[Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]

Untersuchungen über die künstliche Immunität gegen Cholera.¹

Von

Dr. Issaeff.

I.

Die Immunität gegen die Cholera ist trotz zahlreicher Untersuchungen in vielen Beziehungen noch nicht aufgeklärt. Die Widersprüche der Autoren, welche sich mit der Bearbeitung dieses Problems beschäftigt haben, beziehen sich auf ganz wesentliche Punkte. Deshalb muss man sich fragen, ob nicht der Modus operandi die hauptsächlichste Ursache dieser Widersprüche bildete? In der That hat Niemand der Autoren, R. Pfeiffer und Wassermann ausgenommen, bis jetzt der sorgfältigen Dosirung des Virus bei den Thierversuchen die nöthige Aufmerksamkeit geschenkt.

R. Pfeiffer's und Wassermann's² Untersuchungen über den bei Meerschweinchen durch die Vibrionen hervorgerufenen toxico-infectiösen Charakter der Krankheit, über das Wesen der künstlichen Immunität der Meerschweinchen gegen die Cholera, über die Toxine des Choleravibrio, spielen bei der Erklärung der Immunität gegen Cholera eine ausserordentlich wichtige Rolle.

Gruber und Wiener³ betrachten die Meerschweinchencholera als eine allgemeine Infection, ferner behaupten diese Autoren, dass die abgetödteten

¹ Eingegangen am 20. Januar 1894.

² R. Pfeiffer und A. Wassermann, Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität. *Diese Zeitschrift*. 1893. Bd. XIV. — A. Wassermann, Ueber Immunität gegen Cholera asiatica. *Ebenda*. Bd. XIV.

³ Gruber und Wiener, Cholerastudien. *Archiv für Hygiene*. Bd. XV.

Cholera culturen nach intraperitonealer Einverleibung selbst in grossen Dosen Meerschweinchen nicht wesentlich krank zu machen, geschweige denn zu tödten vermöchten.

Nach den Beobachtungen von Klemperer, Lazarus, Gamaleia u. A. besitzt das Blut gegen Cholera immunisirter Meerschweinchen eine antitoxische Eigenschaft. Pawlowsky¹ giebt an, es sei ihm gelungen, die Antitoxine aus dem Blute gegen Cholera vaccinirter Thiere in Form eines amorphen Pulvers zu isoliren. Dagegen stellen Pfeiffer und Wassermann die Neutralisationsfähigkeit des Blutes immunisirter Versuchsthiere gegen die Cholera toxine in Abrede.

Ein besonderes Interesse bieten die Untersuchungen von Lazarus² über die specifischen Eigenschaften des Blutes von Menschen, welche die Cholera überstanden haben, dar. Nach ihm reichen minimale Quantitäten dieses Blutes, wie z. B. 0.0001 ^{ccm}, bei intraperitonealer Einverleibung aus, um die Thiere gegen Cholera infection vom Peritoneum aus zu schützen. Die Beobachtungen von Lazarus wurden von Klemperer, Wassermann u. A. bestätigt. Auch Metschnikoff³ stellt diese Eigenschaft des Blutes cholera geheilter Menschen nicht in Abrede, aber auf Grund zahlreicher Versuche mit dem Blute gesunder Personen, welche nie an Cholera gelitten hatten, sowie mit demjenigen von Cholera reconvalescenten, kommt er zu dem Schlusse, dass diese aussergewöhnliche Eigenschaft sehr selten im Laufe der Cholera des Menschen beobachtet wird und in Folge dessen nur die Bedeutung eines zufälligen Phänomens besitzt.

Nicht weniger in Widerspruch stehen die Ansichten der Autoren über die Ursachen der Immunität gegen Cholera. Sobernheim⁴ will sie in der bactericiden Eigenschaft des Blutes gefunden haben, Klemperer, Pawlowsky u. A. dagegen suchen sie in den antitoxischen Eigenschaften desselben. Pfeiffer und Wassermann schreiben die Resistenz gegen die intraperitoneale Cholera infection, welche bei der activen oder passiven Immunität der Meerschweinchen von ihnen constatirt wurde, bactericiden Functionen zu, bei welchen die Zellenreaction des Organismus sicherlich eine wesentliche Rolle spielt.

¹ Pawlowsky und Buchstab, Zur Immunitätsfrage und Blutserumtherapie gegen Cholera infection. *Deutsche medicinische Wochenschrift*. 1893. Nr. 22.

² Lazarus, Ueber antitoxische Wirksamkeit des Blutserums Cholera geheilter. *Berliner klinische Wochenschrift*. 1892. Nr. 43—44.

³ Metschnikoff, Recherches sur le cholera et les vibrions. *Annales de l'Institut Pasteur*. 1893. Nr. 5.

⁴ Sobernheim, Experimentelle Untersuchungen über Cholera gift. *Diese Zeitschrift*. 1893. Bd. XIV.

Der Zweck der nachfolgenden Arbeit, die ich, einer Aufforderung des Hrn. Prof. Dr. R. Pfeiffer folgend, unternommen habe, war diese Controverse, besonders im Gebiete der Choleraimmunität, einem erneuten Studium zu unterwerfen. An dieser Stelle halte ich es für meine Pflicht, Hrn. Prof. Dr. R. Pfeiffer meine herzliche Dankbarkeit für sein lebenswürdiges Entgegenkommen während meiner Untersuchungen im Institut auszusprechen.

Bevor ich zur Beschreibung meiner Versuche übergehe, ist zu bemerken, dass es ganz unerlässlich ist, ehe man zum experimentellen Studium der Cholera schreitet, die Virulenz des *Vibrio*, mit welchem man zu experimentiren hat, sehr genau zu bestimmen und ihn so genau als möglich zu dosiren — sonst gelangt man zu ganz falschen Deutungen.

Das Virus, welches ich bei meinen Forschungen benutzte, habe ich von Hrn. Prof. Dr. R. Pfeiffer erhalten. Der *Vibrio* besass alle Eigenschaften eines typischen Cholera-microbions, war pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen bei intraperitonealer Einspritzung, nicht aber vom Subcutangewebe aus und nicht pathogen für Tauben in Dosen von einer Oese.¹ Die Versuche wurden ausschliesslich mit 18- bis 20 stündigen Agarculturen des *Vibrio* angestellt. Als Dosirungsmaass diente mir eine Platinöse, welche 2^{mgr} der Agarcultur fasste. Die sehr bedeutende Virulenz wurde von Zeit zu Zeit durch Passagen durch Meerschweinchen gleichmässig erhalten. Als minimalste, absolut sicher tödtliche Dosis für Meerschweinchen von 200^{grm} Gewicht hat sich 0.16^{mg} oder $\frac{1}{12}$ Oese ergeben, bei kleineren Dosen ungefähr von 0.13^{mgr} treten stets Intoxicationerscheinungen auf, welche jedoch überstanden wurden.

II.

Es ist nicht schwer, sich von dem toxisch-infectiösen Krankheitscharakter der intraperitonealen Cholera-infection bei Meerschweinchen zu überzeugen. Die Frage nach der Pathogenese der Cholera ist durch R. Pfeiffer und Wassermann sehr genau bearbeitet. Injicirt man grosse Dosen, z. B. $\frac{1}{2}$ Oese des Cholera-vibrio intraperitoneal, dann findet man bei den Thieren die Bakterien in grossen Mengen frei im Peritoneum, in geringerer Zahl im Blute, gelegentlich auch vereinzelt im Darm. Diejenigen Meerschweinchen dagegen, welche mit der minimalsten tödtlichen Dosis $\frac{1}{13}$ oder $\frac{1}{14}$ Oese des Virus inficirt werden, sterben an einer reinen Intoxication, das Peritoneum wird alsdann entweder völlig steril gefunden,

¹ Die betreffende Cultur hatte bei Anstellung der Taubenversuche zahlreiche Passagen durch den Meerschweinchenkörper gemacht, hatte aber dadurch für diese Thierspecies trotzdem in den angewandten Dosen keine Virulenz erhalten.

oder es lassen sich in demselben nur vereinzelte Vibrionen nachweisen. Blut und Darminhalt sind in diesen Fällen steril.

Der Krankheitsverlauf bei mit tödtlichen Dosen des Virus inficirten Thieren wird immer von schweren Intoxicationssymptomen, charakteristischem Temperaturabfall, manchmal bis 26° C., begleitet. Kleine nicht tödtliche Dosen, wie z. B. $\frac{1}{50}$ bis $\frac{1}{80}$ Oese, rufen nur eine geringe Reaction des Organismus der inficirten Meerschweinchen, eine Temperatursteigerung von kurzer Dauer hervor. Sechs oder sieben Stunden nach Inoculation solcher kleiner Dosen genesen die Thiere und zeigen dann eine beträchtliche Resistenz gegen das Choleravirus. Der Grad der Resistenz, welchen das Thier nach der Wiederherstellung von der intra-abdominalen Schutzimpfung erlangt, ist in den ersten 24 Stunden bei Weitem beträchtlicher als 8 bis 10 Tage nach der Inoculation. Bei durch subcutane Injection immunisirten Thieren kommt diese Erscheinung schwächer zum Ausdruck.

Der höchste Grad der Immunität bei Meerschweinchen wird erst nach der sechsten und siebenten Inoculation erreicht. Die Zeit zwischen zwei aufeinanderfolgenden Inoculationen darf nicht kürzer als 4 bis 5 Tage sein. Die Dosis für die erste Inoculation beträgt $\frac{1}{15}$ Oese, für die folgenden nicht weniger als 1 Oese, weitere, besonders aber auch zu rasch aufeinanderfolgende Impfungen steigern nicht die Immunität, sondern wirken nicht selten recht ungünstig, indem sie die Erschöpfung der Thiere herbeiführen. Diejenigen Virusdosen, welche eben noch vertragen werden, sind für die durch intraperitoneale Injectionen immunisirten Meerschweinchen, in den ersten Tagen nach der Schutzimpfung, etwas grösser als diejenigen für die durch subcutane Impfungen immunisirten. Am stärksten ist die Resistenz der intraperitoneal vorbehandelten Thiere, 24 Stunden nach der letzten Inoculation. In den folgenden 8 bis 10 Tagen nimmt die Resistenz nach und nach, und zwar in beträchtlichem Grade, ab. Nach Ablauf dieser Zeit macht sich mindestens während $1\frac{1}{2}$ bis 2 Monaten, vielleicht auch noch länger, keine weitere Abschwächung der Immunität bemerkbar. Auch der ebenerwähnte Unterschied in der Quantität des Virus, welches vertragen wird bei intraperitoneal oder subcutan immunisirten Thieren, ist nur im Verlaufe der ersten 8 bis 10 Tage nach der letzten Schutzimpfung bemerkbar. Besonders deutlich ist dieser Unterschied 24 Stunden nach der letzten Inoculation ausgesprochen. Acht oder zehn Tage nach der Schutzimpfung gleicht sich der Immunitätsgrad der intraperitoneal und subcutan immunisirten Thiere aus, unter sonst gleichen Bedingungen, und die maximale nicht tödtliche Dosis übersteigt in diesem Falle nicht 2.5 mg oder $1\frac{1}{2}$ Oese für 100 g^m Körpergewicht, d. h., sie ist 35- bis 40 mal grösser als die minimale für normale Meerschweinchen eben

tödliche Dosis. Selbstverständlich sind die angegebenen Zahlen relativ und entsprechen nur dem Virulenzgrade der von mir benutzten Cholera-cultur.

Aus Obigem erhellt, dass meine Ergebnisse sich mit denen R. Pfeiffer's, soweit sie die gleichen Punkte berühren, völlig decken.

Bei den mit bedeutenden Virusdosen inoculirten immunisirten Thieren zeigt der Verlauf des Krankheitsprocesses ganz dieselben Symptome wie bei nicht immunisirten, mit kleinen Dosen inficirten Thieren. Der Unterschied besteht nur in der Quantität der Anfangsdosis. Die immunisirten Meerschweinchen vertragen, wie ich oben schon gesagt habe, 10 Tage nach der letzten Schutzimpfung nicht mehr als 2.5^{mg} pro 100^g Gewicht und zeigen dabei eine sehr ausgesprochene durch den Temperaturabfall charakterisirte Krankheitsreaction, was auf eine typische Intoxication des Thieres hindeutet. Sogar nach 10 bis 12 Inoculationen bleibt der Charakter der Krankheitsreaction unverändert. Dosen von 3 bis 3.5^{mg} pro 100^g Gewicht sind stets auch für die hochimmunisirten Meerschweinchen letal. Mit solchen Dosen inficirte Thiere starben an Intoxication. Peritonealexsudat, Blut und Gewebe solcher Thiere erwiesen sich steril post mortem. Bei noch grösseren Virusdosen, z. B. 4 bis 5^{mg} pro 100^g Gewicht, findet man bei den hochimmunisirten Thieren eine allgemeine Infection des Organismus. Der Nachweis von Vibrionen im Blute und in allen Organen der gestorbenen Thiere ist in diesen Fällen leicht zu führen.

Schon aus dem Verlaufe des Krankheitsprocesses bei immunisirten und nicht immunisirten Thieren erhellt, dass die Immunität gegen Cholera nicht etwa von Antitoxinenbildung im Blute vaccinirter Thiere begleitet wird. Die Intoxicationssymptome immunisirter Meerschweinchen nach Infection derselben mit frischen Culturen sind immer scharf ausgesprochen und deshalb hat man keinen Grund, eine die Toxine der Vibrionen neutralisirende Fähigkeit des Blutes anzunehmen. Uebrigens will ich dieser Frage bei der Besprechung der zu ihrer Klarstellung angestellten Versuche eine grössere Aufmerksamkeit schenken.

III.

Die immunisirende Wirkung des Blutes von Menschen, welche die Cholera überstanden haben, bietet gewiss in vielen Beziehungen ein grosses Interesse dar. Ich habe diesem Studium eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Meine Untersuchungen erstrecken sich auf eine ganze Reihe von Personen, welche theils die echte Cholera überstanden, theils an verschiedenen anderen Krankheiten gelitten hatten, zum Theil überhaupt nicht krank gewesen waren.

Nach Metschnikoff's¹ Angaben werden specifisch immunisirende Eigenschaften im Blute von choleraegeheilten Personen sehr selten beobachtet. In der Mehrzahl der Fälle schützt nach ihm die Injection derartigen Blutes die Meerschweinchen gegen Cholerainfektion nicht stärker als die Injection des Blutes gesunder Menschen. Die immunisirende Eigenschaft des Blutes in den letzten Fällen bildet für Metschnikoff ein Räthsel. Um eine Erklärung zu geben, wirft der Autor die Frage auf, ob nicht das Blut diese seine merkwürdige Eigenschaft etwa der Wirkung verschiedener nicht pathogener, und nicht selten im Darminhalt gesunder Menschen hausender Vibrionen, zu danken hat?

Ich habe das Blut von vier gesunden Menschen, welche nie an einem Choleraanfall gelitten haben, untersucht und zwar das Blut des Hrn. Dr. W., Dr. J., einer 40 Jahre alten Dame und eines 16 jährigen Mädchens.

Blut kranker Menschen wurde entnommen von: 1. einem Rheumatiker, in der acuten Periode der Krankheit, 2. einem Pneumoniker im postkritischen Stadium der croupösen Pneumonie, 3. einer Typhuskranken in der zweiten Krankheitswoche, 4. einer an acuter Polyarthritis leidenden Dame. Dazu kam noch 5. das Blut eines an chronischem Darmkatarrh gestorbenen Kindes.

Das Blutserum, mit allen Vorsichtsmaassregeln der Asepsis getrennt, wurde in Quantitäten von 0.1 bis 5.0 ^{cem} Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Die Einspritzungen führte ich 24 Stunden vor der Infection der Thiere mit Cholera aus. Die Virusdosen für die Infection waren in den verschiedenen Versuchen verschieden und bewegten sich zwischen 1 bis 2 ^mg oder $\frac{1}{2}$ bis 1 Oese einer 18—20 stündigen Agarcultur (s. Tab. I).

Die Resultate obiger Versuche fasse ich in Folgendem zusammen:

Meerschweinchen, welchen 1 bis 1.5 ^{cem} des Blutserums eingespritzt wurde, ertrugen leicht eine Infection von $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Oese der Cholera-cultur, alle diese blieben am Leben. Von den mit 1 Oese inficirten Thieren starb der grösste Theil.

Von 17 Meerschweinchen, welche eine Schutzimpfung mit Blutserum in einer kleineren Quantität als 1 ^{cem} bekamen, blieben 8 am Leben und 9 starben an der Cholerainfektion. Auch bei sehr geringer Serumdosis war ein Effect nach der Richtung ersichtlich, dass der Tod der Thiere immer später als bei den Controlthieren eintrat.

Bei der Obduction der Controlthiere, sowie der mit Blutserum vorbehandelten, wurde immer ein mehr oder weniger scharfer Unterschied im Grade der Krankheitsentwicklung beobachtet. Die Meerschweinchen, welchen Blutserum in Dosen von 0.5 bis 1.5 ^{cem} eingespritzt wurde,

¹ Metschnikoff, a. a. O.

Tabelle Nr. I.

Einfluss der Blutseruminjection gesunder oder an verschiedenen Krankheiten leidender Menschen auf die Choleraunempfindlichkeit der Meerschweinchen.

In's Peritoneum							
Nummer der Versuche	Nr. der Meerschweinchen	Körpergewicht gram	Menge des injizierten Serums ccm	Zeit der Infektion Std.	Dosis	Bemerkungen	Erfolg
Nr. 1 Blutserum des gesund. Menschen Dr. J.	I	290	0.25	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intra- peritoneal	charakteristisch. Temperatur- abfall bis zu 32.4°	lebt
	II	320	0.5			Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt
	Control.	300	—			totd 12 Std. nach Virusein- spritzung an allgemeiner Injection	†
Nr. 2 Blutserum des gesund. Menschen Dr. J.	I	320	0.1	24	1 Oese Cholera intraperit.	nach 12 Std. todt.	†
	II	240	0.25			Allgemeine Infektion nach 15 Sdt. todt.	†
	Control.	270	—			Allgemeine Infektion nach 9 Std. todt.	†
Nr. 3 Blutserum des gesund. Menschen Dr. W.	I	250	0.1	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraperit.	nach 18 Std. todt.	†
	II	300	0.25			Localaffection	†
	Control.	320	—			Temperaturabfall b. z. 29.5	lebt
Nr. 4. Blutserum des gesund. 16 jährigen Mädchens	I	450	0.1	24	1 Oese Cholera intraperit.	Allgemeine Infektion	†
	II	340	0.25			Localaffection	†
	III	350	0.5			Localaffection	†
Nr. 5. Blutserum der gesund. 40 jährigen Frau	I	230	0.75	24	1 Oese Cholera intraperit.	Allgemeine Infektion	†
	II	300	0.75			Localaffection	†
	III	210	1.5			Localaffection	†
Nr. 6 Blut- serum eines Rheumatik.	I	230	0.5	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	Intoxication. Perit. steril.	†
	II	280	1.0			Allgemeine Infektion	†
	Control.	270	—			Temperaturabfall b. z. 30.1	lebt
Nr. 7 Blut- serum dess. Rheumatik.	I	320	0.1	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraperit.	„ „ 30.5	lebt
	II	250	0.25			Allgemeine Infektion	†
	Control.	250	—			Localaffection	†
Nr. 8 Blut- serum einer an croupös. Pneumonie leid. Dame	I	320	0.1	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	Temperaturabfall b. z. 34.0	lebt
	II	320	0.5			Allgemeine Infektion	†
	III	280	1.5			Temperaturabfall b. z. 33.0	lebt
Nr. 9 Blut- serum eines a. Darmkat. gest. Kindes	I	310	0.5	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraperit.	„ „ 34.0	lebt
	II	270	1.5			Allgemeine Infektion	†
	Control.	280	—			Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt

gingen vorzugsweise an Intoxication zu Grunde und boten ein fast steriles Peritonealexsudat dar. Bei mit geringen Serummengen, etwa 0.1^{ccm}, vorbehandelten Thieren beobachtete ich manchmal die Symptome einer allgemeinen Infection des Organismus, aber die Zahl der Vibrionen im Blute und in anderen Organen war immer sehr gering. In der Mehrzahl der Fälle beschränkte sich der Krankheitsprocess nur auf die Localaffection, das heisst, es liessen sich die Cholera-vibrionen nur im Peritonealexsudate nachweisen. Alle Controlthiere dagegen starben unvermeidlich an einer allgemeinen Infection, wobei das Blut und das Peritonealexsudat grosse Mengen von Kommabacillen enthielten.

Auf Grund dieser Versuche kam ich zu folgendem Schluss: Das Blutserum gesunder oder an verschiedenen Krankheiten leidender Menschen giebt Meerschweinchen, wenn es in Mengen von 0.1 bis 1.5^{ccm} intraperitoneal eingespritzt wird, 24 Stunden nach der Injection, immer einen gewissen Grad von Schutz gegen die Cholera-infection vom Peritoneum, dabei entspricht der Grad der Unempfänglichkeit der Menge des eingespritzten Serums, aber diese Schutzkraft äussert sich nur gegen Dosen der lebenden Bakterien, welche höchstens 12 bis 15 mal die für normale Meerschweinchen tödtliche Minimaldosis meiner Cultur übertrifft.

Als Beispiel führe ich folgende Versuchsreihe an:

Versuch Nr. 10.

Es erhielten: **Meerschweinchen**

I 195 grm	II 190 grm	III 170 grm	Controlthier 200 grm
0.1 ^{ccm} Serum des gesunden Menschen Dr. J. intraperitoneal eingespritzt	0.5 ^{ccm} desselben Serums	1 ^{ccm} desselben Serums	—
24 Stunden später: $\frac{1}{5}$ Oese Cholera-cultur intraperitoneal	$\frac{1}{3}$ Oese	$\frac{3}{4}$ Oese	$\frac{1}{10}$ Oese
Nach Ablauf von 5 Stunden Temperatur: 36.0	+ 36.3	+ 34.8	36.0
das Thier bleibt am Leben	do.	do.	† Sectionsbefund: Im Peritoneum und auf der Leber Eiterflocken. Vereinzelte Kommabacillen in Peritonealexsudat.

Der höchste Grad der Unempfänglichkeit der Meerschweinchen nach der Blutseruminjection tritt, der Menge des eingespritzten Serums entsprechend, in verschiedenen Zeitintervallen ein. So z. B. macht er sich bei Meerschweinchen, welche 0.5^{ccm} Blutserum in's Abdomen eingespritzt bekommen

hatten, etwa 17 bis 18 Stunden nach der Injection geltend. Bei den mit 1.0 ccm Blutserums Vorbehandelten ist der schützende Effect 20 bis 24 Stunden nachher am deutlichsten. Nach Ablauf dieser Fristen nimmt die Resistenz mehr und mehr ab, wobei die Reihenfolge und die Schnelligkeit dieser Abnahme in noch deutlicherer Weise sich von den Dosen des eingepfunden Serums abhängig erweisen.

Ein Blick auf die entsprechenden Versuche genügt, um uns von der Richtigkeit des Gesagten zu überzeugen.

Versuch Nr. 11.

Es erhielten: **Meerschweinchen**

I 220 grm	II 270 grm	III 250 grm	Controlthier 210 grm
1 ccm Blutserum einer an Typhus abdom. leidenden Frau intraperitoneal eingespritzt	3 ccm dess. Blutserums	5 ccm dess. Blutserums	—
24 Stunden später: $\frac{2}{3}$ Oese Cholera-cultur intraperitoneal	do.	do.	do.
Nach Ablauf von 8 Stunden Temperatur 31.0	+ 32.0°	+ 34.0°	†
das Thier bleibt am Leben	do.	do.	Sectionsbefund: Im Peritoneum seröse Flüssigkeit mit massenhaften Kommabacillen. Im Herzblute vereinz. Cholera-bakterien nachweisbar.

Versuch Nr. 12.

Es erhielten: **Meerschweinchen**

I 240 grm	II 230 grm	III 250 grm	IV 240 grm	V 320 grm	VI 330 grm	Controlth. 310 grm
0.1 ccm Blutserum einer an acut. Rheumatismus leidenden Dame, intraperitoneal eingespritzt	0.1 ccm desselben Blutserums	0.5 ccm	1 ccm	3 ccm	5 ccm	—
7 Stunden später: das Thier wurde inficirt mit Cholera-cultur in Dosis — $\frac{3}{4}$ Oese in Bauchhöhle	16 Std. später — $\frac{3}{4}$ Oese Cholera	20 Std. später $\frac{3}{4}$ Oese	24 Std. später $\frac{3}{4}$ Oese	48 Std. später $\frac{3}{4}$ Oese	72 Std. später $\frac{3}{4}$ Oese	— $\frac{3}{4}$ Oese
Inzwischen von 16 Std. das Thier ging zu Grunde † Sectionsbefund: Im Peritonealexsudat und Herzblut Kommabacillen nachweisbar	Inzwischen 24 Stunden † Sectionsbefund: Localaffection, die Cholera-bacillen nur i. Peritonealexsudate nachweisbar	das Thier bleibt am Leben	do.	do.	do.	† inzwischen v. 7 bis 8 Std. Sectionsbefund: Im Peritonealexsudate und im Herzblute zahlreiche Vibrionen nachweisbar

Versuch Nr. 13.

Es erhielten: **Meerschweinchen**

I 290 grm	II 270 grm	controlthier 250 grm
1 ^{cem} Blutserum einer an Typhus abdom. leidenden Frau, intraperitoneal eingespritzt	3 ^{cem} desselben Blutserums	—
48 Stunden später $\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperitoneal	72 Std. später $\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperitoneal	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperitoneal
† inzwischen von 12 Stunden an allgemeiner Infection	† inzwischen v. 16 Std. do.	† inzwischen von 9 Std. do.

Während also, wie aus Versuch 12 ersichtlich ist, nach der Injection von 5^{cem} Serum noch nach 72 Stunden ein gewisser Schutz vorhanden ist, sehen wir aus Versuch 13, dass dieselbe Wirkung durch 3^{cem} Serum nicht erzielt werden kann.

Aus diesen Versuchen geht hervor, dass die intraperitonealen Einspritzungen von Blutserum kranker oder gesunder Menschen in Dosen von 0.1 bis 5.0^{cem}, 24 Stunden nach der Injection, immer eine deutliche schützende Wirkung auf die intraperitoneale Cholera-infection der Meerschweinchen ausüben.

Ja noch mehr, der Harn gesunder Menschen Meerschweinchen in die Bauchhöhle eingespritzt, verleiht den Thieren eine gewisse Resistenz gegen denselben Infectionsmodus. Kleine Harnmengen, wie z. B. 0.1 bis 0.25^{cem} sind wenig wirksam. Am günstigsten wirken die Dosen von 1 bis 3^{cem}. Die mit 1 bis 2^{cem} Harn vorbehandelten Thiere ertragen eine Virusdosis, welche die für gesunde Meerschweinchen eben tödtliche Dosis 8 bis 9mal übertrifft (s. Tab. II, Versuch Nr. 14).

Aber nicht nur die Injection des Blutes und der Absonderungen des Organismus gesunder Menschen schützt die Meerschweinchen gegen Cholera-infection, ganz ähnlich wirken auch die intraperitonealen Einspritzungen verschiedener anderer Flüssigkeiten, saurer, alkalischer und neutraler Lösungen, z. B. 2 procentiger Nucleinsäurelösung, sterilisirter Bouillon, ja sogar der physiologischen Kochsalzlösung. Der Grad der Unempfindlichkeit, den die Meerschweinchen nach der Injection dieser Flüssigkeiten erlangen, ist je nach der eingespritzten Flüssigkeit verschieden. Folgende Versuche sollen dies beweisen:

1. Zwei Meerschweinchen bekamen je 1^{cem} physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal eingespritzt. Nach 24 Stunden wurden sie, das

eine mit $\frac{1}{3}$, das andere mit $\frac{1}{2}$ Oese Choleracultur inficirt. Beide Thiere überstanden die Infection, das Controlthier dagegen, welches nur mit $\frac{1}{12}$ Oese Choleracultur geimpft wurde, starb daran. Mit 1^{cem} physiologischer Kochsalzlösung vorbehandelte Thiere können jedoch keine grösseren Dosen als $\frac{1}{2}$ Oese vertragen (s. Tab. II, Vers. Nr. 15).

2. Von zwei Meerschweinchen, welchen je 1^{cem} Bouillon in's Abdomen eingebracht wurde, bekommen 24 Stunden später das eine $\frac{1}{3}$ und das andere $\frac{2}{3}$ Oese einer frischen Choleracultur. Das Controlthier, welches $\frac{1}{4}$ Oese erhielt, starb, die beiden anderen dagegen genasen. $\frac{3}{4}$ Oese Choleracultur bildet für die mit 1^{cem} Bouillon vorbehandelten Meerschweinchen die maximale nicht tödtliche Dosis (s. Tab. II, Vers. Nr. 16 bis 17).

3. Drei Meerschweinchen erhielten Bouillon in die Bauchhöhle in Dosen von 0.1, 0.5 und 1.0^{cem}. Nach Ablauf von 24 Stunden wurden sie mit folgenden Dosen des Choleravirus inficirt: $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ Oese. Das Controlthier ging an $\frac{1}{10}$ Oese zu Grunde, die übrigen überstanden den Eingriff (s. Tab. II, Vers. Nr. 18).

4. Mit 2 procentiger Nucleinsäurelösung¹ in Quantität von 1^{cem} wurden zwei Meerschweinchen vorbehandelt. Nach 24 Stunden bekam das eine $\frac{3}{4}$ und das andere $1\frac{1}{2}$ Oesen des Choleravirus. Beide blieben am Leben, das Controlthier ging zu Grunde (s. Tab. II, Vers. Nr. 19).

5. Der Vorbehandlung mit Tuberculin wurden zwei Meerschweinchen unterworfen. Dem einen wurde 0.1^{cem}, dem anderen 0.25^{cem} Tuberculin intraperitoneal injicirt. 24 Stunden später erhielten die beiden Thiere je eine Oese Choleracultur. Beide überstanden den Eingriff, das Controlthier starb (s. Tab. II, Vers. Nr. 20).

Wie aus den obigen Versuchen erhellt, ist die Wirkung intraperitonealer Injectionen aller dieser Flüssigkeiten ganz analog derjenigen der Injectionen von Blutserum gesunder oder an verschiedenen Krankheiten leidender Menschen. Der Unterschied besteht nur in dem Grade der durch diese Flüssigkeiten hervorgerufenen Unempfänglichkeit der Thiere. Den schwächsten Grad von Resistenz verleihen die Injectionen von Kochsalzlösung.

Ich möchte an dieser Stelle hervorheben, dass die intraperitonealen Bouilloninjectionen die Meerschweinchen auch gegen Infection mit anderen virulenten Vibrionen schützen, so z. B. gegen Metschnikoff's, Ivanoff's, sogar auch gegen Pfuhl's *Vibrio Nordhafen*, dessen Virulenz so bedeutend ist, dass subcutane Injectionen minimalster Dosen einer Agarcultur desselben genügen, um den Tod der Meerschweinchen herbeizuführen (siehe nachfolgende Tabelle III).

¹ Ich spreche Hrn. Dr. Kossel meinen besten Dank aus für die Bereitwilligkeit, mit welcher er mir das Nuclein von Prof. Kossel zugestellt hat.

Tabelle II.

Einfluss der Harn-, Wasser-, Bouillon-, Tuberculin- u. s. w. Einspritzungen
auf die Unempfindlichkeit der Meerschweinchen gegen die Cholera.

In's Peritoneum							
Nummer der Versuche	Nr. der Meerschwein- chen	Körper- gewicht g	Menge der in- jiziert. Flüssig- keit intraperit.	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Nr. 14 Harn der gesunden Menschen	I	300	1·0	24	$\frac{1}{2}$ Oese Chol. intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 31·6	lebt
	II	210	1·5		$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperiton.	„ 29·1	„
	III	270	2·0		$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperiton.	Localaffection	†
	IV	350	2·0		1 Oese Chol. intraperiton.	„	†
	V	250	3·0		$1\frac{1}{2}$ Oese Chol. intraperiton.	Allgemeine Infection	†
	VI	300	4·0		$1\frac{1}{2}$ Oese Chol. intraperiton.	„	†
	Control.	250	—		$\frac{1}{2}$ Oese Chol. intraperiton.	„	†
Nr. 15 Physio- logische Kochsalz- lösung	I	250	1·0	24	$\frac{1}{3}$ Oese Chol. intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 34·0	lebt
	II	270	1·0		$\frac{1}{2}$ Oese	„ 29·8	„
	III	240	1·0		$\frac{3}{4}$ Oese	Localaffection	†
	IV	260	1·0		1 Oese	Allgemeine Infection	†
	Control.	240	—		$\frac{1}{12}$ Oese	Localaffection	†
Nr. 16 Bouillon	I	270	1·0	24	$\frac{1}{2}$ Oese Chol. intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 34·5	lebt
	II	265	1·0		$\frac{2}{3}$ Oese Chol.	„ 30·2	„
	Control.	250	—		$\frac{1}{4}$ Oese Chol.	Localaffection	†
Nr. 17 dieselbe	I	240	1·0	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperiton.	Localaffection	†
	II	260	1·0		1 Oese Chol.	„	†
	Control.	255	—		$\frac{1}{2}$ Oese Chol.	Allgemeine Infection	†
Nr. 18 dieselbe	I	230	0·1	24	$\frac{1}{4}$ Oese Chol. intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 31·0	lebt
	II	250	0·5		$\frac{1}{3}$ Oese	„ 34·0	„
	III	210	1·0		$\frac{3}{4}$ Oese	„ 30·0	„
	Control.	250	—		$\frac{1}{10}$ Oese	Localaffection	†

(Fortsetzung.)

In's Peritoneum							
Nummer der Versuche	Nr. der Meerschwein- chen	Körper- gewicht	Menge der in- jicirt. Flüssig- keit intraperit.	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Nr. 19 2procentig. Nuclein- säurelös.	I	350	1	24	1½ Oese Chol. intrapériton.	Temperaturabfall b. z. 34.0	lebt
	II	320	1		¾ Oese	„ 35.0	„
	III	270	1 Oese Cholera intraperit. Nach Ablauf von ¼ Std. Temp. 37.8. Das Thier erhält 1 ^{ccm} Nucleinsäure- lösung in die Bauchhöhle.			Allgemeine Infection	†
	IV	290	1 Oese Cholera intraperit. Nach Ablauf von ½ Std. Temp. 37.0. Das Thier bekommt 1 ^{ccm} Nucleins- lösung in die Bauchhöhle.			„ „	†
	Control.	250	—	—	½ Oese Chol.	„ „	†
Nr. 20 Tuberculin	I	320	0.1	24	1 Oese Chol. intrapériton.	Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt
	II	320	0.25		1 Oese intrap.	„ 29.0	„
	Control.	260	—	—	⅓ Oese Chol. intrapériton.	Allgemeine Infection	†

Tabelle III.

Einfluss der Bouilloneinspritzungen auf Unempfänglichkeit der Meerschweinchen gegen Infection mit verschiedenen Vibrionenarten.

Nr. 21 Bouillon	I	310	1 ccm	24	1/3 Oese Vibrio Metschnikowi intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 34.5	lebt
	II	250	1 „			„ 30.0	„
	Control.	260	—	—		Allgemeine Infection	†
Nr. 22 dieselbe	I	250	1 ccm	24	3/4 Oese Vibrio Ivanoff intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt
	II	320	1 „			„ 35.0	„
	Control.	325	—	—		Allgemeine Infection	†
Nr. 23 dieselbe	I	205	3 ccm		1/8 Oes.v.Pfuhl intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 35.6	lebt
	II	215	3 „		1/8 Oes.v.Pfuhl intraperiton.	„ 34.5	„
	III	440	3 „	24	1/8 Oes.v.Pfuhl desgl.	„ 36.5	„
	IV	270	3 „		1/8 Oes.v.Pfuhl desgl.	totd n. 18 Std., allg. Infection	†
	V	205	3 „		1/4 Oes.v.Pfuhl desgl.	„ 10 „ „	†
	Control.	230	—	—	1/40 Oese von Pfuhl intrap.	„ 12 „ „	†

Es war nun die Frage, ob die schützenden Eigenschaften des Menschenblutserums, der Bouillon, des Wassers u. s. w. bei intraperitonealer Einverleibung auch hervortreten nach subcutanen Injectionen. Es ergibt sich, dass dies in der That gelingt, nur bedarf man sehr viel grösserer Dosen der Vorbehandlungsfähigkeit, und der dadurch zu erhaltende Schutzgrad ist geringer.

Die folgenden Versuche liefern für diese Behauptungen den Beweis:

1. Drei Meerschweinchen erhielten subcutan Menschenblutserum in der Quantität von 2.5, 5.0 und 10.0 ccm. Nach 24 Stunden wurden die Thiere mit entsprechenden Dosen von $\frac{1}{5}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$ Oese Choleraeultur intraperitoneal inficirt. Das Controlthier bekam nur $\frac{1}{10}$ Oese und starb daran, die übrigen blieben am Leben (s. Tab. IV, Vers. Nr. 27. Bei der Injection kleinerer Blutserummengen, sowie bei der Infection mit grösseren Virusdosen starben die Versuchsthiere (s. Tab. IV, Vers. Nr. 24 bis 26).

Tabelle IV.

Einfluss der subcutanen Menschenblutseruminjection auf die Choleraunempfindlichkeit der Meerschweinchen.

Nummer der Versuche	Nummer der Meerschweinchen	Körpergewicht gram	Menge des injicirten Serums ccm	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
s u b c u t a n							
Nr. 24 Blut eines Rheumatikers	I	230	0.5	24	1 Oese Cholera intraperit.	Allgemeine Infection	†
	II	220	1.0			Localaffection	†
	Control.	250	—			Allgemeine Infection	†
Nr. 25 Blut einer gesunden Frau	I	230	0.75	24	1 Oese Cholera intraperit.	Allgemeine Infection	†
	II	210	0.5			" "	†
	Control.	250	—			" "	†
Nr. 26 Blut einer an croupös. Pneumonie leid. Frau	I	250	2.5	24	1 Oese intraperit.	Localaffection	†
	II	270	4.5			Peritoneum steril	†
	Control.	300	—			Allgemeine Infection	†
Nr. 27 Blut des gesunden Menschen Dr. J.	I	160	2.5	24	$\frac{1}{5}$ Oese Cholera intraperit.	Temperaturabfall b. z. 35.0	lebt
	II	160	5.0		$\frac{1}{4}$ Oese intraperit.	" " 35.2	lebt
	III	170	10.0		$\frac{1}{2}$ Oese intraperit.	" " 35.0	lebt
	Control.	190	—		$\frac{1}{10}$ Oese intraperit.	Localaffection	†

2. Drei Meerschweinchen erhielten Bouillon subcutan und zwar in Mengen von 5, 10 und 15^{cem}. 24 Stunden später intraperitoneale Injection von Choleravirus in Quantitäten von $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{2}{3}$ Oese. Das Controlthier starb nach $\frac{1}{12}$ Oese derselben Cultur, die drei übrigen überstanden den Eingriff. Bouilloninjectionen von 20 bis 25^{cem} wirken etwas energischer. Bei Injection kleinerer Mengen von Bouillon, sowie bei Anwendung grösserer Virusdosen gingen die Thiere stets zu Grunde (s. Tab. V, Vers. Nr. 28 bis 30).

Tabelle V.

Einfluss der subcutanen Bouilloninjection auf die Choleraunempfänglichkeit der Meerschweinchen.

Nummer der Versuche	Nummer der Meerschweinchen	Körpergewicht gram	Menge der injicirten Bouillon cem	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
s u b c u t a n							
Nr. 28 Bouillon	I	230	2	24	$\frac{1}{3}$ Oese Chol. intraperit.	Localaffection	†
	II	200	4		$\frac{2}{3}$ Oese Chol. intraperit.	Allgemeine Infection	†
	III	220	8		1 Oese Chol. intraperit.	„	†
	Control.	230	—		$\frac{1}{10}$ Oese Chol. intraperit.	Localaffection	†
Nr. 29 dieselbe	I	260	5	24	$\frac{1}{3}$ Oese Chol. intraperit.	Temperaturabfall b. z. 33.0	lebt
	II	250	10		$\frac{1}{2}$ Oese Chol. intraperit.	„ 33.0	lebt
	III	230	15		$\frac{2}{3}$ Oese Chol. intraperit.	„ 32.0	lebt
	Control.	240	—	—	$\frac{1}{12}$ Oese Chol. intraperit.	Localaffection	†
Nr. 30 dieselbe	I	250	25	24	$\frac{2}{3}$ Oese Chol. intraperit.	Temperaturabfall b. z. 36.0	lebt
	II	240	25		$\frac{1}{3}$ Oese Chol. intraperit.	„ 36.3	lebt
	III	290	20		$\frac{1}{3}$ Oese Chol. intraperit.	„ 36.5	lebt
	Control.	330	—	—	$\frac{1}{10}$ Oese Chol. intraperit.	Localaffection	†

3. Drei Meerschweinchen bekamen je 20^{cem} Kochsalzlösung subcutan. Nach 24 Stunden wurden das eine mit $\frac{1}{10}$, das zweite mit $\frac{1}{7}$ und das dritte mit $\frac{1}{5}$ Oese Cholera intraperitoneal inficirt. Das Controlthier erhielt $\frac{1}{12}$ Oese. Die ersten drei genasen, das letztere erlag der Infection.

$\frac{1}{5}$ Oese bildet die höchste nicht tödtliche Choleradosis für die mit physiologischer Kochsalzlösung subcutan vorbehandelten Meerschweinchen (s. Tab. VI, Vers. Nr. 31 bis 32).

Tabelle VI.

Einfluss der subcutanen Injection von physiologischer Kochsalzlösung auf Choleraunempfindlichkeit der Meerschweinchen.

Nr. der Versuche	Nr. der Meerschweinchen	Körpergewicht gmm	Menge der injizierten physiolog. Kochsalzlös. ccm	Zeit der Infektion Std.	Cholera-Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Subcutan							
Nr. 31 Physiologische Kochsalzlös.	I	280	8		$\frac{1}{5}$ Oese Chol. intraperit.	Peritoneum fast steril	†
	II	260	15	24	$\frac{1}{4}$ Oese intraperit.	Localaffection	†
	III	270	20		$\frac{1}{2}$ Oese intraperit.	„	†
	Control.	270	—	—	$\frac{1}{10}$ Oese intraperit.	„	†
Nr. 32 dieselbe	I	250	20		$\frac{1}{10}$ Oese intraperit.	Temperaturabfall b. z. 34.0	lebt
	II	260	20	24	$\frac{1}{7}$ Oese intraperit.	„ 32.0	lebt
	III	280	20		$\frac{1}{5}$ Oese intraperit.	„ 29.8	lebt
	Control.	260	—	—	$\frac{1}{10}$ Oese intraperit.	Localaffection	†

Ein Resumé dieser Resultate erlaubt folgende Schlussfolgerungen:

Es ist nicht schwer, Meerschweinchen durch Injectionen verschiedener Flüssigkeiten gegen Cholera einen gewissen Schutz zu verleihen. Es genügt dazu eine nur einmalige intraperitoneale oder subcutane Injection irgend einer der von mir untersuchten Flüssigkeiten, dort in Mengen von 0.1 bis 7 ccm, hier von 2.5 bis 20 ccm. Der höchste Resistenzgrad der vorbehandelten Thiere ist verschieden und tritt in verschiedenen Zeitintervallen nach der Injection, der Quantität und Qualität der eingespritzten Flüssigkeit entsprechend, auf. Die Injection von physiologischer Kochsalzlösung verleiht den Meerschweinchen den schwächsten Grad der Unempfindlichkeit gegen Cholera, dann folgen der Harn, die Bouillon, das

Blutserum gesunder Menschen, zweiprocentige Nucleinsäurelösung u. s. w. Diese Resistenz ist vorübergehender Natur und ist längstens nach 4 bis 5 Tagen wieder vollständig geschwunden.

Nach Sobernheim's, Pawlowsky's u. a. Untersuchungen besitzt das Blut gegen Cholera vaccinirter Thiere specifisch immunisirende Eigenschaften. Ich habe nur wenige Versuche mit immunem Meerschweinchenblut unternommen, um den Grad der immunisirenden Eigenschaft im Vergleiche zu der Höhe der durch Injectionen von Bouillon, Wasser und verschiedenen anderen von mir untersuchten Flüssigkeiten zu erreichenden Schutzkraft zu bestimmen. Ausserdem schien die Entscheidung der Frage interessant, wie lange nach der Schutzimpfung treten die specifischen Eigenschaften des Blutes bei immunisirten Thieren hervor.

Das immune Blut, mit welchem ich experimentirte, wurde sieben gegen Cholera immunisirten Meerschweinchen entnommen, von denen vier nur eine einmalige, die übrigen drei dagegen 7 bis 8 Präventiv injectionen bekommen hatten. Das Immunisirungsverfahren war folgendes: Vorbehandlung — durch intraperitoneale Einspritzung von 2^{cem} Bouillon 24 Stunden vor der Infection mit frischer Choleracultur in der Quantität von $\frac{3}{4}$ Oese für jedes Thier. Die auf diese Weise vaccinirten Meerschweinchen ertragen 24 Stunden nach der ersten Virusinfection eine zweite, deren Quantität 30 bis 35 mal die Dosis lethalis minima für normale Thiere übersteigt. Zehn Tage nach der ersten Injection des Cholera-virus zeigt sich der Immunitätsgrad schon zweimal schwächer, als er in den ersten 24 Stunden nach der ersten Schutzimpfung war.

Die Meerschweinchen dagegen, welche im Laufe von 5 bis 6 Wochen 7 bis 8 Injectionen mit Choleravirus in Mengen von $\frac{3}{4}$ bis 1 Oese jedesmal bekommen hatten, können 24 Stunden nach der letzten Inoculation die enorme Virusdosis von 2 $\frac{1}{4}$ Oese pro 100^{cem} Thierkörper vertragen. Aber auch bei den so hoch immunisirten Meerschweinchen sinkt die Resistenz 10 bis 15 Tage nach der letzten Virusimpfung auf die Hälfte.

Das Blut der durch eine einmalige Einspritzung immunisirten Meerschweinchen wurde in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Impfung untersucht, und zwar: 1. nach 24 Stunden, d. h. im Momente der höchsten Resistenz, 2. nach 7, 3. nach 14 Tagen, und endlich 4. 28 Tage nach der Vaccination.

Das Blut der im Verlaufe von 5 bis 6 Wochen durch 7 bis 8 Virusinjectionen sorgfältig immunisirten Thiere wurde den letzteren nicht eher als zehn Tage nach der letzten Schutzimpfung entnommen.

Tabelle VII.
Immunisierende Eigenschaft des Blutes der gegen Cholera durch einmalige Viruseinverleibung immunisierten Meerschw.

Nummer der Versuche	Nummer der Meerschweinchen	Körpergewicht g	Menge des eingespritzten Serums	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Nr. 33. Blut, Meerschweinchen, welches durch eine einmalige Viruseinspritzung immunisiert wurde, 24 Std. nach Virusinjection entnommen.	I	230	0.1 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal	24	$\frac{1}{2}$ Oese Chol. intra-perit.	todt nach Ablauf v. 10 St. Localaff.	+
	II	260	0.01 Ser. + 0.1 cem Kochsalzlös. intraperit.		"	12 St. Allg. Inf.	+
	III	240	1 cem Serum subcutan		"	10 St. "	+
	Control.	210	0.1 cem phys. Kochsalzlös. intraperit.		"	13 St. "	+
Nr. 34. Blut, Meerschweinchen, welches durch eine einmalige Viruseinspritzung immunisiert wurde, 7 Tage nach Virusinjection entnommen.	I	350	0.01 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intra-perit.	todt nach Ablauf v. 24 St. Localaff.	+
	II	370	0.1 Serum + 0.1 cem Kochsalzlösung		"	18 St. "	+
	III	305	1 cem Serum subcutan		"	17 St. "	+
	Control.	330	0.1 cem phys. Kochsalzlös. intraperit.		"	8 St. Allg. Inf.	+
Nr. 35. Blut, Meerschweinchen, welches durch eine einmalige Viruseinspritzung immunisiert wurde, 14 Tage nach Virusinjection entnommen.	I	200	0.01 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intra-perit.	Temperaturabfall b. z. 34.0	lebt
	II	240	0.05 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal		"	30.0	lebt
	III	210	0.01 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal		"	todt nach Ablauf v. 18 St. Localaff.	+
	IV	230	0.75 cem Serum subcutan		"	Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt
Nr. 36. Blut, Meerschweinchen, welches durch eine einmalige Viruseinspritzung immunisiert wurde, 28 Tage nach Virusinjection entnommen.	Control.	205	0.1 cem phys. Kochsalzlös. intraperit.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intra-perit.	todt nach Ablauf v. 12 St. Allg. Inf.	+
	I	245	0.1 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal		"	Temperaturabfall b. z. 34.5	lebt
	II	205	0.05 Serum + 0.1 cem phys. Kochsalzlösung intraperitoneal		"	todt nach Ablauf v. 18 St. Localaff.	+
	III	200	1 cem Serum subcutan		"	15 St. "	+
	Control.	210	0.1 cem phys. Kochsalzlös. intraperit.		"	9 St. Allg. Inf.	+

ISSAEEF:

Die Quantität des den Versuchsthieren intraperitoneal oder subcutan eingespritzten Blutserums der immunen Thiere war verschieden und bewegte sich für die intraperitonealen Einspritzungen zwischen 0.001 bis 1.0^{cem}, für die subcutanen zwischen 0.01 bis 1.5^{cem}. Die Virusdosen waren ebenfalls verschieden und variirten von $\frac{1}{2}$ bis 5 $\frac{1}{2}$ Oese.

Diese Versuche zeigten, dass das Blut der, durch eine einmalige Viruseinspritzung, immunisirten Thiere, 24 Stunden nach der Einspritzung entnommen, keine specifische immunisirende Eigenschaft besitzt. Alle mit solchem Blut vorbehandelten Meerschweinchen starben an allgemeiner Infection gleichzeitig mit den Controlthieren, wenn die nach 24 Stunden intraperitoneal injicirte Choleradosis $\frac{1}{2}$ Oese erreichte (s. Tab. VII Vers. Nr. 33).

Eine zwar schwache, kaum bemerkbar specifisch immunisirende Wirkung des Meerschweinchenblutes tritt erst sieben Tage nach der Vaccination ein. Versuch Nr. 34 zeigt, dass bei den Thieren, welche mit solchem, erst nach sieben Tagen entnommenen Blute vorbehandelt wurden, der Tod nach der Inoculation von $\frac{3}{4}$ Oese Choleravirus entschieden später eintrat, als bei den Controlthieren (s. Tab. VII Vers. Nr. 34).

Die immunisirende Wirkung des 14 Tage nach der Virusinjection entnommenen Blutes ist sehr bedeutend. Quantitäten von 0.05^{cem} dieses Blutes intraperitoneal und von 0.05^{cem} subcutan eingespritzt, genügen vollständig, um die Thiere gegen $\frac{3}{4}$ Oese Choleracultur zu schützen (s. Tab. VII Vers. Nr. 35).

28 Tage nach der Virusinjection schien die immunisirende Wirkung des Blutes schon ein wenig abgeschwächt. Im Versuch Nr. 36 entging dem Tode nur ein einziges mit 0.1^{cem} immunem Blutserum vorbehandeltes Meerschweinchen, während alle anderen nach $\frac{3}{4}$ Oese Choleracultur der Infection erlagen. Aber im Uebrigen zeigte sich auch hier eine deutliche Wirkung dadurch, dass im Augenblick des Todes die Vibrionen fast vollständig zu Grunde gegangen waren.

Das Blut durch 7 bis 8 Viruseinspritzungen sorgfältig immunisirter Thiere ist im hohem Grade wirksam. Seine Immunisirungseigenschaften sind so stark ausgeprägt, dass die Meerschweinchen, mit 1^{cem} dieses Blutes vorbehandelt, 24 Stunden darnach eine Virusdosis ertragen, welche 60 mal grösser ist, als die maximale, für gesunde Meerschweinchen eben tödtliche Dosis (s. Tab. VIII Vers. Nr. 37). Die Entfaltung einer immunisirenden Wirkung dieses Blutserums ist noch ersichtlich, wenn sehr kleine Mengen, z. B. 0.005^{cem}, intraperitoneal oder 0.1^{cem} subcutan eingespritzt werden. Die angegebene Dosis genügt, um die Meerschweinchen gegen $\frac{3}{4}$ Oese Choleracultur zu schützen.

Tabelle VIII.

Immunisierende Wirkung des Blutes der gegen Cholera durch mehrere Virusinoculationen immunisirten Meerschweinchen.

Nummer der Versuche	Nummer der Meerschweinchen	Körpergewicht g	Menge des injizierten Serums ccm	Zeit der Infektion	Cholera-Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Nr. 37. Blut, hochimmunisirten Meerschweinchen 10 Tage nach der letzten Schutzimpfung entnommen.	I	250	1 Serum intraperitoneal		2 1/2 Oes. Ch. intraperit.	Temperaturabfall b. z. 35.3	lebt
	II	270	1 "		5 1/2 Oes. Ch. intraperit.	" 30.2	lebt
	III	270	0.01 "	24	3/4 Oese Cholera intraperit.	" 35.6	lebt
	IV	260	0.01 Serum + 0.1 phys. Kochsalzlös. intraperit.		"	" 34.7	lebt
	V	280	0.005 " + 0.1 "		"	" 30.2	lebt
	VI	250	0.001 " + 0.1 "		"	" 9 St.	+
	Control.	270	0.1 phys. Kochsalzlösung intraperitoneal		"	tozt nach Ablauf v. 10 St. Allg. Inf.	+
Dasselbe Blut.	I	350	1 Serum subcutan		3/4 Oese Cholera intraperit.	Temperaturabfall b. z. 34.5	lebt
	II	310	0.1 "	24	"	" 33.2	lebt
	III	240	0.01 "		"	tozt nach Ablauf v. 18 St. Localaff.	+
	Control.	265	1 gesundes Meerschweinchenblutserum		"	" 12 St.	+

ISSAEFF:

Tabelle IX.

Heilende Wirkung des hochimmunisierten Meerschweinchenblutserums.

Nr. 38. Blut, hochimmunisirten Meerschweinchen 10 Tage nach der letzten Schutzimpfung entnommen.	I	250	1/2 Oese Cholera intraperit. Nach Ablauf von 1 Std. Temperatur 38.6. Das Thier erhält 1 ccm Serum in Bauchhöhle.	bleibt am Leben	lebt
	II	260	1/2 Oese Cholera intraperit. Nach Ablauf von 2 Std. Temperatur 36.5. Das Thier erhält 1 ccm Serum in Bauchhöhle	bleibt am Leben	lebt
	III	275	1/2 Oese Cholera intraperit. Nach Ablauf von 3 Std. Temperatur 35.4. Das Thier erhält 1 ccm Serum in Bauchhöhle	tozt nach 15 Stunden, nach Virus-einspritzung Peritoneum steril	+
	Control.	210	1/2 Oese Cholera	tozt nach Ablauf v. 10 St. Localaff.	+

Neben der immunisirenden Eigenschaft besitzt das Blut hoch immunisirter Thiere auch eine heilende Fähigkeit. Mit $\frac{1}{2}$ Oese Choleracultur inficirte Meerschweinchen wurden durch Intraperitonealinjection von 1^{ccm} Blutserum $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden nach der Infection in einer kleinen Versuchsreihe vom Tode gerettet, falls die Körpertemperatur im Momente der Blutserumeinspritzung nicht unter 36.5° gesunken war. Beifolgende Tabelle IX möge dies beweisen.

Es wird aus diesen Versuchen klar, dass die schützenden Effecte, welche man mit dem Blute sorgfältig gegen Cholera immunisirter Meerschweinchen erhält, erheblich stärker sind als diejenigen, welche man bei der Vorbehandlung der Thiere mit den verschiedenen, von mir untersuchten Flüssigkeiten und Lösungen beobachtet.

Wenn wir das Gewicht der Meerschweinchen zu 200^gmm, die Quantität der eingespritzten Flüssigkeit intraperitoneal auf 1^{ccm}, subcutan auf 10^{ccm}, die Zeit nach der Injection der Flüssigkeit 24 Stunden annehmen, so erleidet die maximale nicht tödtliche Dosis des Choleravirus, mit welchem ich gearbeitet habe, je nach der Vorbehandlung mit verschiedenen Flüssigkeiten folgende Veränderungen:

Für gesunde Meerschweinchen	$\frac{1}{15}$ Oese
„ mit Wasser vorbehandelte	$\frac{1}{3}$ „
„ „ Harn „ „	$\frac{1}{2}$ „
„ „ Bouillon „ „	$\frac{2}{3}$ „
„ „ menschlichem Blutserum „	$\frac{3}{4}$ „
„ „ 2proc. Nucleinlösung „	1 „
„ „ Tuberculin „	1 „
„ „ Blutserum hochimmunisirter Meerschweinchen „	4 „
„ sorgfältig immunisirte Meerschweinchen 24 Stunden nach der letzten Virusinoculation	$4\frac{1}{2}$ „
„ dieselben Thiere 10 Tage nach der letzten Inoculation	2— $2\frac{1}{2}$ „

Alle diese Zahlen machen allerdings keinen Anspruch auf absolute Grössen, es sind Durchschnittszahlen, jedoch präcis. Im Einzelfalle sind Abweichungen möglich, theils in Folge der Schwierigkeit, gleiche Bedingungen bei den Versuchen zu treffen, theils in Folge der so ungleichen individuellen Eigenschaften der Thiere.

IV.

Ich habe das Blut von acht Personen, welche Cholera überstanden haben, untersucht. Hr. Prof. Dr. R. Pfeiffer, welcher im Juni v. J. in Folge von Laboratoriumsinfektion an Cholera erkrankt war, bot mir lebenswürdig für meine Untersuchungen sein eigenes Blut an.

1. Das Blut Prof. Dr. R. Pf.'s wurde von mir drei Monate nach dem Anfange der Krankheit untersucht.

2. Das Blut eines 35jährigen Mannes (Karting) sechs Tage nach der Genesung und zehn Tage nach dem Anfange der Krankheit. Der Fall war ein schwerer, alle Cholerasympptome waren scharf ausgesprochen.

3. Das Blut eines 30jährigen Mannes (Tiede), acht Tage nach der Genesung und 12 Tage nach dem Anfange der Krankheit entnommen. Ein sehr schwerer Fall, mit mehr als zwei Tage lang dauerndem comatösen Zustande, Krämpfen, Temperaturabfall und den übrigen Cholerasympptomen.

4. Das Blut einer 43jährigen Dame (Carolina Chus), untersucht am 12. Tage nach der Genesung oder am 16. Tage der Erkrankung. Der Krankheitsverlauf war von schweren Symptomen begleitet. Coma während einiger Tage.

Das sub 2, 3 und 4 erwähnte Blut wurde den Patienten von mir bei ihrem Aufenthalt im Allg. Krankenhaus zu Hamburg entnommen.¹

5. Das Blut einer 55jährigen Dame (Frau Kemper), untersucht sechs Wochen nach der Erkrankung. Dieser Fall gehörte zu den schwersten. Die Reconvalescentz wurde durch langdauernde profuse Diarrhöen aufgehalten, in welchen noch fünf Wochen lang Kommabacillen nachweisbar waren. Hr. College Dr. Frosch² hatte die Liebeshwürdigkeit, bei seinem Aufenthalt in Solingen Blut der genannten Frau zu entnehmen und es an mich zu senden.

Neben diesen fünf sehr sorgfältig von mir untersuchten Fällen habe ich noch einige Versuche mit Blut von drei Cholerareconvalescenten (Herren B., Sch. und S.) angestellt. Das Blut wurde diesen Patienten fünf resp. sechs Wochen nach der Erkrankung entnommen und mir von Dr. R. Pfeiffer lebenswürdiger Weise aus Stettin geschickt.

¹ Hierbei beehre ich mich, dem Hrn. Director des Hamburger Allgemeinen Krankenhauses, Hrn. Prof. Dr. Rumpf, meinen Dank auszusprechen für sein lebenswürdiges Entgegenkommen. Auch dem Hrn. Kollegen Dr. Kraft sei hier mein Dank für seine Mithilfe ausgesprochen.

² Ich sage dem Hrn. Dr. Frosch meinen grössten Dank für seine lebenswürdige Mitwirkung.

Die Versuche, welche bisher mit dem Blute von Cholerareconvalescenten durch Lazarus, Klemperer u. A. angestellt worden waren, litten an einem principiellen Fehler. Die genannten Autoren injicirten nämlich das immunisirende Serum den Meerschweinchen intraperitoneal gemischt mit irgend einer von ihnen offenbar für indifferent gehaltenen Flüssigkeit, beispielsweise physiologische Kochsalzlösung oder Bouillon. Wir haben schon oben gesehen, dass die Injection von Bouillon oder Kochsalzwasser für sich allein den Meerschweinchen einen gewissen Grad von Resistenz gegen die intraperitoneal einverleibten Kommabacillen verleihen kann. Es war daher nothwendig, in einer Versuchsreihe, welche specifisch immunisirende Eigenschaften des Blutes von Cholerareconvalescenten nachweisen will, die Wirkung der beigemischten Flüssigkeiten irgendwie in Rechnung zu ziehen bezw. zu beseitigen. Aus diesem Grunde stellte ich mit den fünf von mir untersuchten Blutproben je vier Versuchsreihen an.

Bei der ersten Versuchsreihe wurde das fragliche Blutserum den Meerschweinchen intraperitoneal in Dosen von 0.01 bis 0.05 ^{cem} ganz rein, ohne jede Zumischung von Bouillon oder Wasser, eingespritzt.¹ 24 Stunden nach der Serum injection inficirte ich die Thiere mit je $\frac{1}{4}$ Oese Choleraeultur.

Bei der zweiten Versuchsreihe spritzte ich das Blutserum in Dosen von 0.1, 0.01, 0.001 ^{cem} Meerschweinchen intraperitoneal mit Zusatz von 1 ^{cem} physiologischer Kochsalzlösung ein. Die Controlthiere bekamen das Blutserum normaler Menschen in entsprechenden Dosen ebenso mit Zumischung von 1 ^{cem} Kochsalzlösung. Nach Ablauf von 24 Stunden wurden die Thiere mit je $\frac{3}{4}$ Oese Choleraeultur inficirt. Die Dosis war absichtlich so hoch gewählt worden, weil meine zahlreichen Versuche mir den Beweis geliefert haben, dass die Injection von 1 ^{cem} Kochsalzlösung die Meerschweinchen zwar in einer Anzahl von Fällen gegen $\frac{1}{2}$ Oese Choleraeultur schützt, dass aber höhere Dosen auch bei den mit Kochsalzlösung vorbehandelten Thieren sicher den Tod herbeiführen.

Bei der dritten Versuchsreihe wurde das Blutserum in Dosen von 0.1, 0.01, 0.001 ^{cem}, ebenso wie bei den vorigen Versuchen, Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Als Aufschwemmungsflüssigkeit diente wieder die Kochsalzlösung, aber in der zehnfach geringeren Menge von 0.1 ^{cem} pro Injection, eine Menge, welche, wie ich mich überzeugt habe, den Ablauf der Choleraeinfektion vom Peritoneum aus nur in sehr geringem Maasse beeinflusst. Jedes Thier wurde nach 24 Stunden mit je $\frac{1}{2}$ Oese Choleraeultur inficirt.

¹ Die Methode der intraperitonealen Einspritzung solcher kleinen Quantitäten von Flüssigkeiten ist sehr einfach. Sie findet ihre Beschreibung in Cap. V dieser Arbeit.

Bei der vierten Versuchsreihe habe ich das Blutserum in Dosen von 0.01 bis 1.0^{ccm} Meerschweinchen subcutan eingespritzt. Die Controlthiere behandelte ich mit entsprechenden Dosen Blutserums normaler Menschen ebenfalls subcutan. Die Cholerainfection mit $\frac{1}{2}$ bis $\frac{3}{4}$ Oese Choleravirus erfolgte nach 24 Stunden.

Tabelle X.

Immunisierende u. heilende Eigenschaft des Blutes cholerageheilten Menschen.

Blut, Dr. R. Pfeiffer 3 Monate nach Beginn der Krankheit entnommen.

In's Peritoneum							
Nr. d. Vers.	Nr. der Meerschw.	Körpergewicht gram	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolge
39	I	300	0.01 Serum ohne Kochsalzlösung	24	$\frac{1}{4}$ Oese Cholera intraperit.	Localaffection	†
	II	350	desgl.			„	†
	Contr.	350	0.01 Serum des gesunden Menschen			„	†
40	I	230	0.1 Serum + 1 ccm physiol. Kochsalzlös.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	Localaffection	†
	II	230	0.01 desgl.			„	†
	III	230	0.001 desgl.			„	†
	Contr.	240	1 ccm physiologische Kochsalzlösung			„	†
41	I	230	0.1 Serum + 0.1 ccm physiol. Kochsalzlös.	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraperit.	Localaffection	†
	II	240	0.01 desgl.			„	†
	III	230	0.001 desgl.			„	†
	Contr.	220	0.1 physiologische Kochsalzlösung			„	†
subcutan							
42	I	250	0.5 ccm	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	Allgemeine Infection	†
	II	260	1.0 „			„	†
	Contr.	240	1.0 „ Serum des gesunden Menschen			„	†

Blut, Hrn. Karting 10 Tage nach Beginn der Krankheit entnommen.

In's Peritoneum							
Nr. der Vers.	Nr. der Meerschw.	Körpergewicht	Menge des eingespritzten Serums	Zeit der Infektion	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
		gram	ccm	Std.			
43	I	210	0.01 ohne Wasser	24	$\frac{1}{4}$ Oese Cholera intraperit.	totd n. 9 Std. Localaffection	+
	II	200	desgl.			„ 12 „ „	+
	Contr.	180	0.01 Serum des gesunden Menschen			„ 12 „ „	+
44	I	300	0.1 Serum + 0.1 Kochsalzlösung	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraperit.	totd n. 12 Std. Localaffection	+
	II	300	0.01 „			„ 13 „ „	+
	III	250	0.001 „			„ 12 „ „	+
	Contr.	300	0.1 Kochsalzlösung			„ 15 „ „	+
45	I	300	0.01 Serum + 1.0 Kochsalzlösung	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	totd n. 15 Std. Localaffection	+
	II	280	0.001 „			„ 14 „ „	+
	Contr.	290	1.0 Kochsalzlösung			„ 18 „ „	+
s u b c u t a n							
46	I	300	1.0	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	totd nach 16 Std. allg. Infect.	+
	II	270	1.0 Serum des gesunden Menschen			„ 14 „ „	+

Blut, Hrn. Tiede 12 Tage nach Beginn der Krankheit entnommen.

In's Peritoneum							
47	I	250	0.01 ohne Kochsalzlös.	24	$\frac{1}{4}$ Oese	totd n. 10 Std. Allg. Infect.	+
	II	220	0.05 „ „			„ 9 „ „	+
	Contr.	180	0.05 gesundes Menschenblutserum			„ 12 „ „	+
48	I	220	0.1 Serum + 0.1 physiol. Kochsalzlös.	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraperit.	totd n. 10 Std. Allg. Infect.	+
	II	210	0.01 + „			„ 8 „ „	+
	III	210	0.001 + „			„ 9 „ „	+
	Contr.	230	0.1 phys. Kochsalzlös.			„ 9 „ „	+
49	I	250	0.1 + 1.0 physiol. Kochsalzlösung	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	totd n. 14 Std. Allg. Infect.	+
	II	250	0.01 + „			„ 15 „ „	+
	Contr.	270	1.0 phys. Kochsalzlös.			„ 13 „ „	+
s u b c u t a n							
50	I	250	1.5	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	totd nach 10 Stunden	+
	Contr.	270	1.5 gesundes Menschenserum			„ „ 14 „	+

Blut, Frau Carolina Chus 16 Tage nach der Erkrankung entnommen.

In's Peritoneum							
Nr. der Vers.	Nr. der Meersch.	Körpergewicht gm	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
51	I	210	0·01 ohne Kochsalzlös.	24	$\frac{1}{4}$ Oese Cholera intraper.	totd n. 16 Std. Localaffect.	†
	II	200	0·05 „ „			„ 30 „ Perit. steril	†
	Contr.	180	0·05 gesundes Menschenblutserum			„ 12 „ Localaffect.	†
52	I	250	0·1 + 0·1 physiol. Kochsalzlösung	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraper.	Temperaturabfall b. z. 32·3	lebt
	II	220	0·01 + „			totd n. 24 Std. Per. steril.	†
	III	220	0·001 + „			„ 20 „ Localaffect.	†
	Contr.	200	0·1 phys. Kochsalzlös.			„ 9 „ „	†
53	I	250	0·01 + 1·0 physiolog. Kochsalzlösung	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraper.	totd n. 30 Std. Per. steril.	†
	II	240	0·001 + „			„ 24 „ Localaffect.	†
	Contr.	230	1·0 phys. Kochsalzlös.			„ 15 „ Allg. Infect.	†
s u b c u t a n							
54	I	250	1·0	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraper.	totd n. 20 Std. Localaffect.	†
	Contr.	250	1·0 gesundes Menschenblutserum			„ 14 „ „	†

Blut, Frau Kemper 6 Wochen nach Beginn der Krankheit entnommen.

In's Peritoneum							
55	I	260	0·01 ohne Kochsalzlös.	24	$\frac{1}{4}$ Oese Cholera intraper.	Temperaturabfall b. z. 35·2	lebt
	II	250	0·01 „ „			„ 36·3 „	
	Contr.	230	0·01 gesundes Menschenblutserum			totd n. 14 Std. Localaffect.	†
56	I	245	0·1 Serum + 0·1 physiol. Kochsalzlös.	24	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera intraper.	Temperaturabfall b. z. 34·5	lebt
	II	245	0·01 S. + „			„ 33·4 „	
	III	240	0·001 S. + „			totd n. 24 Std. Perit. steril.	†
	Contr.	250	0·1 phys. Kochsalzlös.			„ 11 „ Allg. Infect.	†
57	I	250	0·01 Serum + 1·0 physiol. Kochsalzlös.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraper.	Temperaturabfall b. z. 33·0	lebt
	II	230	0·001 S. + „			totd n. 30 Std. Perit. steril.	†
	III	270	0·0001 S. + „			„ 19 „ Localaffect.	†
	Contr.	260	1·0 phys. Kochsalzlös.			„ 12 „ „	†

(Fortsetzung.)

Blut, Frau Kemper 6 Wochen nach Beginn der Krankheit entnommen.

Nr. der Vers.	Nr. der Meersch.	Körpergewicht gm	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infektion Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
58	I	220	0.5 intraperitoneal	24	2 Oesen intrap.	Temperaturabfall b. z. 36.0	lebt
	II	230	1 „		2 1/2 Oes. intrap.	„ 35.4	lebt
	III	270	1 „		5 1/2 Oes. intrap.	„ 30.2	lebt
	Contr.	220	1 gesundes Menschenblutserum		1 1/2 Oes. intrap.	totd nach 12 St. Localaffection	†

s u b c u t a n

59	I	270	1 Serum	24	3/4 Oese Chol. intrap.	Temperaturabfall b. z. 36.5	lebt
	II	230	0.5 „			„ 35.0	lebt
	III	260	0.1 „			„ 32.0	lebt
	IV	245	0.01 + 1 physiol. Kochsalzlösung			totd nach Ablauf v. 24 Std.	†
	Contr.	250	1 gesundes Menschenserum			„ 10 „	†

Heilende Wirkung des Blutes (Frau Kemper.)

60	I	245	3/4 Oese Ch. intraperit. Nach Ablauf v. 1 St. Temperatur 37.5. Thier erhält 1 Serum in die Bauchhöhle			bleibt am Leben	lebt
	II	260	3/4 Oese Ch. intraperit. Nach Ablauf v. 2 St. Temperatur 35.5. Thier erhält 1 Serum in die Bauchhöhle			„	lebt
	III	310	3/4 Oese Ch. intraperit. Nach Ablauf v. 3 St. Temperatur 35.4. Thier erhält 1 Serum in die Bauchhöhle			totd nach 17 St. Virusinject. Peritoneum steril	†
	Contr.	250	1/4 Oese Cholera intraperitoneal			totd nach 12 St. Localinfect.	†

Blut, Hrn. B. 6 Wochen nach Beginn der Krankheit entnommen.

61	I	255	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperit.	24	3/4 Oese Chol. intrap.	Temperaturabfall b. z. 35.0	lebt
	II	265	0.01 + „			„ 35.0	lebt
	III	250	0.005 + „			„ 30.0	lebt
	Contr.	235	0.5 Kochsalzlösung intraperitoneal			totd nach Ablauf v. 12 St.	†

(Fortsetzung.)

Blut, Hrn. Sch. 5 Wochen nach Beginn der Krankheit entnommen.

Nr. der Vers.	Nr. der Meersch.	Körpergewicht gm	Menge des eingespritzten Serums cem	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
62	I	265	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperit.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intrap.	Temperaturabfall b. z. 32.5	lebt
	II	250	0.01 + „			„ 32.0	lebt
	III	260	0.005 + „			todt n. Ablauf 24 St. Intoxicat.	†
	Contr.	255	0.5 Kochsalzlösung intraperitoneal			„ 12 „ Infection	†

Blut, Hrn. J. 6 Wochen nach Beginn der Krankheit entnommen.

63	I	280	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperit.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intrap.	Temperaturabfall b. z. 30.6	lebt
	II	275	0.01 + „			„ 29.3	lebt
	III	270	0.005 + „			todt nach 18 Stunden	†
	Contr.	260	0.5 Kochsalzlösung intraperitoneal			„ 15 „	†

Die Resultate dieser Versuche, wie aus Tab. X erhellt, sind die folgenden:

Das Blut des Hrn. Dr. Pf. hatte keine specifisch immunisirende Eigenschaft. Alle mit diesem Blutserum vorbehandelten und nachher mit Cholera inficirten Thiere starben gleichzeitig mit den Controlthieren. Indessen hatte dasselbe Blut, vier Wochen nach dem Beginn der Erkrankung entnommen, nach Untersuchungen von Dr. Pfeiffer sehr stark immunisirende Eigenschaften (vergl. R. Pfeiffer S. 247 u. 248), (s. Tab. X, Versuch Nr. 39, 40, 41, 42).

Im Blute von Karting und Thiede, das erste 10, das zweite 12 Tage nach der Erkrankung untersucht, fand ich ebenfalls keine specifisch immunisirenden Eigenschaften. Die zuerst mit dem Blutserum vorbehandelten und nach 24 Stunden mit Cholera inficirten Meerschweinchen gingen gleichzeitig mit den Controlthieren zu Grunde (s. Tab. X, Vers. Nr. 43 bis 50).

Das Blut von Carolina Chus, welches 16 Tage nach der Erkrankung entnommen wurde, hatte unzweifelhaft eine, wenn auch sehr schwache, specifische Wirkung. Die intraperitoneal mit 0.1^{cem} und subcutan mit 1^{cem} dieses Blutes vorbehandelten Thiere überstanden nach 24 Stunden eine Infection von $\frac{3}{4}$ Oese Choleracultur. Die übrigen Meerschweinchen

dagegen, welche mit kleineren Dosen des Blutserums vorbehandelt wurden, erlagen zwar der Infection, der Tod aber erfolgte sehr viel später als bei den Controlthieren und ausserdem fand sich, wie dies bei immunisirten Thieren die Regel ist, das Peritoneum steril im Gegensatz zu den Controlthieren, welche an einer allgemeinen Choleraeinfektion verendeten (s. Tab. X, Vers. Nr. 51 bis 54).

Das Blut von Frau Kemper, welches sechs Wochen nach der Erkrankung zur Untersuchung kam, erwies sich in hohem Grade activ, seine specifisch immunisirenden Eigenschaften waren so stark, dass die mit 1 ^{cem} des Blutserums intraperitoneal vorbehandelten Meerschweinchen Tags darauf die maximale Virusdosis vertrugen von 2 Oesen = 4 ^{mg} pro 100 ^gmm Körpergewicht. Kleine Quantitäten desselben Blutes, wie z. B. 0.01 ^{cem} intraperitoneal oder 0.1 bis 0.05 ^{cem} subcutan eingespritzt, riefen ebenfalls eine sehr starke Schutzwirkung gegen Cholera hervor. Die untere Grenze der Dosis, wobei noch eine immunisirende Wirkung ersichtlich war, betrug intraperitoneal 0.005 und subcutan 0.05 ^gmm. Das Blut von Frau Kemper zeigte neben der immunisirenden auch noch eine heilende Eigenschaft. Mit ³/₄ Oese Choleraeultur inficirte Meerschweinchen konnten durch intraperitoneale Injection von 1 ^{cem} Blutserum vom Tode gerettet werden, wenn im Momente der Blutserumeinspritzung die Körpertemperatur nicht unter 35.6° C. gesunken war, oder wenn die Injection spätestens 1 ¹/₂ bis 2 Stunden nach der Choleraeinfektion stattgefunden hatte (s. Tab. X, Vers. Nr. 55 bis 60).

Das Blut endlich, welches von drei Choleraeconvalescenten aus Stettin stammte, war ebenfalls sehr wirksam. Minimale Quantitäten, wie 0.005 ^{cem} dieses Blutes, intraperitoneal eingespritzt, genügten, um die Meerschweinchen gegen Cholera zu immunisiren (s. Tab. X, Vers. Nr. 61 bis 63).

Wir sehen also, dass die Resultate meiner Versuche über die heilende Wirkung des Blutes von Choleraeconvalescenten sich mit denen von Wassermann völlig decken. Die immunisirende Kraft erwies sich dagegen bei Weitem geringer als nach den Versuchen von Lazarus, Klemperer und Wassermann. Diese Abweichungen resultiren daraus, dass die obengenannten Autoren bei ihrer Dosenbestimmung die Wirkung der dem immunen Serum zugemischten Flüssigkeiten ausser Acht liessen.

Es ist also klar, dass das Blut von Choleraeconvalescenten eine specifische immunisirende und heilende Eigenschaft besitzt. Diese Eigenschaft wird stets im Blute solcher Menschen beobachtet, und in Folge dessen hat sie nicht die Bedeutung eines zufälligen Phänomens, wie es von Metschnikoff betont wurde.

Das interessanteste Ergebniss meiner Untersuchungen ist folgendes:

Das Blut von Cholerareconvalescenten erlangt seine spezifischen Eigenschaften nicht früher als im Anfang der dritten Woche der Erkrankung. Von der vierten bis sechsten Woche ist seine spezifische Wirkung am stärksten, drei Monate nach der Erkrankung dagegen verliert das Blut diese spezifischen Eigenschaften wieder vollständig.

V.

Wir haben gesehen, dass man auf die verschiedenen Methoden den Meerschweinchen einen gewissen Schutz gegen die intraperitoneale Infektion mit Choleravirus verleihen kann. Den Mechanismus dieser Schutzwirkung werde ich versuchen, in den unten folgenden Capiteln zu erforschen.

R. Pfeiffer und Wassermann hatten angegeben, dass die immunisirten Meerschweinchen nur gegen das lebende Virus, nicht aber gegen die Toxine geschützt sind, ferner, dass auch das hochgradig immunisierende Serum von Cholerareconvalescenten zwar bactericide, aber keinerlei antitoxische Wirkung zu entfalten vermag. Diese Angaben haben bisher nur durch Sobernheim Bestätigung erfahren, sind aber von anderen Autoren, Gamaleia, Ketscher, Pawlowsky u. s. w. vollständig ausser Acht gelassen worden, da diese Autoren auch in ihren letzten Publicationen immer noch von Choleraantitoxinen sprechen. Ich habe daher dieser Frage meine Aufmerksamkeit zugewidmet.

1. Bei den Versuchen [mit Choleratoxinen kamen 18—20stündige Agarculturen zur Anwendung, welche 1 bis 2 Stunden lang durch Chloroformdämpfe sterilisirt wurden. Man giesst 2 bis 3 Tropfen Chloroform vorsichtig auf den Boden des die Choleracultur enthaltenden Agarröhrchens und lässt die sich entwickelnden Dämpfe im Brutschrank 2 Stunden einwirken. Die minimale tödtliche Dosis der auf diese Weise sicher sterilisirten Choleracultur betrug 5^{mg} pro 100^g Körpergewicht.

Die Immunisirung der Meerschweinchen geschah durch 5 bis 10 Einspritzungen des lebenden Virus. Bei jedem von den 6 Versuchen experimentirte ich mit je zwei immunisirten Meerschweinchen, von denen das eine subcutan, das andere intraperitoneal immunisirt war.

Diese Experimente ergaben Folgendes:

Die mit je 8 bis 10 intraperitonealen Einspritzungen vorbehandelten Meerschweinchen gingen nach Beibringung der für gesunde Meerschweinchen als tödtlich befundenen Toxindosis gleichzeitig mit den Controlthieren, ja einige sogar früher, zu Grunde. Von den vier, mit je fünf intraperitonealen Injectionen vorbehandelten Meerschweinchen, starben zwei, die anderen zwei blieben nach Ueberstehen heftiger Intoxicationserscheinungen

am Leben. Diejenigen Thiere endlich, bei welchen die Immunisation durch subcutane Einspritzungen erzielt wurde, kamen gleichzeitig mit den Controlthieren um. Es ist bemerkenswerth, dass bei den intraperitoneal immunisirten Meerschweinchen, obgleich sie manchmal etwas grössere Toxindosen als die gesunden zu vertragen scheinen, dennoch schwere Intoxicationssymptome auftreten. Deswegen darf der geringe Grad von Resistenz gegen die Toxine, welche hierbei vielleicht zu Tage tritt, nicht etwa antitoxischen Eigenschaften ihres Blutes zugeschrieben werden. Das beweist auch folgende merkwürdige Thatsache: die Immunität gegen die Toxine wird durch vielmalige Injectionen nicht erhöht, im Gegentheil, die mit vielmaligen Einspritzungen immunisirten Thiere erwiesen sich etwas empfindlicher gegen Toxine als die gesunden.

Ich studirte die antitoxischen Eigenschaften des Blutserums auch in vitro. Zu diesem Zwecke mischte ich der minimalen für gesunde Meerschweinchen tödtlichen Toxindosis 1 bis 2^{cem} Blutserum hochimmunisirter Thiere oder gegen Cholera immuner Menschen (Frau Kemper) zu. Sofort darauf erhielt diese Mischung ein gesundes Meerschweinchen intraperitoneal injicirt. Zur Controle spritzte ich einem anderen normalen Meerschweinchen die entsprechende Toxindosis mit Blutserum gesunder Meerschweinchen gemischt ein. Die drei in dieser Richtung angestellten Versuche endeten mit dem Tode der Thiere.

Aus Obigem erhellt, dass das immune Blut weder in vitro noch im Organismus der Thiere eine Eigenschaft besitzt, welche die Cholera-toxine zu neutralisiren im Stande wäre.

2. Die bactericiden Eigenschaften des Blutes der gegen Cholera immunisirten Thiere sind von Behring und Nissen,¹ Sobernheim, Pfeiffer und Wassermann u. A. sorgfältig studirt. Meine Beobachtungen darüber stimmen mit den Untersuchungen der genannten Autoren fast vollständig überein. Bemerkenswerth ist jedoch, dass das Blut der durch eine einmalige Einspritzung immunisirten Thiere, 24 Stunden nach der Injection, d. h. im Momente des höchsten Grades der Resistenz des Thieres entnommen, keine specifischen bactericiden Eigenschaften besitzt. Im Serum solchen Blutes wächst der *Vibrio* ebenso gut wie im Blutserum normaler Thiere. Das Blut sorgfältig vaccinirter Thiere, sowie dasjenige von Cholera-reconvalescenten (Frau Kemper) zeigt eine gewisse, aber sehr geringe bakterientödtende Wirkung. Es ist für mich kein Zweifel daran, dass die bakterientödtende Eigenschaft des Blutes eine wesentliche Rolle in der Immunität gegen Cholera nicht spielt.

¹ Behring und Nissen. *Diese Zeitschrift*. 1892. S. 412.

3. Die im Blutserum der durch eine einmalige Viruseinspritzung, immunisirten Thiere gewachsene Choleracultur ist ebenso stark virulent wie diejenige, welche sich im Blutserum gesunder Meerschweinchen entwickelt hat. Es übt also das Blut der auf diese Weise vaccinirten Thiere keine abschwächende Wirkung aus. Es ist sehr leicht, den Nachweis zu liefern, dass der *Vibrio* auch unter der Einwirkung hochimmunen Menschenserums seine Virulenz nicht einbüsst. Ich übertrug 1 Oese Choleracultur in 2 ^{cem} sehr wirksamen menschlichen Serums und brachte die Röhrchen 24 Stunden in den Brütschrank. Die daraus angelegten Agarculturen zeigten den ursprünglichen Virulenzgrad.

4. Gehen wir nun zum Studium des Zellenkampfes des Organismus gegen die Cholerainfektion über. Es giebt nichts Leichteres, als die Entwicklung der Zellenreaction bei den mit Cholera intraperitoneal inficirten Meerschweinchen zu verfolgen. Unter normalen Verhältnissen findet sich bei gesunden Meerschweinchen in der Peritonealhöhle immer eine kleine Quantität durch Leukocyten leicht getrühten Exsudates. Bei mit Cholera inficirten Thieren findet sich in der Regel in der Bauchhöhle Exsudat in reichlicher Menge. Mit einem dünnen Glasröhrchen, dessen eines Ende zur Capillare ausgezogen ist, kann man sehr leicht durch die Bauchdecken durchdringen und einige Tropfen des darin befindlichen Exsudates herausziehen. Diese kleine Operation schadet, aseptisch ausgeführt, den Thieren gar nicht, und zu gleicher Zeit erlaubt sie die Entwicklung der Zellenreaction des inficirten Organismus mit grosser Genauigkeit zu verfolgen.¹

Um eine klare Vorstellung über den Process des Zellenkampfes im inficirten Organismus zu gewinnen, müssen wir vor Allem die, durch Einspritzungen verschiedener saurer, alkalischer oder neutraler Flüssigkeiten, hervorgerufene Reaction im Thierorganismus einerseits, und die Reaction, welche durch Injection von Producten der Choleravibrionen andererseits bedingt wird, studiren.

Spritzen wir einem Meerschweinchen intraperitoneal 1 ^{cem} physiologischer Kochsalzlösung ein und untersuchen wir das Peritonealexsudat, sowie das Blut des Thieres in verschiedenen Zeitintervallen während der ersten 24 Stunden nach der Injection. Gleich nach der Einspritzung wird das Exsudat, welches, wie oben erwähnt, normal etwas trüb ist und eine Menge von Leukocyten enthält, durchsichtiger, die Zahl

¹ Zur Erleichterung der Operation ist es rathsam, eine kleine Stelle der Bauchhaut mit der Scheere abzuschneiden und dann in die Wunde das Glasröhrchen einzusteichen. Selbstverständlich kann man auch in dieser Weise Injectionen von kleinen Flüssigkeitsmengen in's Abdomen ausführen.

der Leukocyten nimmt merklich ab. Diese Erscheinungen werden deutlicher und deutlicher, und 3 bis 4 Stunden nach der Injection wird das Exsudat sehr arm an Leukocyten — es tritt die Periode der negativen Chemiotaxis der Leukocyten ein. Hiernach kehrt die Zahl der Leukocyten nach und nach im Laufe einiger Stunden zur Norm zurück. Schon nach 8 bis 10 Stunden bemerkt man eine deutliche Vermehrung der Leukocyten, welche nach 24 Stunden ihr Maximum erreicht — Periode der positiven Chemiotaxis der Leukocyten. Ebensolche Schwankungen in der Zahl der Leukocyten werden auch im Blute beobachtet, natürlich in schwächerem Grade, als es im Abdominalexsudat der Fall ist. Der Ablauf dieser Erscheinungen wird bedeutend anders, falls das Quantum injicirter Flüssigkeit sehr gross ist, z. B. 8 bis 10 ^{ccm} beträgt, wenn auch der allgemeine Charakter ein und derselbe bleibt. Das Stadium der negativen Chemiotaxis nimmt dann eine längere Zeit in Anspruch und der Moment der höchsten Leukocytenentwicklung tritt nicht früher ein, als nach 24 Stunden; nach Injection sehr kleiner Dosen, z. B. 0.1 bis 0.5 ^{ccm}, verläuft der Vorgang der negativen und positiven Chemiotaxis viel rascher, die beobachtete Schwankung im Leukocytengehalt ist aber dann viel weniger accentuirt.

Ganz ähnliche Erscheinungen werden beobachtet im Organismus der Meerschweinchen, denen Kochsalzlösung subcutan beigebracht worden ist. Kleine Wassermengen, wie z. B. 3 bis 6 ^{ccm}, üben fast gar keinen Einfluss auf die Leukocyten des Blutes und des peritonealen Exsudates aus. Will man durch subcutane Wasserinjectionen bemerkbare Schwankungen in der Zahl der Leukocyten im Blute, sowie im Peritonealexsudate hervorrufen, so muss ein sehr erhebliches Quantum, 15 bis 20 ^{ccm} mindestens, eingespritzt werden. Die Stärke und die Dauer der positiven und negativen Chemiotaxisperioden der Leukocytose sind immer parallel mit dem Quantum des injicirten Wassers. Die durch subcutane Injection hervorgerufene Diapedesis im Abdomen ist weniger energisch als die durch intraperitoneale Einspritzung erzielte. Um denselben Effect auf die Leukocytose des Peritoneum durch subcutane Injectionen zu erzielen, welchen man mit intraperitonealen Einspritzungen sicher hervorbringt, muss man 10 bis 15 mal grössere Flüssigkeiten in Anwendung ziehen.

Die Bouilloninjectionen, intraperitoneal von 1 ^{ccm}, subcutan von 10 bis 15 ^{ccm}, rufen im Blute und Peritonealexsudat, ganz ähnlich wie die Wasserinjection, Leukocytose hervor. Der Unterschied besteht nur in der Intensität des Processes. Das Studium der negativen Chemiotaxis der Leukocyten ist stärker ausgeprägt, ihre Zeitdauer ist eine längere. Im Momente der höchsten Leukocytosenentwicklung, d. h. 20 bis 24 Stunden nach der Injection, ist die Leukocytenzahl im Blut und im Exsudat unvergleichlich grösser als bei der Wasserinjection.

Noch wirksamer in dieser Beziehung ist das Blutserum gesunder Menschen oder Thiere.

Von allen von mir untersuchten Flüssigkeiten steht, was die Stimulierung der Zellenreaction des Organismus betrifft, die 2procentige Nucleinsäurelösung obenan. Fünf, sechs Stunden nach der Injection von 1^{ccm} dieser Lösung ist das Peritonealexsudat klar und wie Wasser durchsichtig, enthält so wenig Leukocyten, dass es manchmal erst nach der Anfertigung von drei oder vier Präparaten gelingt, nur 3 bis 4 Leukocyten ausfindig zu machen. Mit dem Eintritt des Momentes der höchsten Leukocytenentwicklung ändert es seine Beschaffenheit, wird trüb und dick wie Eiter. Jetzt findet man eine Unmenge von Leukocyten darin.

Wir sehen also, dass die Stärke der Zellenreaction des Organismus von der Qualität der eingespritzten Flüssigkeit abhängig ist. Die Kochsalzlösung regt diese Reaction am wenigsten an, dann kommt in aufsteigender Reihe das Blutserum gesunder Menschen, Nucleinsäurelösung oder Tuberculin. Die Reactionsstärke ist auch von der Quantität der eingespritzten Flüssigkeit abhängig, je kleiner die Injectionsdosis, desto schwächer die Reaction und umgekehrt. Der Zusammenhang dieser Erscheinungen mit dem künstlich durch Einspritzung verschiedener Flüssigkeiten bei Thieren hervorgerufenen Unempfindlichkeitsgrade unterliegt keinem Zweifel.

Wenn wir Meerschweinchen mit wechselnden Dosen der durch Chloroform abgetödteten Choleraculturen behandeln, so bemerken wir, dass die negative Periode der Leukocytenchemiotaxis desto stärker auftritt, je höher die Dosis ist und auch desto länger anhält; dass ferner das Eintreten des höchsten Grades der Leukocytenentwicklung in folgender Relation steht mit der injicirten Toxindosis: je grösser die Toxindosis, desto später tritt der Moment des höchsten Reactionsgrades ein, desto reicher an Leukocyten erweist sich aber dann das Peritonealexsudat und das Blut. Ist die Toxindosis sehr gross, d. h. tödtlich für das Thier, so dauert die Periode der negativen Leukocytenchemiotaxis bis zum Tode desselben. In solchem Falle ist das Peritonealexsudat post mortem klar und fast frei von Leukocyten.

Bis jetzt haben wir gesehen, dass die Injectionen von verschiedenen Substanzen im Thierorganismus ganz gleichartige Processe der Zellenreaction hervorrufen. An dieser Reaction unterscheiden wir zwei Perioden: Im ersten Momente nach der Injection tritt eine mehr oder weniger starke Abnahme der normalen Leukocytenzahl im Blute und Peritonealexsudate des Thieres ein. In der zweiten Periode kehrt die Leukocytenzahl zur Norm zurück und nimmt mehr oder weniger rasch bis zum Maximum zu.

Besonders scharf ausgesprochen sind diese merkwürdigen Erscheinungen bei Injectionen immunen Serums. Die Periode der negativen Leukocytenchemiotaxis fehlt entweder ganz oder entzieht sich wegen ihrer Kürze der Beobachtung. Schon 10 Minuten nach der intraperitonealen Einspritzung von 1 ^{cem} immunen Serums steigt die Quantität der Leukocyten im peritonealen Exsudate zweifellos. Diese Rundzellenansammlung nimmt mit einer ungewöhnlichen Schnelligkeit zu. In 24 Stunden erreicht sie ihr Maximum und das Exsudat wie das Blut enthalten eine Unmenge von Leukocyten.

Das immune Blutserum besitzt also in Hinsicht auf die von ihm hervorgerufene Zellenreaction im Organismus der Meerschweinchen spezifische Eigenschaften, die sich im Fehlen der negativen Periode der Chemiotaxis, welche bei gewöhnlichem Blutserum wohl ausgeprägt ist, kund geben.

Nachdem wir uns mit der durch Injectionen von verschiedenen Substanzen angeregten Zellenreaction des Organismus bekannt gemacht haben, gehen wir auf deren Beziehungen ein mit der früher beschriebenen, auf diesem Wege erlangten Resistenz gegen Cholera infection.

Spritzen wir einem gesunden Meerschweinchen intraperitoneal die tödtliche Dosis des Cholera virus, z. B. $\frac{1}{2}$ Oese, ein und untersuchen wir das Exsudat. Unmittelbar nach der Einspritzung wird es durchsichtig und enthält enorme Mengen von Cholera bacillen — die Leukocytose ist unterdrückt. Diese Erscheinungen bleiben bis zum Tode des Thieres unverändert.

Inficiren wir ein anderes gesundes Meerschweinchen mit der maximalen nicht tödtlichen Dosis einer Cholera cultur, z. B. $\frac{1}{15}$ Oese intraperitoneal. In den ersten 5 bis 6 Stunden ist es leicht, die progressive und sehr auffallende Zunahme der Mikrobenzahl im Exsudate zu constatiren. Die Leukocytenzahl ist gering, sehr wenige von den Leukocyten schliessen Vibrionen ein, andere enthalten runde mit Anilinfarben leicht tingirbare Körperchen — Ueberreste zu Grunde gegangener Mikroben. Schon gegen Ende der 7. Stunde ändert sich das Bild: die Leukocytenzahl nimmt zu und dementsprechend greift eine Abnahme der frei in der Exsudatflüssigkeit befindlichen Vibrionen Platz. Die Mehrzahl von Leukocyten enthält Mikroben, andere runde Körperchen. Nach Ablauf von 8 bis 10 Stunden nach der Inoculation ist die Zahl der freien Mikroben schon sehr unbedeutend, diejenige der Leukocyten dagegen nimmt weiter zu. Die Leukocyten bilden nun Gruppen aus 10 bis 15 Elementen bestehend, von denen fast jedes mit Vibrionen oder Ueberresten derselben gefüllt ist. Der Process der Phagocytosis erreicht seinen grössten Entwicklungsgrad zwischen der 12. bis 15. Stunde nach der Injection. Freie

Vibrionen im Exsudate sind dann in sehr geringer Zahl zu finden. Nach der 20. Stunde ist die Anwesenheit von freien Kommabacillen nicht mehr nachweisbar. Hier und da finden sich die Leukocyten, deren Zahl auch bedeutend abgenommen hat, ganz vereinzelte Bacillen. Nach Ablauf von 24 Stunden kann man noch culturell die Anwesenheit von spärlichen Choleramikroben auf Agar nachweisen und erst nach 26 bis 27 Stunden wird der Bacillenvernichtungsprocess beendet. Von da an ist die Anwesenheit von Vibrionen im Organismus des inficirten Thieres weder mikroskopisch noch culturell an den Tag zu legen. Das Peritonealexsudat ist durchsichtig, arm an Leukocyten, welche Gruppen aus 5 bis 10 Elementen bilden. Wenn wir das Thier nun weiter beobachten, so finden wir, dass nach 30 bis 40 bis 48 Stunden in dem Maasse wie sich das Thier von der überstandenen Krankheit erholt, seine Körpertemperatur zur Norm zurückkehrt und dass im peritonealen Exsudat eine progressive Vermehrung der Leukocytenzahl Platz greift. 48 bis 50 Stunden nach der Injection ist das Thier völlig genesen, seine Temperatur normal, das Peritonealexsudat dick wie Eiter und reich an Leukocyten. Dieses Moment entspricht dem höchsten Resistenzgrade des Thieres. In den folgenden 7 bis 8 Tagen wird die Leukocytose des Exsudates nach und nach schwächer, immerhin aber übertrifft sie noch merklich die Norm, bis endlich nach 10 bis 15 Tagen sich das normale Verhalten wiederherstellt.

Wenn wir einem, durch intraperitoneale Injection von 1^{cem} Kochsalzlösung vorbehandelten Meerschweinchen die maximale nicht tödtliche Virusdosis von $\frac{1}{3}$ Oese einspritzen, so sehen wir, dass sich der Charakter des Vibrionenvernichtungsprocesses in nichts von demjenigen bei nicht vorbehandelten gesunden Meerschweinchen unterscheidet. Nur die Kraft, die Energie des Processes ist hierbei stärker ausgesprochen. Die Periode der negativen Chemiotaxis und zugleich diejenige der Mikrobenvermehrung ist kürzer und dauert nicht über 3 bis 4 Stunden. Ausserdem ist das Unterdrücken der Leukocytosis in dieser Periode weniger stark ausgesprochen als im Organismus der nicht vorbehandelten Meerschweinchen. Die Phagocytosis tritt früher ein. Schon eine Stunde nach der Virusinoculation enthalten viele Leukocyten Bacillen, andere schliessen runde Körperchen ein. Nach 4 bis 5 Stunden ist die Phagocytosis scharf ausgesprochen. Die Zahl der im Exsudate frei befindlichen Mikroben nimmt merklich ab, nach 10 bis 12 Stunden sind keine freien Vibrionen mikroskopisch zu entdecken und nach 16 bis 18 Stunden ist der Bacillenvernichtungsprocess beendet, die Constatirung von Kommabacillen ist weder mikroskopisch noch culturell möglich.

Unvergleichlich schneller und lebendiger geht der Vibrionenvernichtungsprocess im Organismus der mit intraperitonealen Injectionen von

1^{cem} Bouillon vorbehandelten Meerschweinchen, obschon die maximale nicht tödtliche Virusdosis, $\frac{2}{3}$ Oese, für solche Thiere bedeutend grösser ist als für die mit Wasser vorbehandelten. Die Periode der negativen Chemiotaxis dauert nicht länger als zwei Stunden. Schon gleich darauf ist die Phagocytosis stark ausgesprochen und der ganze Process findet mit der 9. bis 10. Stunde sein Ende.

Bei Thieren, welche mit Injectionen von Blutserum gesunder Menschen intraperitoneal mit 1^{cem}, subcutan mit 10^{cem} vorbehandelt, und darnach mit der maximalen nicht tödtlichen Dosis des Choleravirus ($\frac{3}{4}$ bis 1 Oese) inficirt sind, ist der Vibrionenvernichtungsprocess sehr energisch. Die Periode der Mikrobenvermehrung dauert nicht über eine Stunde, die Unterdrückung der Leukocyten ist dabei wenig scharf ausgeprägt. Die phagocytäre Thätigkeit der Leukocyten nimmt schon $\frac{1}{4}$ Stunde nach der Infection ihren Anfang, der Moment der höchsten Entwicklung der Phagocytosis aber tritt nicht eher als nach $2\frac{1}{2}$ bis 3 Stunden ein. Nach Ablauf dieser Zeit ist die Zahl der freien Mikroben im Exsudate ganz gering. Schon nach der vierten Stunde sind mikroskopisch keine freien Vibrionen zu constatiren, die Leukocyten sind in grosser Menge vorhanden, manche unter ihnen schliessen Bacillen, andere Ueberreste derselben ein. Endlich nach 6 bis 7 Stunden ist das Exsudat ganz steril.

Noch schneller, energischer findet der Vibrionenvernichtungsprocess im Organismus der mit 1^{cem} 2procent. Nucleinsäurelösung vorbehandelten Meerschweinchen statt. Die maximale nicht tödtliche Virusdosis für auf diese Weise vorbehandelte Thiere beträgt 1 bis $1\frac{1}{4}$ Oese. Schon 5 bis 10 Minuten nach der Injection fängt die Vernichtung der Mikroben durch die Leukocyten an. Nach zwei Stunden ist die Phagocytosis schon scharf ausgesprochen; in der dritten Stunde sind freie Mikroben im Exsudate nicht zu constatiren und gegen Ende der 5. bis 6. Stunde erreicht der Mikrobenvernichtungsprocess sein Ende.

Wir sehen also, dass die Schnelligkeit und Energie des Vernichtungsprocesses der Cholerabakterien im Organismus der durch Injectionen von verschiedenen Flüssigkeiten und Lösungen vorbehandelten Thiere in einer geradezu wechselseitigen Beziehung mit dem Unempfänglichkeitsgrade der Thiere gegen Cholerainfection steht. Je höher der Unempfänglichkeitsgrad ist, desto schneller findet die Mikrobenvernichtung statt. Die Wasserinjectionen schützen, wie wir gesehen haben, die Meerschweinchen gegen Cholera-infection in sehr schwachem Grade, sie rufen eine sehr mässige Zellen-reaction im Thierorganismus hervor und dementsprechend nimmt der Mikrobenvernichtungsprocess im Organismus solcher Meerschweinchen bei Weitem eine grössere Zeitdauer in Anspruch als bei den durch Einver-

leibung von Bouillon, Nuclein u. s. w. vorbehandelten Thieren. Der Zusammenhang aller dieser Erscheinungen unterliegt keinem Zweifel.

Nehmen wir nun ein Meerschweinchen, welches durch mehrere Inoculationen von Choleravirus immunisirt und dessen letzte Impfung vor 15 Tagen ausgeführt worden ist. Geben wir ihm intraperitoneal die maximale nicht tödtliche Virusdosis (sie beträgt für immunisirte Thiere dieser Art 2.5^{mg} oder $1\frac{1}{4}$ Oese pro 100^{g} Körpergewicht). Bei Untersuchung des Peritonealexsudates gleich nach der Infection finden wir sehr wenig Leukocyten, welche alle von Mikroben vollgestopft sind. Freie Bacillen sind in Menge zu beobachten. Eine Viertelstunde später nimmt die Zahl der freien Mikroben deutlich ab, die Phagocytosis spricht sich sehr scharf aus. Viele Leukocyten enthalten runde Körperchen. Nach einer Stunde untersucht, enthält das Exsudat sehr wenig freie Bacillen, die Leukocyten sind mit Vibrionen überladen, und bilden Gruppen von 20 bis 30 Elementen, ihre Gesamtzahl ist dabei nicht sehr gross. Schon nach Ablauf von $1\frac{1}{2}$ Stunden können wir keine freien Mikroben mehr nachweisen. Von den Leukocyten, deren Zahl gering ist, schliessen die einen — Vibrionen, die anderen — runde Körperchen ein. Nach zwei Stunden begegnen wir hier und da noch den Leukocyten, welche Vibrionen in ihrem Leibe tragen, gegen Ende der dritten Stunde aber erreicht der Mikrobenvernichtungsprocess seinen Abschluss, das Exsudat wird steril.

Nehmen wir endlich ein sorgfältig immunisirtes Meerschweinchen, dessen letzte Schutzimpfung 24 Stunden vor der Infection stattgefunden hat, oder ein solches, welches 24 Stunden vor dem Versuche mit 1^{cem} hochimmunen Serums vorbehandelt wurde. Spritzen wir solchen Thieren die maximale nicht tödtliche Virusdosis, welche in diesem Falle 4 bis 4.5^{mg} oder zwei Oesen pro 100^{g} Gewicht beträgt, intraperitoneal ein, und untersuchen wir in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Injection das Exsudat. Die Schnelligkeit des Vibrionenvernichtungsprocesses im Organismus solcher Thiere ist eine ausserordentliche. Schon gleich nach der Injection beobachten wir eine stark ausgesprochene Phagocytosis. Die Mikrobenzahl ist eine enorme, die der Leukocyten ebenfalls. Die letzteren sind mit Bacillen überfüllt. Schon nach einer Viertelstunde nimmt die Zahl der freien Mikroben mindestens um die Hälfte ab, das Innere der Leukocyten, welche in Unmenge vorhanden sind, ist entweder von Mikroben oder deren Ueberresten eingenommen. Eine Viertelstunde darauf ist die Zahl der freien Mikroben unbedeutend, diejenige der Leukocyten dagegen noch sehr gross, und der grösste Theil der letzteren enthält die Ueberreste der Bacillen. Drei Viertelstunden nach der Infection sind die freien Mikroben aus dem Exsudate schon verschwunden, die Leukocytenzahl

wird geringer, vereinzelte enthalten noch Vibrionen. Nach Ablauf von $1\frac{1}{2}$ Stunde dagegen erweist sich das Peritonealexsudat als ganz steril.

Es steht also die Schnelligkeit des Vibrionenvernichtungsprocesses bei gegen Cholera immunisirten Meerschweinchen in directer Abhängigkeit von dem Zustande der Leukocyten des Peritonealexsudates und Blutes des Thieres im Momente der Virusinoculation. Das Peritonealexsudat und das Blut der Thiere, deren letzte Schutzimpfung 24 Stunden vor der Infection mit der maximalen Virusdosis stattgefunden hat, sind reich an Leukocyten, dementsprechend ist auch der Resistenzgrad des Thieres der höchste und damit findet auch der Mikrobenvernichtungsprocess unvergleichlich schneller als bei ebenso gut immunisirten Thieren statt, mit welchen im Momente der normalen Leukocytosis des Peritonealexsudates und Blutes experimentirt wurde. Es ist demnach klar, dass die Zellenreaction des Organismus, die phagocytäre Thätigkeit der Leukocyten eine sehr wichtige Rolle bei dem Vibrionenvernichtungsprocess im Organismus gegen Cholera immunisirter Thiere spielt. Selbstverständlich können nicht alle Erscheinungen der Choleraimmunität vaccinirter Meerschweinchen durch Phagocytose aufgeklärt werden. Ohne Zweifel nehmen auch die specifischen Veränderungen der Gewebssäfte vaccinirter Thiere, vielleicht auch andere noch unbekannte Factoren daran ihren Antheil. Das Zusammenwirken aller dieser Factoren ist zum Verständniss der oben ausführlich beschriebenen Phänomene erforderlich.

Bemerkenswerth ist die Thatsache, dass, je schneller der Vibrionenvernichtungsprocess im Organismus der mit Choleravirus intraperitoneal inficirten Meerschweinchen stattfindet, desto früher auch die Intoxicationssymptome sich einstellen, die sich besonders im rapiden Temperaturabfall zu erkennen geben. Bei normalen mit Cholera intraperitoneal inficirten Meerschweinchen verläuft der Krankheitsprocess in den ersten 2 bis 3 Stunden von Steigerung der Körpertemperatur begleitet. Erst in der dritten Stunde nach Infection tritt bei solchen Thieren der mässige Temperaturabfall ein, welcher sehr verschieden, den Virusdosen entsprechend, sein Maximum erreicht (s. Tab. XI, Nr. 1, 2, 3).

Bei immunisirten Thieren dagegen sinkt die Körpertemperatur gleich nach der Virusinoculation sehr bedeutend. Schon im Anfange der zweiten Stunde nach der Inoculation erreicht sie ihr Minimum, in der dritten Stunde aber kommt sie wieder beinahe zur Norm zurück (s. Tab. XI, Nr. 4, 5, 6). Es scheint, dass nach dem Untergange der Vibrionen die Toxine befreit wären und dadurch die Intoxication des Thieres herbeiführen. Es zeigt sich demnach die Pfeiffer'sche Vermuthung, dass die Choleratoxine in den Bacillenleibern enthalten sind, im höchsten Grade wahrscheinlich.

Tabelle XI. Verhalten normaler (1—3) und immunisirter (4—6) Meerschweinchen bei intraperitonealer Injection des lebenden Choleravirus.

Zusammenfassung.

1. Die intraperitonealen oder subcutanen Injectionen von Blutserum normaler Menschen, so wie auch von verschiedenen sauren, alkalischen oder neutralen Flüssigkeiten, verleihen Meerschweinchen eine gewisse Resistenz gegen die intraperitoneale Cholerainfektion. Diese Resistenz äussert sich schwach und vorübergehend und deswegen darf sie mit der wahren Immunität der mit bakteriellen Choleraproducten vaccinirten Meerschweinchen nicht identificirt werden.

2. Die gegen Cholera vaccinirten Meerschweinchen erlangen, trotz ihrer hohen Unempfindlichkeit gegen die Infection mit lebenden *Vibrio*-culturen, keine Immunität gegen die Toxine desselben *Vibrio*. Das Blut gegen Cholera immunisirter Meerschweinchen besitzt keine antitoxische Eigenschaft. Die maximale Choleratoxindosis, welche die immunisirten Meerschweinchen vertragen können, ist nicht höher als die der Controlthiere und nur sehr wenig grösser als die Maximaldosis des von ihnen gerade noch vertragenen intraperitoneal injicirten lebenden Choleravirus.

3. Das Blut von gegen Cholera sorgfältig immunisirten Meerschweinchen besitzt specifische, sehr stark ausgesprochene immunisirende und in gewissem Sinne auch heilende Eigenschaften.

4. Das Blut von Cholerareconvalescenten besitzt ebensolche specifische und heilende Eigenschaften, wie dasjenige gegen Cholera vaccinirter Meerschweinchen. Diese Eigenschaft tritt erst gegen Ende der dritten Woche nach der Erkrankung hervor und verschwindet wieder 2 bis 3 Monate später vollständig.

5. Die Zellenreaction, welche in der Phagocytosis ihren Ausdruck findet, spielt die Hauptrolle im Schutzprocesse des Organismus derjenigen Meerschweinchen, welche durch Injectionen von Bouillon, Kochsalzlösung und verschiedener anderer Flüssigkeiten gegen Cholerainfektion geschützt sind.

6. Auch in der Immunität der Meerschweinchen gegen intraperitoneale Cholerainfektion wird der Phagocytosis eine nicht unbedeutende Rolle zuzuschreiben sein. Es unterliegt keinem Zweifel aber, dass hierbei auch die Mitwirkung anderer Factoren nicht zu leugnen ist, denn die Resistenz der Meerschweinchen, in deren Organismus die Leuko- und Phagocytosis durch Injectionen von verschiedenen sauren, neutralen etc.

Flüssigkeiten hervorgerufen sind, ist geringfügig und vorübergehend im Vergleich mit der Immunität, welche die Meerschweinchen nach Injectionen von bakteriellen Producten des Cholera vibrio erlangen.

Ich schätze mich glücklich, an dieser Stelle dem Hrn. Geheimrath Prof. Koch, mit dessen Zustimmung ich die Bearbeitung des Problems der Immunität gegen Cholera im Institut für Infektionskrankheiten unternommen habe, meinen wärmsten Dank auszusprechen.