	16	32	64	128	256	512	1:1,024	
		B. z.	V. t.	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
5 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten eingespritzt														
sofort	—	—	—	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1 „	/	/	/	±	±	±	+	±	—	—	—	—	—	—
„ 2 „	/	/	/	±	±	±	±	±	±	—	—	—	—	—
„ 3 „	/	/	/	±	±	±	±	±	+	±	—	—	—	—
„ 5 „	/	/	/	±	±	±	±	±	±	±	±	±	—	—
„ 7 „	/	/	/	±	±	±	±	±	±	+	±	±	—	—
„ 1 Tage	/	/	/	±	±	±	±	±	±	+	±	±	—	—
„ 2 Tagen	/	/	/	±	±	±	±	±	±	±	±	±	—	—
„ 3 „	1: 100	1: 10	1: 25	±	±	±	±	±	±	±	±	±	—	—
„ 4 „	1: 100	1: 10	1: 25	±	±	±	±	±	±	+	±	±	—	—
4 cc Rinderserum in die Trachea innerhalb von 30 Minuten eingespritzt														
nach 5 Tagen	1: 250	1: 100	1: 25	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	±
„ 6 „	1: 250	1: 100	1: 50	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	—
„ 8 „	1: 500	1: 250	1: 100	±	±	±	±	±	±	±	±	±	+	—
„ 9 „	1: 500	1: 250	1: 100	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	—
„ 10 „	1: 500	1: 500	1: 100	±	±	±	±	±	±	±	±	±	—	—
„ 11 „	1: 10,000	1: 500	1: 150	±	±	±	±	+	+	—	—	—	—	—
„ 12 „	1: 10,000	1: 500	1: 150	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 13 „	1: 10,000	1: 1,000	1: 150	±	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 14 „	1: 10,000	1: 1,000	1: 150	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 15 „	1: 10,000	1: 1,000	1: 150	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 20 „	1: 10,000	1: 1,000	1: 150	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 25 „	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 81 „	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 86 „	1: 5,000	1: 1,000	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 142 „	1: 5,000	1: 1,000	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 176 „	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 202 „	1: 2,500	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 267 „	1: 500	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 272 „	1: 500	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 282 „	1: 500	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 297 „	1: 250	1: 1,000	1: 2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 303 „	1: 250	1: 1,000	1: ±2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

konnte man ganz im Gegenteil kaum mehr Antigen im Blut nachweisen und nach 12 Tagen verschwand es ganz daraus. Die Lebensdauer des gebildeten Antikörpers betrug 303 Tage, dann war er verschwunden.

B) Versuch über Antigenresorption und Antikörperbildung bei der Immunisierung mit Rinderserumpulver.

Ich befestigte die Kaninchen in Rückenlage, schnitt die Trachea auf und blies durch das Inzisionsloch Rinderserumpulver mit dem Spritzflakon ein. Danach bestimmte ich das im Blut resorbierte Antigen zeitlich und erhielt folgende Resultate:

Tabelle 6.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 6 K. G. 2320 g								
	U'sche Methode	Ogata's Methode	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		B. z.	V. t.	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1	1:1

0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten
eingeblassen

sofort	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 1 „	/	/	/	≡	≡	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 „	/	/	/	≡	≡	≡	≡	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 3 „	/	/	/	≡	≡	≡	≡	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 5 „	/	/	/	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 2 Tagen	—	—	—	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 3 „	1: 100	1: 50	1: 10	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+	+	—	—	—	—	—
„ 4 „	1: 250	1: 100	1: 25	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
„ 6 „	1: 5,000	1: 500	1: 50	≡	≡	≡	≡	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 8 „	1: 5,000	1: 500	1: 50	≡	≡	≡	≡	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
„ 9 „	1: 5,000	1: 500	1: 50	≡	≡	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 10 „	1: 5,000	1: 500	1: 50	≡	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 11 „	1: 5,000	1: 500	1: 100	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 12 „	1: 5,000	1: 500	1: 100	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 13 „	1: 5,000	1: 500	1: 100	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 14 „	1: 5,000	1: 500	1: 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
„ 19 „	1: 5,000	1: 500	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 24 „	1: 5,000	1: 500	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 35 „	1: 5,000	1: 500	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

(Fortsetzung der Tabelle 6.)

Zeitverlauf	Antikörper			Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 6 K. G. 2320 g									
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	1: 512	
		B. z.	V. t.										
nach 40 Tagen	1: 5,000	1: 500	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 79 „	1: 2,500	1: 500	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 83 „	1: 2,500	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 103 „	1: 2,500	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 108 „	1: 2,500	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 128 „	1: 500	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 133 „	1: 500	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 148 „	1: 250	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 163 „	1: 100	1: 500	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 168 „	1: 100	1: 500	1: 2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
„ 171 „	1: 100	1: 500	1: ±2	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Bei Kaninchen Nr. 6 in Tabelle 6 konnte ich resorbierte Antigen im Blut spurenweise nach 1 Stunde nachweisen, nach 2 Stunden wies ich es i.V. 1:8 nach, im Verlauf der Zeit nahm es weiter zu. Nach 5 Stunden wies ich 1:128 nach, danach bis zu 4 Tagen eine gleiche Menge, nach 6 Tagen 1:64 und nach 9 Tagen 1:4. Vom 10. Tage an bis zu 13 Tagen konnte ich nicht sicher Antigen im Blut nachweisen und mußte den Befund mit dem Zeichen (\pm) ausdrücken, nach 14 Tagen konnte ich gar kein Antigen im Blut mehr feststellen. In diesem Fall beobachtete ich, daß die Antikörperbildung nach 3 Tagen begann und nach 11 Tagen ihren Höhepunkt erreichte. Die Dauer der Antikörper betrug 171 Tage; während dieser Dauer besaß die Bindungszone gleichen Wert, ohne Steigerung oder Verminderung. Der U'sche Titer stieg allmählich und verschwand endlich. (Tabelle 7 s. S. 468.)

Bei Kaninchen Nr. 7 in Tabelle 7 konnte ich 2 Stunden nach der Immunisierung resorbiertes Antigen im Blut i.V. 1:8 feststellen. Danach nahm es mit der Zeit zu, zeigte nach 7 Stunden 1:64 und blieb während 9 Tagen unverändert. Danach verminderte es sich allmählich und nach 12 Tagen war die Reaktion nicht mehr klar. Die Antikörperbildung wurde nach 4 Tagen nachgewiesen, danach stieg mit der Zeit der Präzipitinwert und nach 11 Tagen, als die Antikörperbildung ihr Maximum erreichte, zeigte das Antigen im Blut eine unsichere Reaktion. Der Antikörper war 186 Tage lang nachweisbar. (Tabelle 8 s. S. 469.)

Bei Kaninchen Nr. 8 in Tabelle 8 ließ ich das durch das Inzisionsloch in die Trachea eingeblasene Rinderserumpulver inhalieren und fand, daß nach 1 Stunde Spuren von Antigen im Blut erschienen. Nach 2 Stunden betrug es 1:8, nach 1 Tage 1:128 als Höchststand

Tabelle 7.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 7 K. G. 2350 g								
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256
		B. z.	V. t.	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256

0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten
eingeblasen

sofort	1: 25	1: 5	1: 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	≡	≡	≡	—	—	—	—	—	—
" 3 "	/	/	/	≡	≡	≡	≡	—	—	—	—	—
" 5 "	/	/	/	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	—	—
" 7 "	/	/	/	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+	—
" 1 Tage	1: 25	1: 5	1: 4	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	—
" 3 Tagen	1: 25	1: 5	1: 8	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+
" 4 "	1: 50	1: 5	1: 25	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+
" 7 "	1: 2,500	1: 500	1: 25	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	+	—
" 9 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	—	—
" 10 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	≡	≡	≡	≡	≡	+	+	—	—
" 11 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	≡	≡	≡	+	+	—	—	—	—
" 12 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	≡	≡	≡	—	—	—	—	—	—
" 13 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	≡	≡	—	—	—	—	—	—	—
" 14 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	≡	—	—	—	—	—	—	—	—
" 15 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	±	—	—	—	—	—	—	—	—
" 16 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 20 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 25 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 55 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 60 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 130 "	1: 500	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 135 "	1: 500	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 180 "	1: 100	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 186 "	1: 100	1: 1,000	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 190 "	1: 25	1: 1,000	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Tabelle 8.

Zeitverlauf	Antikörper			Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 8 K. G. 2448 g								
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	
		B. z.	V. t.									
0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten eingeblassen												
sofort	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	±	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	±	±	+	±	—	—	—	—	—
" 3 "	/	/	/	±	±	±	+	±	—	—	—	—
" 5 "	/	/	/	±	±	±	±	+	±	—	—	—
" 7 "	/	/	/	±	±	±	±	±	±	±	—	—
" 1 Tage	/	/	/	±	±	±	±	±	±	+	±	—
" 2 Tagen	—	—	—	±	±	±	±	±	±	+	±	±
" 3 "	1: 50	1: 10	1: 6	±	±	±	±	±	±	+	±	±
" 4 "	1: 100	1: 25	1: 10	±	±	±	±	±	±	+	—	—
" 6 "	1: 2,500	1: 250	1: 25	±	±	±	±	±	+	+	—	—
" 7 "	1: 2,500	1: 250	1: 25	±	±	±	±	±	+	±	—	—
" 9 "	1: 2,500	1: 500	1: 50	±	±	±	±	±	+	±	—	—
" 10 "	1: 2,500	1: 500	1: 50	±	±	±	±	±	±	—	—	—
" 11 "	1: 2,500	1: 500	1: 100	±	±	±	—	—	—	—	—	—
" 12 "	1: 2,500	1: 500	1: 100	±	±	—	—	—	—	—	—	—
" 13 "	1: 2,500	1: 500	1: 100	±	—	—	—	—	—	—	—	—
" 14 "	1: 2,500	1: 500	1: 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 18 "	1: 2,500	1: 500	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 23 "	1: 2,500	1: 500	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 48 "	1: 2,500	1: 500	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 53 "	1: 1,000	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 118 "	1: 1,000	1: 500	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 123 "	1: 500	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 153 "	1: 500	1: 500	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 158 "	1: 500	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 188 "	1: 250	1: 500	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 193 "	1: 250	1: 500	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 208 "	1: 100	1: 500	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 213 "	1: 100	1: 500	1: 2	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 227 "	1: 100	1: 500	1: 2	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 230 "	1: 100	1: 500	1: ±2	/	/	/	/	/	/	/	/	/

und blieb dann 6 Tage unverändert. Vom 7. Tage an nahm es allmählich und nach 11 Tagen, wo die Antikörperbildung maximal war, rasch ab und zeigte nach 12 Tagen nur noch Spuren. Während dieser Dauer behielt die Bindungszone den gleichen Wert. Der

Tabelle 9.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 9 K. G. 2310 g								
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256
		B. z.	V. t.	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1	1: 1

0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten
eingeblassen

sofort	1: 10	1: 5	1: 4	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 3 "	/	/	/	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 5 "	/	/	/	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 7 "	/	/	/	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 1 Tage	1: 10	1: 5	1: 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 3 Tagen	1: 50	1: 5	1: 8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 5 "	1: 500	1: 100	1: 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 7 "	1: 5,000	1: 500	1: 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 9 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 11 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 12 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 13 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 75	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 14 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 75	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 15 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 75	+	+	+	+	+	+	+	+	+
" 22 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 75	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 27 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 42 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 47 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 125 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 130 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 160 "	1: 500	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 165 "	1: 100	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 200 "	1: 100	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 206 "	1: 100	1: 1,000	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 210 "	1: 50	1: 1,000	1: 4	/	/	/	/	/	/	/	/	/

U'sche Titer nahm vom 53 Tage an allmählich ab. (5 Tage nach der Immunisierung erschien ein Zeichen von Antikörperbildung). Der Antikörper war 230 Tage lang nachweisbar.

Kaninchen Nr. 9 in Tabelle 9 ließ ich durch die Inzision an der Trachea Rinderserumpulver inhalieren und fand, daß sich erst nach 2 Stunden Antigen im Blut i.V. 1:8 (nach U.) zeigte und mit der Zeit zunahm. Nach 7 Stunden betrug es höchstens 1:64 und bis zum 7. Tage blieb es unverändert, aber vom 9. Tage an nahm es allmählich ab und vom 13. Tage an, an welchem die Antikörperbildung maximal war, verminderte es sich rasch und zeigte am 12. Tage nur noch Spuren, nachdem es am 11. Tage noch 1:32 gezeigt hatte. Während dieser Dauer behielt die Bindungszone immer gleiche Höhe. Der U'sche Titer fiel vom 24. Tage an allmählich. Der Antikörper hielt sich 206 Tage.

Tabelle 10.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 1 K. G. 2200 g									
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	1: 512
		B. z.	V. t.									

0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten
eingeblassen

sofort	1: 50	1: 25	1: 8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	±	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	±	+	±	—	—	—	—	—	—	—
" 3 "	/	/	/	≡	≡	±	±	+	—	—	—	—	—
" 5 "	/	/	/	≡	≡	≡	±	±	+	±	—	—	—
" 7 "	/	/	/	≡	≡	≡	≡	±	±	±	—	—	—
" 1 Tage	/	/	/	≡	≡	≡	≡	±	±	±	—	—	—
" 2 Tagen	/	/	/	≡	≡	≡	≡	≡	≡	+	—	—	—
" 3 "	1: 50	1: 25	1: 8	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	±	±	—
" 4 "	1: 50	1: 25	1: 8	≡	≡	≡	≡	≡	≡	≡	±	—	—

0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten
eingeblassen

nach 5 Tagen	1: 250	1: 50	1: 25	≡	≡	≡	≡	≡	≡	±	+	±	—
" 6 "	1: 2,500	1: 250	1: 25	≡	≡	≡	≡	±	+	+	+	±	—
" 7 "	1: 5,000	1: 250	1: 50	≡	≡	≡	≡	±	+	±	±	—	—
" 8 "	1: 25,000	1: 500	1: 50	≡	≡	≡	≡	±	±	±	—	—	—

(Fortsetzung der Tabelle 10.)

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 1 K. G. 2200 g									
	U'sche Methode	Ogata's Methode		1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	1: 512
		B. z.	V. t.	1: 2	1: 4	1: 8	1: 16	1: 32	1: 64	1: 128	1: 256	1: 512
nach 9 Tagen	1: 25,000	1: 1,000	1: 100	###	###	###	##	+	+	+	-	-
" 10 "	1: 25,000	1: 1,000	1: 100	##	##	##	##	-	-	-	-	-
" 11 "	1: 25,000	1: 1,000	1: 100	##	##	##	-	-	-	-	-	-
" 12 "	1: 25,000	1: 1,000	1: 100	##	##	##	-	-	-	-	-	-
" 13 "	1: 25,000	1: 1,000	1: 100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" 16 "	1: 25,000	1: 1,000	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 21 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 41 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 46 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 158 "	1: 2,500	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 163 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 242 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 246 "	1: 1,000	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 250 "	1: 100	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/

Bei Kaninchen Nr. 1 in Tabelle 10 trat Antigen im Blut erst 2 Stunden nach der Immunisierung i.V. 1:4 auf und danach nahm es mit der Zeit allmählich zu. Nach 5 Stunden zeigte es 1:64, nach 2 Tagen 1:128, nach 3 und 4 Tagen 1:64. Dann blies ich zum zweiten Mal Antigen in die Trachea ein und stellte am nächsten Tage 1:256 fest. Nach 6 Tagen zeigte es noch den gleichen Wert, nach 7 Tagen jedoch begann es allmählich abzunehmen, war nach 10 Tagen mit 1:2 und nach 12 Tagen nur noch in Spuren nachzuweisen. Die Antikörperbildung wurde erst nach 5 Tagen nachgewiesen und nahm mit der Zeit im Blut zu, nach 9 Tagen war deren Maximum erreicht. Trotz deutlicher Antikörperbildung begann das Antigen im Blut abzunehmen und war 1-2 Tage später ganz und gar verschwunden. Während dieser Zeit war die Bindungszone vom Anfang bis zum Ende unverändert. Der Antikörper hielt sich 246 Tage.

Bei Kaninchen Nr. 2 in Tabelle 11 konnte ich resorbiertes Antigen im Blut in Spuren nach 1 Stunde nachweisen, nach 2 Stunden erst 1:8, danach nahm das Antigen mit der Zeit im Blut zu und nach 1 Tage zeigte es 1:128 und war bis zu 3 Tagen unverändert. Die Dauer des Antigens im Blut war abhängig von der Individualität des Kaninchens sowie der Resorbierbarkeit und es ist klar, daß je nach dem Fall die Resultate etwas verschieden waren. Nach 4 Tagen

ließ ich die Kaninchen zum zweitenmal Antigen inhalieren, am nächsten Tage (nach 5 Tagen) zeigte das Antigen im Blut 1:256, nach 6 Tagen begann es abzunehmen, war nach 7 Tagen unver-

Tabelle 11.

Zeitverlauf	Antikörper		Serum-Verd. von Kaninchen Nr. 2 K. G. 2350 g										
	U'sche Methode	Ogata's Methode		2	4	8	16	32	64	128	256	512	1,024
		B. z.	V. t.	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:	1:
0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten eingeblasen													
sofort	1: 100	1: 50	1: 8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
nach 1/2 Std.	/	/	/	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 1 "	/	/	/	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
" 2 "	/	/	/	##	##	+	+	—	—	—	—	—	—
" 3 "	/	/	/	##	##	##	##	+	—	—	—	—	—
" 5 "	/	/	/	##	##	##	##	##	+	—	—	—	—
" 7 "	/	/	/	##	##	##	##	##	##	±	—	—	—
" 1 Tage	/	/	/	###	###	###	###	###	##	##	—	—	—
" 2 Tagen	/	/	/	##	###	###	###	##	##	##	±	—	—
" 3 "	1: 100	1: 50	1: 8	###	###	###	###	###	##	+	±	—	—
" 4 "	1: 250	1: 50	1: 25	###	###	###	##	##	+	±	—	—	—
0.5 g Rinderserumpulver in die Trachea innerhalb von 20 Minuten eingeblasen													
nach 5 Tagen	1: 250	1: 100	1: 25	###	###	###	###	##	##	##	+	±	—
" 6 "	1: 2,500	1: 500	1: 25	###	###	###	###	##	##	##	±	—	—
" 7 "	1: 5,000	1: 500	1: 50	###	###	###	###	##	##	##	±	—	—
" 8 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	###	###	###	###	##	##	##	±	—	—
" 9 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	###	###	###	##	##	##	±	—	—	—
" 11 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	###	###	###	##	##	+	—	—	—	—
" 12 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	###	###	##	##	±	—	—	—	—	—
" 13 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	##	+	+	—	—	—	—	—	—	—
" 14 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	±	±	—	—	—	—	—	—	—	—
" 15 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" 19 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 100	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 24 "	1: 10,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 44 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 50	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 49 "	1: 5,000	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 189 "	1: 250	1: 1,000	1: 25	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 194 "	1: 250	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 224 "	1: 250	1: 1,000	1: 10	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
" 226 "	1: 250	1: 1,000	1: 8	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/

ändert, nach 8 Tagen halbwertig gegenüber dem Wert nach 5 Tagen, bis zum 12. Tage nahm es allmählich ab, nach 13 Tagen zeigte es 1:8 und nach 14 Tagen nur noch Spuren.

Die Antikörperbildung wurde erst nach 4 Tagen nachgewiesen und war nach 8 Tagen deutlich. Die Antigenverminderung im Blut begann zu dieser Zeit und stand der Antikörperbildung entgegen. Während dieses Intervalles zeigte die Bindungszone immer gleichen Wert, ohne Steigerung oder Verminderung. Der U'sche Titer fiel allmählich, bis der Antikörper beinahe verschwand. Die Dauer des Antikörpers betrug 226 Tage.

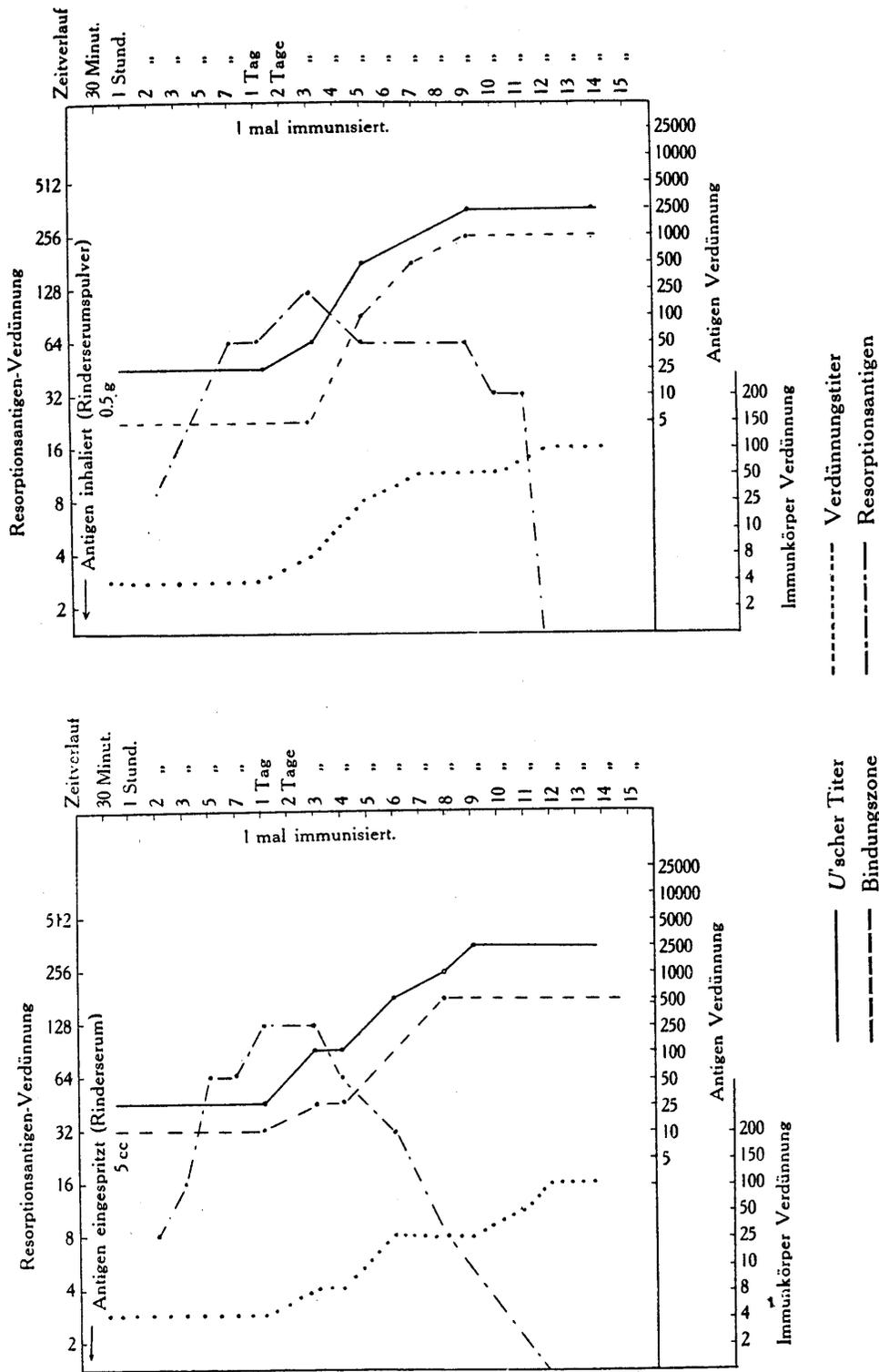
Überblicken wir die oben aufgeführten Resultate, so scheint die Antigenresorption durch die Trachea etwas besser zu sein, aber die Menge war sehr gering, nämlich bei einmaliger Antigeneinführung in die Trachea mit Serum war das Verhältnis etwa 0.128 cc und bei zweimaliger Antigeneinführung ca. 0.512 cc, bei einmaliger Antigeneinführung mit Serumpulver ca. 0.064 g und zweimaliger Einführung ca. 0.256 g. Doch hängt diese Resorptionsmenge des Antigens von der Individualität des Versuchstieres ab. Die Resorptionsmenge des Antigens im Blut wurde leicht durch Präzipitinversuche nachgewiesen. Wenn ich Serum als Antigen benutzte, konnte ich es nach 30 Minuten, und wenn ich Serumpulver als Antigen benutzte, nach 1 Stunde in Spuren und nach 2 Stunden im Blut immerhin positiv im Verhältnis 1:8 nachweisen. Von der 5. Stunde an bis zum 7. Tage konnte ich resorbiertes Antigen im Blut in größter Menge nachweisen, doch ergaben sich je nach der Individualität der Versuchstiere mehr oder weniger große Verschiebungen. Die Dauer des Antigens im Blut war in meinem Versuch folgende: vom 9. bis zum 13. Tage wurde es mit dem Zeichen (+) und vom 10. bis zum 15. Tage mit dem Zeichen (\pm) angegeben. Im lebhaften Stadium der Antikörperbildung konnte ich in einigen Fällen Antigen im Blut nachweisen. Diese Befunde laufen mit der Angabe von *Hamburger* und *Moro*¹⁸⁾, *Dehne* und *Hamburger*¹⁹⁾, *Opie*²⁰⁾ u. a. parallel, daß bei subkutaner Injektion des Antigens die Antikörperbildung und die Dauer des Antigens im Blut verlängert wurde. In einigen Fällen konnte ich das rasche Absinken des Antigens im Blut im höchsten Stadium der Antikörperbildung feststellen. Bei Nr. 2 nämlich, wo mit Rinder-serum immunisiert wurde, wurde Antigen nach 9 Tagen i.V. 1:128 nachgewiesen und schon am 11. Tage wurde dasselbe nicht mehr gefunden. Dagegen war die Antikörperbildung am 10. Tage am höchsten. Bei Nr. 3 wurde Antigen im Blut nach 8 Tagen i.V. 1:512 nachgewiesen, nach 11 Tagen jedoch, als die Antikörperbildung lebhaft war, verminderte sich das Antigen im Blut und war nach 13 Tagen nur mehr in Spuren vorhanden. Bei Nr. 7 konnte ich nach

5 Tagen reichliches Antigen im Blut feststellen, das nach 10 Tagen sich rasch verminderte und nach 12 Tagen nur noch in Spuren vorhanden war. Bei Nr. 8 war es nach 8 Tagen i.V. 1:8 vorhanden und nach 10 Tagen wurde es spärlich. In allen Fällen eines lebhaften Stadiums der Antikörperbildung wurde das rasche Absinken des Antigens im Blut nachgewiesen. Dieses Schicksal des Antigens erinnert die Untersuchungsergebnisse von *Hamburger* und *Reuss* (intravenös) sowie von *Opie* (intraperitoneal). Diese Forscher berichteten nämlich, daß im lebhaften Stadium der Antikörperbildung das zirkulierende Antigen im Blut rasch verschwand. Die Dauer des Antigens im Blut hängt andererseits von der Untersuchungsmethode ab, welche Tatsache durch viele Angaben von bisherigen Forschern bestätigt wurde. Zum Beweis will ich eine Tabelle geben :

Tabelle 12. Retentionszeitdauer des Antigens im Organismus nach verschiedenen Forschern.

Berichter-statter	Litera-tur	Antigen	Ver-suchstier	Ort	Methode des Nachweises	Zeit-verlauf
<i>Uhlenhuth Weidanz</i>	16	Pferdserum	Kaninchen	intravenöse Injektion	Präzipitinreaktion	15 Tag.
<i>Hintze</i>	21	Pferdserum	Kaninchen	intravenöse Injektion	Präzipitinreaktion Komplement-bindungsreaktion Anaphylaxiereaktion	15 Tag. 5 Tag. 16 Tag.
		Eiklar	Kaninchen	intravenöse Injektion	Präzipitinreaktion Komplement-bindungsreaktion Anaphylaxiereaktion	5 Tag. 5 Tag. 14 Tag.
<i>Hirose</i>	9	Pferdserum	Kaninchen	Tröpfeln an der Nase	Präzipitinreaktion	10 Tag.
		Pferdserum	Meerschweinchen	intra-tracheale Injektion	Anaphylaxiereaktion	21 Tag.
meine Versuche	22	Rinder-serum	Kaninchen	intranasale Inhalation	Präzipitinreaktion	9 - 12 Tag.
		Rinder-serumpulver	Kaninchen	intra-tracheale Inhalation	Präzipitinreaktion	12 - 15 Tag.

Fig. 1. Verlauf des resorbierten Antigens und der Antikörperbildung, bei mit Rinderserum oder Serumpulver durch die Trachea immunisierten Kaninchen.



Wie man aus der Tabelle ersieht, ist die Dauer des Antigens im Blut je nach den Berichterstatern verschieden, aber man kann nicht verneinen, daß während eines gewissen Stadiums Antigen und Antikörper in einem Tierkörper mitsammen vorhanden sind. Aus Fig. 1 ersieht man, daß das durch die Trachea resorbierte Antigen mit dem Antikörper zusammen im Blut des Kaninchens vorhanden ist.

Zusammenfassung.

Im Hinblick auf diese experimentellen Resultate zeitigten alle Immunisierungsmethoden durch die Trachea positive Ergebnisse, ohne Rücksicht auf die Antigenarten und die Einführungsmethode (Rinderserum, -pulver, intratracheale Einspritzung, Einblasen oder Inhalation u. a.).

Die Resorptionszustände waren folgende: wenn man mit wasserlöslichem Material, d. h. mit Serum, experimentierte, so konnte man infolge der guten Resorption schon nach 30 Minuten Antigen im Blut nachweisen; wenn man mit nicht-wasserlöslichem Material, d. h. mit Rinderserumpulver, experimentierte, so konnte man Antigen im Blut erst nach 1 Stunde spurenweise und nach 2 Stunden klar und sicher nachweisen, weil das Material durch die Sekretionsflüssigkeit gelöst und resorbiert wird. Ich stellte fest, daß das Stadium, in welchem resorbiertes Antigen im Blut am zahlreichsten erschien, 5 Stunden bis 8 Tage nach der Immunisierung auftrat.

Bei mit Rinderserum immunisierten Kaninchen erreichte man die größte Antigenmenge im Blut bei ca. 0.128–0.512 cc. Bei mit Serumpulver immunisierten Kaninchen erreichte die Resorptionsmenge des Antigens im Blut beinahe einen 1:20 gegenüber dem Resultate mit Serum (Serumpulver ca. 0.064–0.256 g). Wenn man diese Resultate mit denen von *Endo* vergleicht, so ergibt sich eine leichte Verschiebung. Er gab an, daß er bei dem die Antigenität vergleichenden Versuch mit Trocken- und Feuchtantigen gegen Tracheaimmunisierung mit Feuchtantigen ein zwanzigfach so gutes Resorptionsantigen im Blut nachweisen konnte als mit Trockenantigen. Ich konnte das durch die Trachea im Blut resorbierte Antigen in einem Fall lange Zeit nach der Antikörperbildung, und in einem anderen Fall kurze Zeit danach schwer nachweisen, im letzten Falle nämlich wurde die Reaktion undeutlich und schwand. Die Erscheinung stimmt mit den Angaben von *Hamburger* u. *Moro*, *Dehne* u. *Hamburger*, *Opie* u. a. überein, daß bei subkutaner Injektion von Antigen die Antikörperbildung später eintritt und die

Retentionszeit des Antigens länger ist. Ebenso stimmt die Tatsache, daß die im lebhaften Stadium der Antikörperbildung plötzlich verminderte Antigenität nicht nachweisbar war, mit dem Schicksal des intravenös oder intraperitoneal injizierten Antigens nach *Hamburger* und *Reuss* überein. In den Angaben dieser Forscher findet man, daß bei diesen Tieren das im lebhaften Stadium der Antikörperbildung bis jetzt nachgewiesene zirkulierende Antigen rasch verschwindet. Die Dauer des positiv nachweisbaren Antigens im Blut wurde bei Rinderserum während der Zeit vom 9.-12. Tage, bei Rinderserumpulver vom 10.-13. Tage klar nachgewiesen. Doch ist es klar, daß während der Zeit, in der man durch Präzipitation Antigen nicht nachweisen kann, noch Antigen vorhanden ist.

Es ist leicht verständlich, daß Antigen während eines gewissen Stadiums an der Trachea oder den Lungenalveolen anhaftet und durch die entsprechende Schleimhaut immer resorbiert wird. Überblicken wir die Antikörperbildung, so ist es nicht schwer verständlich, daß der Antikörper je nach der Individualität des Versuchstiers bei der Immunisierung mit Rinderserum früher oder später gebildet wurde. Bei einem erreichte der Antikörper früh den höchsten Stand und bei einem anderen erreichte er spät nach Beginn der Antikörperbildung, nach 8-13 Tagen den Höhepunkt. Die gesamte Dauer, während der Antikörper vorhanden war, betrug in den mit Rinderserum zweimal immunisierten Fällen 303-308 Tage, in den mit Rinderserumpulver zweimal immunisierten Fällen 226-246 Tage, bei den mit Rinderserumpulver einmal immunisierten Kaninchen 171-230 Tage. In einem Falle, wo wasserlösliches Antigen zweimal intratracheal eingeführt wurde, betrug der *U*'sche Titer 10,000, der Verdünnungstiter 150, die Bindungszone 500-1,000; in einem Fall einmaliger Einführung war der *U*'sche Titer 1,000-10,000, V.t.=1:50-1:100 und B.z.=1:100-1:1,000. Im Vergleich mit dem Titer bei zweimaliger Einführung sank er schnell ab. In dem Fall, wo Pulverantigen zweimal eingeführt wurde, zeigte der *U*'sche Titer 10,000-25,000, aber das Stadium 25,000 war sehr kurz. Beim Überblick über den Verdünnungstiter gibt es viele Fälle, in denen er 100 zeigte und die Bindungszone 1,000 war. In einem Fall einmaliger Einblasung war der *U*'sche Titer 2,500-5,000 und die höchste Bindungszone 500-1,000.

Wie meine Experimente zeigen, konnte ich mit Rinderserum oder Rinderserumpulver bei bloß einmaliger Einführung oder Inhalation Antikörper mäßigen Grades bilden lassen. Ich stellte fest, daß bei zweimaliger Immunisierung noch größere Mengen von Antikörpern gebildet wurden. Inbezug auf diese fand ich, daß wässriges Antigen leicht resorbiert wurde und an den Lungenalveolen und

anderen Geweben stark haftet und schon einmal eingeführtes Antigen selten wieder durch Ausatmung und Husten nach außen gebracht wurde. Dagegen wurde Antigen in trockenem Zustand, nämlich in Pulverform durch Ausatmung, Nießen oder Husten leicht wieder nach außen gebracht und war dadurch noch schwerer resorbierbar. Deshalb war der Präzipitintiter etwas niedrig und die kurze Existenzdauer des Präzipitins beruht vielleicht auf dieser Ursache. In jedem Falle fand ich durch meine Versuche wie bei anderen Immunisierungsmethoden, daß der Antikörper mit dem Beginn der Bindungszonenreaktion negativ zu werden pflegte.

Die Dauer des Bestehens von Antikörpern oder die Retentionszeit des Antigens beruht, glaube ich, auf der Individualität des Versuchstieres, auf der Angemessenheit der Immunisierungsmethode und den Antigenarten sowie der Genauigkeit der Untersuchungsmethode. Durch diese Untersuchung wird die pertracheale Antigenresorption und die allgemeine Antikörperbildung sicher nachgewiesen.

Schluß.

1. Das Erscheinen des Antigens im Blut tritt mittels Rinderserum früher auf als mittels Rinderserumpulver.
2. Die Resorptionsmenge des Antigens ist beim flüssigen Antigen ungefähr die Zwanzigfache im Vergleich zum pulverartigen Antigen.
3. Überblicken wir den antikörperbildenden Zustand: Im Fall der Verwendung von Serum als Antigen war der Präzipitintiter etwas höher als bei Verwendung von Pulver.
4. Ich konnte feststellen, daß die Retentionszeit des Antigens, wenn ich Serum benutzte, etwas länger war, als wenn ich Pulver benutzte.
5. Der Verlauf der Antikörperbildung ist im Fall der Immunisierung mit Serum etwas länger als bei der Immunisierung mit Serumpulver.

Zum Schluß erfülle ich die angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. *M. Ogata*, für seine freundliche Anregung und Leitung bei Ausführung dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- ¹ *Besredka, A.*, Ann. de l'inst. Pasteur 34, S. 361, 1920. — ² *Besnoit, Leclaince u. Morel*, Kolle-Wasserman's Handbuch d. pathogenen Mikroorganismen Bd. 11, S. 135,

480 M. Tai: Experimentelle Studien über intratracheale Immunisierung.

1913. — ³ *Schweleff*, Zeitsch. f. Immun. Ref. Bd. 3, S. 1085, 1910. — ⁴ *Blumenthal*, Ph. Berl. Kl. Wochenschr. Nr. 26, 1906. — ⁵ *Simitch, T. V.*, Zentralbl. f. Hyg. Bd. 38, H. 5, S. 312, 1936. — ⁶ *Pfenniger, W.*, Ann. de l'inst. Pasteur 35, S. 257-260, 1921. — ⁷ *Friedberger u. Mita*, Deutsch. Med. Wochenschr. H. 6, 1912. — ⁸ *Busson, B.*, Wien. Kl. Wochenschr. Nr. 43, 1911. — ⁹ *Hirose, W.*, Dai Nippon Jibi-inkoka Kaiho Bd. 29, S. 367, 1924 (Japanisch). — ¹⁰ *Endo, W.*, Okayama Igakkai Zasshi Jg. 43, Nr. 1, S. 227, 1931. — ¹¹ *Sakauchi, E.*, Keio Igaku Bd. 2, S. 798, 1922 (Japanisch). — ¹² *Okasaki, R.* u. *Saito*, Tokyo Izishinshi Nr. 253, 1923 (Japanisch). — ¹³ *Matsuda, M.*, Chiba Igakkai Zasshi Bd. 7, 1925. — ¹⁴ *Tsukada, K.*, Kekkaku Bd. 11, S. 756, 1919 (Japanisch). — ¹⁵ *Uhlenhuth u. Weidanz*, Prakt. Anleitung zur Ausführung biologischer Eiweißdifferenzierung (Jena) 1909. — ¹⁶ *Ogata, M.*, Kongreßberichte der Hyg., Mikrobiol. u. Parasitol. General-Versammlung 1927. — ¹⁷ *Hamburger u. Moro*, Wien. Kl. Wochenschr. Nr. 15, 1904. — ¹⁸ *Dehne u. Hamburger*, Ebenda Nr. 29, 1904. — ¹⁹ *Opte, E. L.*, Journ. of Immun. Vol. 8, No. 1, 1923. — ²⁰ *Hintze*, Zeitschr. f. Immun. 1910. — ²¹ *Tai, M.*, Arbeit. a. d. Med. Fakult. Okayama Bd. 5, H. 2, 1937.
