oder weniger typhusähnlichen Bacterienarten zu unterscheiden¹⁾, indem man Mischungen des specifischen Typhusserums und der Bacterien in die Bauchhöhle von circa 300 g wiegenden Meerschweinchen bringt. Bei geeigneter Versuchsanordnung verschwinden, wie man mikroskopisch verfolgen kann, die Typhusbacterien unter Bildung von Degenerationsformen aus der Bauchhöhle der Versuchsthiere, welche am Leben bleiben, während alle anderen zur Gruppe des *Bacterium coli* gehörenden, zum Theil sehr typhusähnlichen Bacillenarten durch das Serum nicht stärker beeinflusst werden, als durch dieselbe Dosis normalen Serums. Wir benutzen hier also zur Differentialdiagnose die specifisch-bactericiden Wirkungen des Typhusserums, welche im Thierkörper zutage treten. Diese Differenzirungsmethode, welche in der Hand des Geübten durchaus eindeutige Resultate liefert, erfordert indessen nicht unbedeutende Kenntnisse der Experimentirtechnik und bereitet oft ziemliche Schwierigkeiten, die ihren Grund hauptsächlich in der wechselnden Virulenz der Typhusculturen und in den nur durch Controllversuche in jedem Falle genau festzustellenden Wirkungen des normalen Serums, welche leicht Pseudoreactionen vortäuschen können, besitzen. Es lässt sich aber, wie wir gezeigt haben, für jede, auch die virulenteste Typhuscultur eine Dosis des Typhusserums ermitteln, bei der die Reaction der Typhusbacillen erfolgt, während sie bei der gleichen Dosis normalen Serums ausbleibt. Aber diese Feststellung bedingt oft nicht unbeträchtlichen Thier- und Zeitverlust.

Aus diesem Grunde müsste es als eine grosse Vereinfachung der Methode der Prüfung von Culturen mittels Immunserums zu betrachten sein, wenn es gelänge, auch ausserhalb des Thierkörpers die specifischen Eigenschaften des Typhusserums diagnostisch zu verwerthen.

Zuerst hatten Issaeff und Ivanoff bei ihren unter R. Pfeiffer's Leitung angestellten Untersuchungen²⁾ über die Immunisirung der Meerschweinchen gegen den *Vibrio Ivanoff* gefunden, dass diese in das unverdünnte Blutserum der gegen den *Vibrio Ivanoff* immunisirten Meerschweinchen eingesäten Vibrionen sich im Reagensglase bei 37° C zu Flocken zusammenballen und zu Boden sinken, während die Flüssigkeit darüber klar und durchsichtig bleibt. Das Serum normaler Meerschweinchen verhält sich ganz anders, indem die Vibrionen sich darin schnell vermehren und schon nach vier- bis fünfständigem Aufenthalt bei 37° C die ganze Flüssigkeit trüben und gleichzeitig ein zartes Häutchen auf der Oberfläche bilden. Wir wissen jetzt, dass dieser *Vibrio Ivanoff* wahrscheinlich nichts weiter war, als eine unbeabsichtigt durch Desinfectionsversuche künstlich erzeugte morphologische Varietät des echten *Cholera* bacillus.

Nachdem R. Pfeiffer durch seine Immunisierungsarbeiten an Ziegen und Meerschweinchen in den Besitz ausserordentlich wirksamen Choleraserums gekommen war, wurde von ihm festgestellt, dass diesem Serum auch in ziemlich starken Verdünnungen im Reagensglase noch erhebliche entwicklungshemmende Wirkungen innewohnen, die sich durch Unbeweglichwerden der hineingesäten Cholera culture und durch Zusammenballen derselben zu mikroskopisch sichtbaren Flöckchen geltend machen. Es ist diese Eigenschaft des Choleraserums von ihm erst kürzlich wieder mit folgenden Worten hervorgehoben:³⁾ „Ich verfüge über ein von immunisirten Ziegen gewonnenes Choleraserum, welches in der Dosis von $\frac{1}{15}$ mg die in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmte Quantität von 2 mg virulenter Cholera culture im Peritoneum der Meerschweinchen zur glatten Auflösung bringt, das also in einer Verdünnung von 1 : 15000 intensive bactericide Effecte ausübt. Wenn ich dasselbe Serum im Verhältniss von 1 : 100 mit Bouillon verdünne und dann in 1 ccm dieser Mischung 2 mg Cholera culture hineinsäe, so ist, wenn diese Aufschwemmung im Reagensglase der Brutwärme ausgesetzt wird, nur eine deutliche Entwicklungshemmung zu constatiren, indem die Vibrionen sich zu grösseren, wenig beweglichen Conglomeraten zusammenballen; aber eine Abtödtung der Kommabacillen tritt nur in geringem Maasse ein, vielmehr beginnt allmählich eine Vermehrung der Mikroorganismen, die innerhalb 24 Stunden zu starker Trübung und Häutchenbildung führt.“

Diese Wirkungen des Choleraserums sind aber unvergleichlich viel geringer, als die specifischen bactericiden Effecte, welche unter seinem Einfluss im Thierkörper sich abspielen. Sie werden bei noch weiter getriebenen Verdünnungen des Serums, welche aber im Peritoneum der Meerschweinchen noch die intensivste Vibrionenauflösung hervorrufen, im Reagensglase sehr bald unmerklich. So liess sich constatiren, dass in einem Gemisch von ein Theil Choleraserum (Titre $\frac{1}{15}$ mg) auf 1000 Bouillon die Entwicklungshemmung nur noch angedeutet war, während in einer Verdünnung

VI. Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.
Direktor: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.

Zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen vermittels Serums der gegen Typhus immunisirten Thiere.

Von Prof. R. Pfeiffer und Dr. W. Kolle.

Mit Hülfe des Serums von Typhusreconvalescenten oder von Thieren, die mit lebenden oder abgetödteten Typhusbacterien immunisirt sind, ist man, wie wir ausführlich dargelegt haben, imstande, die Typhuserreger von den Colibacillen sowie anderen mehr

¹⁾ R. Pfeiffer und W. Kolle, Ueber die specifische Immunitätsreaction der Typhusbacillen. Zeitschr. f. Hyg. und Infectionskrankheiten, Bd. 21.

²⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infectionskrankheiten Bd. 17, S. 122.

³⁾ Deutsche med. Wochenschr. 1896, No. 7 u. 8.

des gleichen Serums auf 1 : 5000 die hineingesäten Cholera-Bakterien von vornherein schwärmten und wucherten. Es soll jedoch auf die theoretische Bedeutung dieser Phänomene hier nicht eingegangen werden, vielmehr wird R. Pfeiffer darauf in einer grösseren Publication zurückkommen.

Der Gedanke lag nahe, die entwicklungshemmenden Einflüsse des Choleraserums, welche, da sie durch die spezifischen Antikörper der Cholera bedingt sind, gleichfalls spezifischer Natur sein müssen, zur Differentialdiagnose der Cholera-Bakterien im Reagensglase zu benutzen. In der That haben eine grössere Zahl von Untersuchungen, die R. Pfeiffer und Dr. Vagedes in dieser Richtung angestellt haben, die Berechtigung dieser Vermuthung vollauf bestätigt.

Nachdem für die Cholera die Möglichkeit, auf dem hier angegebenen Wege im Reagensglase die Cholera-Bakterien von allen anderen Vibrionenarten auf leichte Art und Weise zu unterscheiden, bewiesen war, konnte mit Aussicht auf Erfolg die Anwendung dieser Methode auch bei den Typhusbacillen versucht werden.

Die Vorbedingung für die nun zu beschreibenden Versuche ist der Besitz eines möglichst wirksamen Typhusserums. Wir hatten von Ziegen ein derartiges Serum gewonnen, welches sich ungefähr zehnmal stärker wirksam erwies, als es durchschnittlich das Serum von Typhusreconvalescenten ist. Der Titre betrug 2 mg. Das Serum war mit $\frac{1}{2}\%$ Phenol conservirt. Es war daher nothwendig, um die desinficirenden Wirkungen der Carbol-säure auszuschalten, Verdünnungen des Serums anzuwenden, bei welchen der Gehalt desselben an Phenol die Versuche nicht mehr in irgendwie merklicher Weise beeinflusste. Wir überzeugten uns durch Controllversuche, dass dies bereits bei einer Verdünnung des Serums von 1 : 40 mit Bouillon der Fall war. Um jeden Irrthum zu vermeiden, wurden stets Controllversuche mit entsprechenden Verdünnungen des gleichfalls mit Carbol versetzten Cholera-Ziegenserums angestellt.

Abgemessene Quantitäten (1 ccm) der Verdünnungen des Typhus- und Choleraserums wurden nun mit je einer Oese (= 2 mg) der fraglichen Cultur beschickt und im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt. Nach Ablauf einer Stunde sind oft schon makroskopisch sichtbare Verschiedenheiten die bis zur vierten Stunde nach der Einsaat sich noch steigern, in den Serumproben festzustellen. Im Laufe der dann folgenden Zeit verwischen sich dieselben, wohl dadurch, dass die entwicklungshemmenden Stoffe zerstört werden, und nach 24 Stunden sind die anfänglichen Unterschiede meist völlig ausgeglichen: beide Serumproben sind gleichmässig getrübt. Die anfänglichen Verschiedenheiten lassen sich, wie folgt, kennzeichnen. In dem mit Typhuscultur beschickten Typhusserum sind die Bacillen zu feinen, weisslichen Flocken zusammengeballt, welche sich meist am Boden des Glases angesammelt haben, während die darüber befindliche Flüssigkeit entweder leicht getrübt oder fast klar ist. Im Gegensatz hierzu ist das mit Typhusbakterien beschickte Choleraserum gleichmässig und intensiv getrübt. Proben beider Sera im hängenden Tropfen mikroskopisch untersucht, zeigen gleichfalls augenfällige Unterschiede. Die in das Typhusserum eingesäten Typhusbakterien erscheinen sämtlich unbeweglich und liegen, wie man am besten bei schwacher Vergrösserung erkennt, in Haufen zusammengeballt. Im Choleraserum (Titre $\frac{1}{2}$ mg) dagegen bilden Typhusculturen eine gleichmässige und starke Trübung, die durch grosse Mengen lebhaft beweglicher Stäbchen hervorgerufen wird. Die bisher von uns geprüften Bacterium coli-Arten, gleichgültig, ob sie Säuren oder Alkali produciren, zeigen eine derartige Differenz nicht. Die beweglichen Bacterium coli-Arten zeigen dabei auch im Typhusserum ihre volle Beweglichkeit.

Es scheint demnach in der That, als ob in dieser einfachen, in jedem Laboratorium leicht auszuführenden Methode ein differential-diagnostisches Mittel von praktischer Bedeutung gefunden wäre. Wir haben bisher sämtliche uns zur Verfügung stehenden Typhus- und Bacterium coli-Culturen durchgeprüft, stets mit eintedigem Resultat.

Man sieht, auch hier handelt es sich um eine Verwendung spezifischer Serumwirkung. Während aber die Methoden, welche den Thierkörper zur Reaction benutzen, schon im weitesten Umfange geprüft und im vollsten Maasse als zuverlässig gefunden worden sind, muss die hier mitgetheilte Methode erst noch ihre Feinerprobe an möglichst zahlreichen Culturen der verschiedensten Herkunft und Virulenz bestehen.

In den Fällen, wo sie zu eintedigen Resultaten nicht führen sollte, ist unseres Erachtens die spezifische Reaction im Thierkörper heranzuziehen und ihr die ausschlaggebende Bedeutung zuzuerkennen. Wir fordern alle diejenigen, welche im Besitz von Sammlungen von Typhus- und typhusähnlichen Bacterienculturen sich befinden, auf, an eine Nachprüfung dieser unserer Angaben heranzutreten und sind gern bereit, Proben der von uns benutzten Sera abzugeben.