

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]

## Ueber die specifische Bedeutung der Choleraimmunität.<sup>1</sup>

Von

Prof. R. Pfeiffer und Dr. Issaeff.

---

R. Pfeiffer hatte in seinen „Untersuchungen über das Choleragift“ den Nachweis geführt, dass Meerschweinchen nach intraperitonealer Einverleibung der lebenden oder todtten Massauahvibrionen mit charakteristischen Symptomen erkranken, die mit den Krankheitserscheinungen des Stadium algidum der menschlichen Cholera bemerkenswerthe Analogieen darbieten. In derselben Arbeit findet sich die Angabe, dass andere Vibrionen, der Kommabacillus von Finkler und der *Vibrio Metschnikowi* unter den gleichen Versuchsbedingungen bei Meerschweinchen sehr ähnliche Vergiftungserscheinungen auszulösen vermögen. Dass die typischen, frisch aus dem Darm cholerakranker Menschen gezüchteten Cholera-bakterien sich im Thierversuch ebenso verhalten, wurde durch R. Pfeiffer und A. Wassermann<sup>2</sup> ausführlich nachgewiesen. Weitere Untersuchungen, die im Institut für Infectionskrankheiten angestellt wurden, zeigten dann, dass *Bact. coli* und *Bac. typhi*, wenn sie in die Bauchhöhle des Meer-schweinchens injicirt werden, starke Erniedrigung der Körpertemperatur und tödtlichen Collaps herbeiführen können, also toxische Effecte entfalten, die auf den ersten Blick den Giftwirkungen der echten Cholera-bakterien zum Verwechseln ähnlich sehen. Hüppe theilte in seiner Kritik der Pfeiffer'schen Arbeit mit, dass er absolut das gleiche Vergiftungsbild durch die intraperitoneale Einspritzung der verschiedensten, auch

---

<sup>1</sup> Eingegangen am 23. April 1894.

<sup>2</sup> Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität. *Diese Zeitschrift*. Bd. XIV. S. 46.

nicht pathogenen Bakterienarten, ja sogar nach Injection unorganisierter Fermente beobachtet habe. Er fasst demnach das von R. Pfeiffer zuerst beschriebene Krankheitsbild als eine Vergiftung mit proteolytischen Fermenten auf, die jeder Specificität ermangele und daher nicht zur Erklärung der Symptome der menschlichen Cholera herangezogen werden könne. Die Hüppe'schen Angaben fanden in neuerer Zeit Bestätigung durch die Publicationen von Klein und Sobernheim. Die letztgenannten Autoren ziehen aus ihren Experimenten den Schluss, dass alle von ihnen untersuchten Bakterienarten in ihrer Körpersubstanz ein und dasselbe Gift enthalten.

Diesen Einwürfen gegenüber hat R. Pfeiffer<sup>1</sup> hervorgehoben, dass es für seine Auffassung der Choleravergiftung unerheblich ist, ob die Krankheitserscheinungen des Stadium algidum, welche im Wesentlichen auf einer toxischen Lähmung der Temperatur- und Circulationscentren beruhen, durch giftige Substanzen hervorgerufen werden, die in der Klasse der Bakterien universell verbreitet sind, da eben nur die Cholera Bakterien im Darm des Menschen die Fähigkeit besitzen, die complicirten Bedingungen, welche zur rapiden Resorption grosser Quantitäten des fraglichen Bakterienkörpertoxins erforderlich sind, zu erfüllen. Andererseits war R. Pfeiffer nie im Zweifel darüber, dass die scheinbare Gleichheit der Vergiftungserscheinungen nicht ohne Weiteres zu einem Schluss auf die Identität der Toxine berechtigt. Um ein etwas krasses Beispiel anzuführen: die Arsenikintoxication kann durchaus unter dem klinischen Bilde der asiatischen Cholera verlaufen; wer aber würde deshalb arsenige Säure und Cholera Gift identificiren wollen? So einfach, wie Hüppe, Klein und Sobernheim sich vorstellen, liegt die Sache eben nicht. Vielleicht wird in späterer Zeit die fortschreitende Chemie dazu gelangen, die hier in Betracht kommenden Bakteriengifte rein darzustellen und auf dem Wege der Analyse die Frage nach der Identität derselben in bejahendem oder verneinendem Sinne zu entscheiden. Leider ist die physiologische Chemie von diesem Ideal noch weit entfernt. Immerhin vermag sie schon jetzt gewisse Analogieen zu bieten, die uns ermahnen, nicht voreilig zu urtheilen. So wissen wir, dass in allen thierischen und pflanzlichen Zellen Nucleinsubstanzen enthalten sind, die zum eisernen Bestand dieser Elementarorganismen gehören. Obwohl die Nucleine eine ganze Reihe von Reactionen gemeinsam haben, so hat doch Kossel bewiesen, dass sie nicht unter sich identisch sein können, sondern Unterschiede aufweisen, die selbst für unsere relativ groben chemischen Hilfsmittel erkennbar sind.

---

<sup>1</sup> Studien zur Choleraätiologie. *Diese Zeitschrift*. Bd. XVI. S. 275.

Zum Glück können wir für die Differenzirung der Bakterien und ihrer Giftsubstanzen vorläufig der Mitwirkung der Chemie entbehren, da wir ein ausserordentlich feines Reagens in dem biologischen Verhalten bei der Immunisirung besitzen. Alle bisherigen Erfahrungen sprechen dafür, dass die geheimnissvollen, zur Immunität führenden Vorgänge, welche im Thierkörper nach Einführung der lebenden Bakterien oder ihrer Gifte sich abspielen, etwas durchaus Specificsches sind. Gelingen es daher mit irgend einer derjenigen Bakterienarten, welche bei Meerschweinchen scheinbar das gleiche Vergiftungsbild hervorrufen wie die typischen Cholera vibrios, gegen diese letzteren eine wahre Immunität zu erzeugen, so wäre nach dem jetzigen Stande unserer Kenntnisse an der Gleichheit der Giftsubstanzen kaum zu zweifeln. Und Klein und Sobernheim, denen sich C. Fränkel in seiner Arbeit „Versuche über das Zustandekommen der künstlichen Immunität“<sup>1</sup> anschliesst, behaupten allen Ernstes, diesen Beweis geführt zu haben.

Klein<sup>2</sup> benutzte zu seinen Versuchen Bouillonaufschwemmungen von Agarculturen der Cholera, des *Vibr. Finkler*, *Bact. coli*, *Bac. prodigiosus*, die durch 10 bis 15 Minuten langes Erhitzen auf 62 bis 65° sterilisirt wurden. Von diesen abgetödteten Culturen spritzte er eine nicht tödtliche, aber krankmachende Dosis in das Peritoneum von Meerschweinchen. „Werden nun Thiere, die die erste Injection überstanden haben, zum zweiten Mal intraperitoneal mit einer letalen Dosis der lebenden Cultur irgend eines der erwähnten Mikroben injicirt, so zeigen sie sich dagegen vollkommen resistent; es ist dabei gleichgültig, ob diese zweite Injection mit lebender Cholera cultur oder mit der eines der anderen Mikroben stattfindet.“ Auch durch subcutane Injectionen will Klein zum gleichen Resultat gelangt sein. Seite 432 sagt er wörtlich: „Ich verfüge über eine ganze Reihe von Meerschweinchen, die nach einer einzigen intraperitonealen oder nach wiederholter subcutaner Injection sterilisirter Cultur des *Spirillum Finkler*, des *Bac. coli* oder des *Bac. prodigiosus* und nachdem sich die Thiere wieder während mehrerer Tage von den hierdurch bedingten, vorübergehenden Krankheitserscheinungen erholt hatten, hierauf mit letalen (am Controlthier erprobten) Dosen der lebenden Cholera cultur, selbst des Virus fixe von Haffkine, intraperitoneal injicirt wurden; alle Thiere widerstanden dieser Injection und zeigten sich »cholera giftfest«.“

Sobernheim<sup>3</sup> nahm auf Anregung von C. Fränkel die Klein'-

<sup>1</sup> *Hygienische Rundschau*. 1894. Nr. 3 u. 4.

<sup>2</sup> Die Anticholera vaccination. *Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde*. 1893. S. 426.

<sup>3</sup> Zur intraperitonealen Cholera infection des Meerschweinchens. *Hygienische Rundschau*. 1893. S. 22.

schen Versuche auf und gelangte zu ähnlichen Ergebnissen. Er fand, dass Meerschweinchen, welche durch intraperitoneale Einspritzung abgetödteter Culturen des *Proteus vulgaris*, *Bac. prodigiosus*, Typhus, *Bact. coli*, *Vibr. Finkler* und *Heubacillus* vorbehandelt waren, nach drei Tagen der gleichfalls intraperitonealen Einverleibung der tödtlichen Dosis der lebenden Cholera Bakterien widerstanden.

Wie sind nun diese merkwürdigen Ergebnisse zu erklären? Hat C. Fränkel Recht, wenn er auf die Klein-Sobornheim'schen Experimente gestützt zu der Vorstellung kommt: „Die künstliche Immunität bei der Laboratoriumscholera der Meerschweinchen entbehrt durchaus der specifischen Bedeutung; es handelt sich hier um eine allgemeine Protein-infection und Proteinimmunität“, oder liegt ein Trugschluss vor, bedingt durch die falsche Auffassung an sich richtiger Experimente?

Da die Entscheidung dieser Frage nicht allein für die Vorstellungen über das Wesen der Choleraimmunität, sondern für eine rationelle Auffassung der Bakterienkrankheiten überhaupt, von grundlegender Bedeutung ist, so haben wir mit aller Energie an ihrer Lösung gearbeitet. Die sehr zahlreichen Versuche, über welche wir zu berichten haben, sind recht difficieler Natur. Ihr Gelingen ist von einer genauen Beachtung einer grossen Menge scheinbar nebensächlicher Vorsichtsmaassregeln abhängig, mit welchen eine jahrelange Bearbeitung dieses Specialgebietes uns vertraut gemacht hat. Wir müssen daher von Allen, welche unsere Resultate einer Nachprüfung unterziehen wollen, die strikte Beachtung unserer Vorschriften verlangen.

Die erste und wichtigste Vorbedingung ist die Auswahl einer geeigneten, typischen Cholera cultur. Die Forderung, dass nur unzweifelhafte Cholera culturen für Experimente über die Wirkung der Koch'schen Bacillen auf den Thierorganismus Verwendung finden dürfen, könnte überflüssig erscheinen und doch stellen wir sie mit gutem Grund voran. Es befinden sich in den bakteriologischen Laboratorien vielfach Vibrionenculturen, die als Cholera signirt werden, die aber durch ihre Herkunft und durch ihre abweichenden culturellen und biologischen Eigenschaften zum mindesten sehr suspect sind. Wir werden im Laufe dieser Untersuchungen den Beweis führen, dass eine ganze Zahl derartiger Culturen keinesfalls mit den Koch'schen Vibrionen identisch sein können. Am besten benutzt man daher Culturen, welche aus den frischen Entleerungen oder den Darmschlingen typischer Cholerafälle während des Herrschens einer ausgebildeten Epidemie durch das Gelatineplattenverfahren gewonnen sind. Für unsere Versuche bedienten wir uns einer Cultur, die im Frühjahr 1893 in Hamburg aus einem wohl charakterisirten Cholerafälle isolirt war, und die ihre Cholera natur unliebsam genug auch dadurch

bekundet hatte, dass der eine von uns (R. Pfeiffer) bei Anstellung von Thierversuchen sich damit inficirte und an einem regelrechten mittelschweren Choleraanfall erkrankte. Diese Cultur, die seitdem der Kürze halber als Cholera Pfeiffer bezeichnet wurde, verhält sich nach jeder Hinsicht wie die echte indische Cholera. Sie ist bei intraperitonealer Einverleibung für Meerschweinchen sehr virulent und tödtet Thiere von mittlerem Gewicht (200 bis 300 <sup>grm</sup>) schon in der Dosis von  $\frac{1}{10}$  bis  $\frac{1}{12}$  einer Oese, die nach mehrfachen Wägungen ca. 2 <sup>mgrm</sup> Culturmasse fasst (Dosis letalis minima). Vom Subcutangewebe aus vermag sie bei Meerschweinchen in der Dosis von 1 Oese, selbst wenn diese Virusquantität in 1 <sup>cem</sup> Bouillon aufgeschwemmt injicirt wird, nur vorübergehendes Fieber und eine zur Hautnekrose führende Localaffection zu erzeugen. Tauben, denen 1 Oese in Substanz in eine kleine Wunde des Brustmuskels eingeführt wird, überstehen diesen Eingriff beinahe reactionslos. Es ist wünschenswerth, dass Choleraeulturen, die zur Nachprüfung unserer Experimente verwandt werden sollen, eine ähnliche Virulenz besitzen, da sonst die Prägnanz der Versuche Einbusse erleidet. In der Regel gelingt es, schwächer wirksame Culturen durch öfters wiederholte Passagen durch den Meerschweinchenkörper wieder anzuzüchten; unter allen Umständen ist es rathsam, die Culturen nicht gar zu lange auf künstlichen Nährsubstraten fortzupflanzen, sondern sie von Zeit zu Zeit durch das Thier gehen zu lassen, um die ursprüngliche Wirkungsfähigkeit möglichst lange zu erhalten.

Der zweite Punkt, dem wir besondere Aufmerksamkeit zu widmen bitten, betrifft die genaue Dosirung der Virusmengen. Wir kennen kaum irgend eine andere Infectiouskrankheit, welche ein so quantitativ genaues Arbeiten gestattet und erfordert, wie die experimentelle Choleraeinfektion der Meerschweinchen. Wir bedienten uns für alle Experimente dieser Versuchsreihe ein und derselben Platinöse, deren Inhalt (2 <sup>mgrm</sup>) vorhin angegeben wurde. Trotz der Einwendungen, die von verschiedenen Seiten gegen diese Methode erhoben worden sind, können wir nicht umhin, den von uns befolgten Dosirungsmodus für den relativ genauesten zu erklären. Wir haben es ja nicht mit irgend einem einheitlichen, chemischen Körper zu thun, sondern mit einem Rasen lebender Mikroorganismen, der mit der Feuchtigkeit des Nährgases durchtränkt ist. Nun ist bei den Thierversuchen nicht etwa das absolute Gewicht der lebenden Culturmasse ausschlaggebend, sondern sehr viel wichtiger ist die Anzahl der lebensfähigen und virulenten Kommabacillen, die in der Gewichtseinheit enthalten sind. Dieselbe Gewichtsmenge der lebenden Choleraeulturen wird daher sehr verschiedene Wirkungen auf die Meerschweinchen ausüben können, je nach der Quantität der damit übertragenen infectionstüchtigen Keime.

Diese Erwägungen zeigen uns, dass der Vorthail des quantitativ genauen Abwägens auf der chemischen Wage schon durch die ganz uncontrolirbare Wasserverdunstung, welche bei den kleinen in Frage kommenden Gewichtsmengen relativ grosse Fehler hervorbringen muss, mehr als aufgehoben werden würde.

Nicht zu empfehlen ist ferner die Methode der Dosirung, welche Sobernheim<sup>1</sup> beschreibt. Sobernheim nimmt diejenige Menge von Cholera-cultur, die sich auf der Oberfläche eines Agarröhrchens innerhalb 24 Stunden entwickelt hat, als Grundmaass, und bemisst seine Virusdosen in Bruchtheilen einer derartigen Cultur. Wir sind der Ansicht, dass dieser Maassstab viel zu schwankend ist, um als Unterlage für exacte Untersuchungen zu dienen.

Sehr wichtig ist, dass ein einheitlicher, dem Cholera-wachsthum zusagender Nährboden benutzt wird. Culturen, die auf sehr wasserreichem, vielleicht noch dazu schwachsaurem Agar gewachsen sind, werden ceteris paribus sich sehr viel weniger wirksam zeigen, als Culturen auf gutem, normalem Nährsubstrat. Es ist sehr leicht möglich, dass die auffällig geringe Virulenz, welche verschiedene Beobachter für ihre Cholera-culturen gefunden haben wollen, auf die Verwendung schlechten Agars zurückzuführen ist. Wir arbeiteten ausschliesslich mit 20stündigen, stets frisch angelegten Cholera-culturen auf ziemlich stark alkalischem Agar von gleichbleibender Zusammensetzung.

Das mit Hülfe der Platinöse abgemessene Virusquantum wurde vor der Injection mit Bouillon verdünnt und zwar derart, dass die einzuspritzende Dosis der Cholera-bakterien stets in 1 <sup>cem</sup> der Bouillon aufschwemmung enthalten war. Zahlreiche Vorversuche haben uns darüber belehrt, dass die Quantität der mitinjicirten Bouillon auf den Ausfall der Experimente von nicht zu vernachlässigender Bedeutung ist.

Von grosser Wichtigkeit ist die Grösse der Meerschweinchen. Wir haben unsere Versuche ausschliesslich an kleinen Thieren angestellt, deren Körpergewicht 200 <sup>gramm</sup> nur wenig überstieg.

Subcutane Injectionen von Serum haben wir stets in die Bauchhaut gemacht. Wir heben dies hervor, da möglicher Weise die Entfernung der Injectionsstelle vom Cavum peritonei auf den Ablauf der dort sich abspielenden Infectionsprocesse von Einfluss sein könnte.

Zur Nachprüfung der Klein-Sobernheim'schen Versuche verwandten wir die folgenden vier Bakterienarten, Proteus, Typhus, Bact. coli und Bac. pyocyaneus. Zunächst bestimmten wir die Virulenz dieser Culturen für Meerschweinchen von 200 bis 300 <sup>gramm</sup> Gewicht. Wir fanden

<sup>1</sup> Experimentelle Untersuchungen über Cholera-gift und Cholerascchutz. *Diese Zeitschrift*. Bd. XIV. S. 486.

für *Proteus* 2 Oesen, für die drei anderen *Bacillenspecies* 1 Oese als die absolut tödtliche Dosis.

Tabelle I.

Virulenz der benutzten Culturen.

Es erhielten Meerschweinchen:

	I	II	III	IV
22./XII. 1893 um 10 Uhr Morgens.	2 Oesen <i>Proteus</i> 20 stündiger Agarcultur intraperitoneal.	1 Oese Typhus  desgl.	1 Oese <i>Bac. coli</i>  desgl.	1 Oes. <i>B. pyocyaneus</i>  desgl.
12 Uhr	36.0	36.8	38.0	40.0
2 „	33.0	36.0	38.5	41.5
4 „	30.6	34.0	36.5	40.5
5 „	30.0	32.0	34.0	38.4
6 „	29.0	30.0	32.0	36.5
	† 10 Uhr Abends.	† in der Nacht.	† in der Nacht.	† um 6½ Uhr.

Bei diesen Versuchen constatirten wir in Bestätigung früherer Angaben, dass *Proteus*, Typhus und *Bact. coli* die Thiere unter starker Herabsetzung der Körpertemperatur tödten, ganz ähnlich wie die Cholera-bakterien, dass aber der *Bac. pyocyaneus* sich anders verhält. Bei den damit infectirten Thieren trat hohes Fieber ein, bis 41.5, welches erst eine halbe Stunde vor dem Exitus einer nur wenig ausgesprochenen Temperaturerniedrigung, die also lediglich Agonal-Erscheinung ist, Platz machte. Substanzen, welche auf die Centren der Circulation und der Körperwärme lähmend wirken, kommen daher trotz ihrer grossen Verbreitung in der Familie der Bakterien, nicht allen Bakterienarten zu. Man hat sich also auch in dieser Beziehung vor unvorsichtiger Verallgemeinerung zu hüten.

Für jede Bakterienart wurden mehrere Meerschweinchen durch mindestens dreimalige Vorbehandlung mit den abgetödteten oder lebenden Culturen durch subcutane und intraperitoneale Injectionen activ immunisirt, wobei die Schutzimpfungen in Zwischenräumen von je einer Woche vorgenommen wurden. Das Nähere über die Art der Vorbehandlung ist aus der nachstehenden tabellarischen Uebersicht der Thierversuche zu ersehen. Frühestens 2 Tage und spätestens 16 Tage nach der letzten intraperitonealen Schutzimpfung prüften wir die Resistenz der Thiere gegen die intraperitoneale Einverleibung der Cholera-bakterien. Wir injectirten jedes Mal eine Oese unserer Cholera-cultur. Diese Dosis wird von Meerschweinchen, welche in der oben beschriebenen Weise mit echten Cholera-vibrionen vorbehandelt sind, fast ohne jede Reaction vertragen, ist also, wenn es sich um die Constatirung wahrer Immunität gegen Cholera

Tabelle II.  
Einfluss der Immunisirung mit verschiedenen Bakterienarten auf die Resistenz der Meerschweinchen gegen die intraperitoneale Cholerainfection.

Nummer der Meer- schweinh.	Körper- gewicht grm	Vorbehandlung	Zeit der Infection	Virusdosis	Erfolg	Bemerkungen
I	280	19./XII. 93. 1 Oese mit Chloroform- dämpfen sterilisierter Agar- cultur intraperitoneal Proteus $\left\{ \begin{array}{l} 27./XII. 93. \frac{1}{2} \text{ Oese lebender Cultur} \\ 2./I. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese desgl.} \end{array} \right.$	17./I. 94. d. h. 15 Tage n. der letzten Schutzimpf.	1 Oese Cholera intraperit.	todt 6 Std. nach der Cholera- infection	Im Blute vereinzelte Vibrionen. Im Peritonealexsudate massen- hafte Kommabacillen nachweisbar. Allgemein-Infection.
II	265	19./XII. 93. 1 Oese abgetödtet. intrap. Proteus $\left\{ \begin{array}{l} 27./XII. 93. \frac{1}{2} \text{ Oese lebender Cultur} \\ 7./I. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese } " " \end{array} \right.$	10 Tage "	"	todt 8 Std. nach der Cholera- infection	Blut steril. Im Peritonealexsudate lassen sich Kommabacillen weder frei noch in Zellen nachweisen. Localaffection.
III	270	27./XII. 93. 1 Oese abgetödtet. intrap. Proteus $\left\{ \begin{array}{l} 7./I. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese lebender } " " \\ 15./I. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese } " " \end{array} \right.$	2 Tage "	"	bleibt am Leben	Temperaturabfall b. z. 33.0 Das Controlthier ging an $\frac{1}{13}$ Oese Cholera zu Grunde.
I	330	15./I. 94. $\frac{1}{2}$ Oese mit Chloroform- dämpfen abgetödtet. Agar- cultur intraperitoneal Bac. coli $\left\{ \begin{array}{l} 23./I. 94. \frac{1}{4} \text{ Oese lebend. Virus intrap.} \\ 29./I. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese desgl.} \\ 10./II. 94. \text{ Blutenziehung aus Carotis} \end{array} \right.$	14./I. 94. d. h. 15 Tage n. der letzten Schutz- impfung	1 Oese Cholera intraperit.	todt 16 Std. nach der Virus- injection	Eiternde Wunde am Hals (Folge d. Carotisunterbindung). Im Peri- toneum zahlreiche Eiterflocken, mässig reichlich freie Bakterien. Im Blute culturell sehr wenig Kommabacillen.
II	345	15./I. 94. $\frac{1}{2}$ Oese abgetödtet. intrap. Bac. coli $\left\{ \begin{array}{l} 23./I. 94. \frac{1}{4} \text{ Oese lebendes Virus } " " \\ 5./II. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese desgl.} \end{array} \right.$	10 Tage "	"	todt 8 Std. nach Virus- injection	Im Peritonealexsudate reichlich Kommabac. Blut auf Agarplatten ausgestrichen ergab 3 Colonien von Choleravibrionen.
III	295	23./I. 94. $\frac{1}{2}$ Oese abgetödtet intrap. Bac. coli $\left\{ \begin{array}{l} 5./II. 94. \frac{1}{4} \text{ Oese lebendes Virus } " " \\ 12./II. 94. \frac{1}{2} \text{ Oese desgl.} \end{array} \right.$	2 Tage "	"	bleibt am Leben	Temperaturabfall b. z. 30.0 Das Controlthier an $\frac{1}{10}$ Oese Cholera intraperiton. gestorben.



(Fortsetzung.)

Nummer der Meer- schwein- ch.	Körper- gewicht gms	Vorbehandlung	Zeit der Infection	Virusdosis	Erfolg	Bemerkungen
I	290	Typhus { 4./I. 94. 1/2 Oese abgetödt. subcutan 9./I. 94. desgl. intraperiton. 15./I. 94. 1/2 Oese leb. Virus intraper. 23./I. 94. desgl. inoculation	7./II. 94, d. h. 15 Tage n. d. letzten Typhus- inoculation	1 Oese Cholera intraperit.	† nach 7 1/2 Std.	Allgemein-Infektion
	300	Wie Meerschweinchen Nr. I	desgl.	"	† n. 10 Std.	desgl.
	235	Typhus { 4./I. 94. 1/2 Oese abgetödt. subcutan 15./I. 94. desgl. intraperiton. 20./I. 94. 1/2 Oese leb. Virus intraper. 29./I. 94. desgl.	10 Tage "	"	† nach 8 1/2 Std.	Im Blute sind mikroskopisch die Vibrionen nicht nachzuweisen. Auf Plattencultur a. d. Blute 5 Colon. gewachsen. Im Peritonealexsudate reichliche Kommabacillen.
IV	260	Typhus { 9./I. 94. 1/2 Oese abgetödt. subcutan 15./I. 94. desgl. intraperiton. 29./I. 94. 1/2 Oese leb. Virus intraper. 5./II. 94. desgl.	2 Tage "	"	bleibt am Leben	Temperaturabfall b. z. 35.5  Das Controlthier an 1/4 Oese Cholera intraperiton. gestorben.
	590	Bac. pyoc. { 6./II. 94. 1 Oese abgetödt. intraper. 12./II. 94. desgl. 18./II. 94. 1/2 Oese leb. Virus intraper.	6./III. 94, d. h. 16 Tage n. d. letzten Schutz- impfung	1 Oese Cholera intraper.	† nach 16 Stunden	Im Peritonealexsudate mässig viel freie Kommabacillen.
	380	Bac. pyoc. { 13./II. 94. 1 Oese abgetödt. intraper. 20./II. 94. desgl. 4./II. 94. 1/2 Oese leb. Virus intraper.	2 Tage "	"	blieb am Leben	Temperaturabfall b. z. 35.0  Das Controlthier an 1/2 Oese gestorben.

handelt, sicherlich nicht zu gross; andererseits durften wir unter diese Dosis nicht heruntergehen, da, wie Issaeff gezeigt hat, jede irgendwie erzeugte Reizung des Bauchfelles den Meerschweinchen gegen die intraperitoneale Einspritzung der lebenden Kommabacillen eine erhöhte Resistenz verleiht, indem die eingebrachten Vibrionen in der entzündeten, von Leukocyten durchsetzten Bauchhöhle schneller dem Untergange anheimfallen, als in dem Peritoneum normaler Thiere. Nun erzeugt die intraperitoneale Injection der Typhus-, Bact. coli-, Proteus- und Pyocyaneus-Bacillen stets eine eitrige Bauchfellentzündung, die auch nach ihrer Rückbildung noch längere Zeit Residuen hinterlässt, welche uns nicht gestatten, ein derartig verändertes Bauchfell ohne Weiteres mit einem normalen in Vergleich zu setzen.

Injicirt man eine Oese Choleracultur einem nicht vorbehandelten Meerschweinchen, so erliegt dasselbe durchschnittlich nach 6 bis 7 Stunden unter dem bekannten Krankheitsbilde. Bei der Section ist das Peritoneum mit reichlichen Mengen nur wenig getrüübter seröser Flüssigkeit angefüllt, welche von lebhaft sich bewegenden Vibrionen wimmelt. Man findet in solchen Fällen die Kommabacillen auch im Herzblut der Thiere und in den Organen, als Beweis dafür, dass gegen diese relativ zu hohe Dosis des Infectiousmaterials die bactericiden Fähigkeiten des normalen Meerschweinchenorganismus sich ohnmächtig erweisen. Einen derartigen Befund bei unseren Versuchsthieren haben wir in der Rubrik „Bemerkungen“ der nachfolgenden Tabelle der Kürze halber als „allgemeine Infection“ bezeichnet. Unter „Localaffection“ verstehen wir einen Zustand, wo post mortem die Cholerabakterien ausschliesslich auf die Bauchhöhle sich beschränkt zeigen. Das Bauchhöhlenexsudat pflegt dann fibrinöseitige Flocken zu enthalten, eitrige, festsitzende Beläge bedecken besonders die Vorderfläche der Leber. Die gewöhnlich sehr spärlichen Vibrionen liegen dann grossentheils in Eiterzellen eingeschlossen. Ein derartiger Sectionsbefund deutet bei der angegebenen Dosis der Cholerabakterien stets daraufhin, dass erhöhte bactericide Wirkungen in dem Thierkörper während des Lebens vorhanden waren, die allerdings nicht ausreichen, um den durch die Intoxication bedingten letalen Ausgang zu verhüten. (S. Tabelle II.)

Eine genauere Durchsicht dieser Tabelle ergibt, dass sämmtliche Meerschweinchen, bei welchen mehr als zehn Tage seit der letzten Vorbehandlung mit irgend einer der vier Bakterienarten (Typhus, Proteus, Bact. coli, Pyocyaneus) verflossen waren, der Cholerainfection prompt erlegen sind. Besonders hervorzuheben zu werden verdient die Thatsache, dass zehn Tage nach der letzten Schutzimpfung noch ein gewisses Maass von Resistenz vorhanden

war, da bei der Section derartiger Meerschweinchen in der Regel das Bild der Localaffection gefunden wurde, bei einem Thier (Nr. II. der Proteusreihe) das Peritonealexsudat sich sogar als völlig steril erwies, während nach 15 Tagen von einer Schutzwirkung kaum noch etwas zu spüren war. Eine scheinbare Ausnahme macht nur das Bact. coli Thier Nr. I. Bei diesem Meerschweinchen war vier Tage vor der Injection der Cholera Bakterien aus der Carotis Blut entnommen worden. Die Wunde eiterte ziemlich stark, und es ist sehr wahrscheinlich, dass auf den Einfluss dieser Complication die im Obductionsbefund deutlich sich manifestirende Resistenz des Thieres zu beziehen ist. Wissen wir doch aus Issaeff's Untersuchungen, dass subcutane Injectionen von Bouillon und sogar von physiologischer Kochsalzlösung den Ablauf der intraperitonealen Cholera infection beeinflussen können, wie viel mehr wird eine frische Eiterung sich wirksam zeigen müssen! Dass diese Erklärung richtig ist, beweist Thier II. derselben Versuchsreihe, das schon zehn Tage nach der letzten Vorbehandlung mit Bact. coli mit typischer Allgemeininfektion“ zu Grunde ging, bei dem also von einem schützenden Effect nichts zu merken war.

Dagegen kamen die vier Thiere, welche zwei Tage nach der letzten Schutzimpfung mit Cholera inficirt wurden, mit dem Leben davon, allerdings nach dem Ueberstehen stark ausgesprochener Vergiftungserscheinungen. So sank bei dem Bact. coli-Meerschweinchen Nr. III. die Körpertemperatur bis auf 30° C.

Wir ziehen aus diesem Ausfall unserer Versuche folgenden Schluss: Die Vorbehandlung mit Bact. coli, Proteus, Typhus und Pyocyaneus, vermag in der That, der Angabe Klein-Sobernheim's entsprechend, Meerschweinchen unter bestimmten Umständen gegen eine für Controlthiere absolut tödtliche Dosis der Cholera Bakterien zu schützen. Dieser Schutz ist sehr ausgesprochen am zweiten Tage nach der letzten Vorbehandlung, ist am zehnten Tage schon sehr schwach, und ist am 15. Tage nicht mehr nachzuweisen. Er geht demnach parallel mit dem Ablauf der durch die Vorbehandlung mit den entzündungserregenden Bakterien gesetzten Peritonitis, ist am grössten, so lange diese Entzündung floride ist und verschwindet in demselben Maasse, wie die Peritonitis sich zurückbildet. Wir dürfen daher die auf diesem Wege erzeugte Resistenz nicht zusammenwerfen mit der wahren Choleraimmunität, die wie jede andere Immunität zu ihrer Entstehung einer Reihe von Tagen bedarf, dann aber, ganz unabhängig von im Peritoneum etwa vorhandenen irritativen Vorgängen, mehrere Monate lang sich erhält.

Wir verfügen aber noch über ein zweites Mittel, uns darüber zu vergewissern, ob die durch Vorbehandlung mit fremden Bakterienarten

erzeugte vorübergehende Resistenz der Meerschweinchen gegen die intra-peritoneale Cholerainfektion auf richtiger Immunisirung beruht oder nicht. Wir wissen, dass das Blut von Thieren, welche gegen irgend eine Bakterienart immunisirt sind, spezifische Eigenschaften erwirbt, die sich mit dem Serum auf andere Thiere übertragen lassen und diesen letzteren eine passive Immunität gegen dieselbe Bakterienart oder deren Giftstoffe verleiht. So verhält sich auch in ausgesprochenster Weise das Blut von Menschen und Thieren, welche eine Immunität gegen Cholera erworben haben. Wir sahen uns daher vor die Frage gestellt, ob dem Blute unserer gegen Typhus, *Proteus*, *Bact. coli* oder *Pyocyaneus* immunisirten Thiere eine spezifisch schützende Kraft gegen die Cholerainfektion innewohnt oder nicht. Hierbei war die von Metschnikoff, G. Klemperer u. A. gefundene Thatsache zu berücksichtigen, dass jedes normale Blut, wenn es in grösseren Quantitäten in die Bauchhöhle von Meerschweinchen injicirt wird, den Thieren 24 Stunden später eine deutliche Resistenz gegen die für Controlthiere tödtliche Dosis des Cholera-virus zu verleihen vermag.<sup>1</sup> Sehr genau hat Issaëff diese merkwürdigen Wirkungen des normalen Blutserums verfolgt. Es zeigte sich, dass die Schutzkraft des normalen Meerschweinchen- oder Menschenserums besonders bei intraperitonealer Einverleibung sich bemerkbar macht, und dass 0.5 bis 1.0 <sup>ccm</sup> Serum unter solchen Umständen Meerschweinchen von 200—300 <sup>grm</sup> Gewicht selbst gegen eine ganze Oese unserer hochvirulenten Cholera-cultur festigen können. Geringer, aber immer noch sehr deutlich ausgesprochen ist der

<sup>1</sup> Die Nichtbeachtung dieser Verhältnisse hat C. Fränkel und Sobernheim zu höchst merkwürdigen Irrthümern veranlasst. In ihrer Arbeit (Versuche über das Zustandekommen der künstlichen Immunität) behaupten diese Autoren, es sei ihnen gelungen, die Immunität gegen Cholera durch mehrere Generationen hindurch auf immer neue Meerschweinchen dadurch zu übertragen, dass sie das Serum der vorhergehenden Generation in der Menge von 0.5 bis 4.0 <sup>ccm</sup> der folgenden Serie intraperitoneal injicirten. Gegen die Thatsächlichkeit dieser Experimente ist nichts einzuwenden, aber die höchst geistreiche Deutung, welche C. Fränkel und Sobernheim ihren Thierversuchen gegeben haben, ist sicherlich falsch. Wenn jedes normale Meerschweinchen-serum in der angegebenen Dosis und Applicationsweise den gleichen Effect ausübt, dann bedarf es nicht erst mystischer immunisirender Wirkungen, die mit dem Blute von Thier zu Thier in einer allen bisherigen Erfahrungen widersprechenden Art übertragbar sein sollen. Zudem ist schon die erste Voraussetzung unserer Autoren irrtümlich. Das Serum von Meerschweinchen besitzt zwei Tage nach der Schutzimpfung überhaupt noch keine spezifisch immunisirenden Eigenschaften, kann diese daher auch nicht anderen Meerschweinchen mittheilen.

Merkwürdig ist bei den Versuchen C. Fränkel's und Sobernheim's nur das eine, dass „der Faden überhaupt einmal abgerissen ist“. —Bei völlig fehlerfreier Ausführung der Experimente, vor Allem bei genauerer Dosirung des Cholera-virus hätte die Versuchsreihe sich leicht in infinitum ausdehnen lassen müssen.“

Tabelle III.

Einfluss des Blutserums von gegen verschiedene Mikroben immunisirten Thieren auf die intraperitoneale Cholera-Infektion der Meerschweinchen.

Nummer der Versuche	Nummer der Meerschweinchen	Körpergewicht grm	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infektion Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Blut einem gegen Proteus immunisirten Meerschw. 8 Tagen nach der letzten Schutzimpfung entnomm.	I	210	0.25 Ser. intrap.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperit.	Todt n. 7 $\frac{1}{2}$ St. allg. Infect.	†
	II	210	0.5 „ „		„	„ 10 „ „	†
	III	280	0.5 „ subcut.		„	„ 7 „ „	†
	IV	305	1.0 „ „		„	„ 9 „ „	†
	V	270	0.5 „ intrap.		$\frac{3}{2}$ Oese Prot. intraperit.	Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt
	Control.	260	0.5 „ norm. Meersch. intrap.		„	Todt n. 7 $\frac{1}{2}$ St. Proteus nur im Peritoneum.	†
Blut einem gegen B. coli immunisirten Meerschw. 12 Tage n. der letzten Schutzimpfung entnomm.	I	215	0.25 Ser. intrap.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperit.	Todt n. 6 St. allg. Infect.	†
	II	250	0.5 „ „		„	„ 8 „ „	†
	III	295	1.0 „ subcut.		„	„ 10 „ „	†
	IV	250	0.5 „ intrap.		$\frac{1}{2}$ Oese B. coli intraperit.	Temperaturabfall b. z. 36.0	lebt
	V	290	0.5 „ „		$1\frac{1}{4}$ „	„ 35.0	lebt
	Control.	250	0.5 „ norm. Meersch. intrap.		$\frac{1}{2}$ „	„ 32.0	lebt
Blut einem gegen Typhus immunisirten Meerschw. 15 Tage n. der letzten Schutzimpfung entnomm.	Control.	270	„	24	$1\frac{1}{4}$ „	Todt n. 3 Tg. Localaffection	†
	I	230	0.1 Ser. intrap.		$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperit.	Todt an allgem. Infection.	†
	II	240	0.5 „ „		„	„ „	†
	III	310	1.0 „ subcut.		„	„ „	†
	IV	265	0.5 „ intrap.		$\frac{1}{2}$ Oese Typh. intraperit.	Temperaturabfall b. z. 36.4	lebt
	V	290	0.5 „ „		$1\frac{1}{4}$ „	„ 36.6	lebt
Blut einem gegen Bac. Pyocyaneus immunisirten Meerschw. 10 Tage n. d. l. Schutzimpfung entnomm.	Control.	250	0.5 „ normal. Meersch. intrap.	24	$\frac{1}{2}$ „	Todt n. 6 Tag. Intoxication.	†
	Control.	280	„		$1\frac{1}{4}$ „	„ 4 „ Localaffection.	†
	I	280	0.1 Ser. intrap.		$\frac{3}{4}$ Oese Chol. intraperit.	„ 10 St. allg. Infect.	†
	II	235	0.5 „ „		„	„ 8 „ „	†
	III	320	1.5 „ subcut.		„	„ 10 „ „	†
	IV	250	0.5 „ intrap.		1 Oese B. pyoc. intraperit.	Temperaturabfall b. z. 35.7	lebt
Control.	255	0.5 „ normal. Meersch. intrap.	„		„	Todt n. 7 St. allg. Infect.	†

schützende Effect bei subcutaner Einspritzung des Serums. Wir wollen hier nicht auf eine Erklärung dieser auffälligen Erscheinung eingehen und behalten uns vor, anderen Orts darauf zurückzukommen. Immerhin müssen die eben berührten Thatsachen bei der Bemessung der Virusdosis berücksichtigt werden, wenn man Meerschweinchen, die 24 Stunden vorher mit irgend einem Serum vorbehandelt sind, auf ihre Resistenz gegen die intraperitoneale Cholerainfektion zu prüfen hat. Diese Erwägungen bestimmten uns, bei den jetzt zu besprechenden Thierversuchen als Normaldosis der Choleraeultur  $\frac{3}{4}$  Oese bis 1 Oese zu wählen, d. h. eine Quantität des Virus, die nur wenig die Dosis letalis minima für Meerschweinchen, welche unter der Wirkung normalen Serums stehen, übersteigt.

Die vorstehende Tabelle III enthält eine Zusammenstellung der hierher gehörigen Experimente.

Aus dieser Tabelle ergibt sich, dass das Serum von Meerschweinchen, welche gegen Typhus, Proteus, Bact. coli und Pyocyaneus immunisirt sind, 8—15 Tage nach der letzten Schutzimpfung keine Spur eines specifisch schützenden Effectes gegen die intraperitoneale Cholerainfektion ausübt, selbst wenn die enorme Serumquantität von 0.5<sup>cem</sup> 24 Stunden vor der Einspritzung der Koch'schen Vibrionen intraperitoneal gegeben wurde. Nicht einmal verzögert wurde der Ablauf der Cholerainfektion; die mit Serum vorbehandelten Meerschweinchen erlagen in 6—10 Stunden wie die Controlthiere unter dem Bilde der „Allgemeininfektion“. Dagegen besass das Serum wohl ausgesprochene immunisirende Eigenschaften denjenigen Bakterien-species gegenüber, welche zur Vorbehandlung gedient hatten. Während die Meerschweinchen, welche 24 Stunden vor der Infektion mit Typhus, Proteus, Bact. coli oder Pyocyaneus 0.5<sup>cem</sup> normalen Meerschweinchenserums in die Bauchhöhle erhalten hatten, so gut wie ausnahmslos zu Grunde gingen, blieben diejenigen Thiere, welchen unter sonst völlig gleichen Versuchsbedingungen 0.5<sup>cem</sup> des Serums von gegen die betreffende Bakterienart activ immunisirten Meerschweinchen verabfolgt worden war, am Leben. Damit ist für uns unwiderleglich bewiesen, dass die im Gefolge der Immunisirung auftretende Veränderung des Blutserums durchaus specifischer Natur ist und dass daher von einer „allgemeinen Bakterienimmunität“ im C. Fränkel'schen Sinne nicht die Rede sein kann. Wir dürfen ferner von der Specifität der Immunität auf die specifische Beschaffenheit der Giftsubstanzen zurückschliessen und müssen demnach die Klein-Hüppe-Sobornheim'sche Hypothese von der Identität der in den verschiedensten Bakterienarten enthaltenen Körpertoxine als nicht den Thatsachen entsprechend zurückweisen.

Da uns daran lag, für unsere Feststellungen eine möglichst breite Basis zu gewinnen, so lassen wir in Tabelle IV eine Reihe weiterer Thier-

Tabelle IV.

Nummer der Versuche	Nr. der Meerschwein- chen	Körper- gewicht gram	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
10. Blut einem Typhus- reconvalescenten 7 Wochen nach dem Anfang der Krankheit entnommen.	I	270	0.01 Serum + 0.5 physiol. Koch- salzlösung intraperitoneal	24	1 Oese Chol. intraperiton.	todt an allgem. Infection	+
	II	227	0.1 Serum + desgl.		"	desgl.	+
	III	225	0.5 Serum + intraperitoneal		"	Localaffection	+
	IV	282	1.0 Serum + subcutan		"	Allgemeine Infection	+
	Control.	270	0.5 physiol. Kochsalzlös. intraper.		"	desgl.	+
11. Blut einem Typhus- reconvalescenten 8 Wochen nach dem Anfang der Krankheit entnommen.	I	280	0.1 Serum + 0.5 physiol. Koch- salzlösung intraperitoneal	24	1 Oese Chol. intraperiton.	Allgemeine Infection	+
	II	282	0.5 Serum intraperitoneal		"	Localaffection	+
	III	270	1.5 Serum subcutan		"	Allgemeine Infection	+
	Control.	288	0.5 physiol. Kochsalzlös. intraper.		"	desgl.	+
Diphtherieserum (Ehrlich.)	I	300	0.05 Serum + 1 ccm Kochsalzlösung intraperitoneal	24	<sup>3</sup> / <sub>4</sub> Oese Chol. intraperiton.	todt nach 16 Stunden an Localaffection	+
	II	345	0.1 Serum + desgl.		"	nach 21 Stunden	+
	III	240	0.25 Serum + <sup>3</sup> / <sub>4</sub> ccm Kochsalzlös.		"	" 22 "	+
	IV	285	1.0 Serum subcutan		"	" 20 "	+
	Control.	265	1.0 physiol. Kochsalzlös. intraper.		"	" 9 "	+
						Allgemeine Infection	+

versuche folgen, die wir mit dem Serum von Typhusreconvalescenten und mit dem Serum von Ziegen, welche durch Ehrlich ausserordentlich hoch gegen Diphtherie immunisirt waren, anstellten. Das Ziegenserum hatte nach Ehrlich's Mittheilungen den mindestens 60fachen Werth des Behring'schen Normal-Diphtherie-Serums; trotzdem zeigten sich nicht einmal Andeutungen einer specifischen Beeinflussung der Cholera-infection der Meerschweinchen; auch das Blut von Typhusreconvalescenten hatte nur die Wirkung des normalen Menschenblutes. (Vgl. Tabelle IV.)

Um so mehr waren wir erstaunt, als wir dieselben Versuche mit dem Serum eines Pferdes wiederholten, welches durch Behring sehr hoch gegen Tetanus immunisirt worden war. (Wirkungswerth dieses Serums 1:50 000 000.) Zu unserer Ueberraschung schützte schon 0.1 <sup>ccm</sup> bei intraperitonealer Einspritzung die damit vorbehandelten Meerschweinchen glatt gegen  $\frac{3}{4}$  Oese unserer Cholera-cultur. Da unsere bisherigen Vorsichtsergebnisse es uns höchst unwahrscheinlich machten, dass die in diesem Serum enthaltenen Tetanus-Antitoxine als Schutzstoffe gegen die Cholera dienen könnten, so lag der Verdacht nahe, dass besondere Eigenschaften des normalen Pferdeserums hier eine Rolle spielten. In der That erwies sich diese Vermuthung als zu Recht bestehend. Controlversuche mit normalem Pferdeserum, das wir der Liebenswürdigkeit des Herrn Professor Schütz verdankten, ergaben ganz ähnliche, zum Theil sogar noch intensivere schützende Effecte gegen die intraperitoneale Cholera-infection der Meerschweinchen. 0.05 des Serums machte bei intraperitonealer und 0.5 bei subcutaner Einverleibung Meerschweinchen gegen  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera-virus resistent. Wir hatten demnach durch Zufall eine Thierspecies gefunden, deren Blut schon in normalem Zustande einen Grad von Schutzkraft gegen die Cholera-bakterien entfaltet, wie er sonst nur dem Blut von Thieren zukommt, welche gegen die Cholera immunisirt sind. Wie war diese verwirrende Thatsache zu erklären? Folgende Erwägungen führten uns auf die richtige Spur. Durch die Untersuchungen Buchner's, Behrings u. A. wissen wir, dass manche Eigenschaften des normalen Blutserums, z. B. die bactericiden Wirkungen, verloren gehen, wenn es der Temperatur von 60° C. einige Zeit ausgesetzt wird; andererseits hat Behring den Beweis geführt, dass die Antitoxine des specifisch immunisirten Serums einen relativ hohen Grad von Widerstandsfähigkeit gegen den Einfluss der Wärme entfalten und auch nach längerem Erhitzen auf 60° noch nicht zerstört werden. Wir legten uns daher die Frage vor, ob nicht auch die schützenden Substanzen des normalen Pferdeblutes durch ihre geringere Resistenz gegen die Wärmewirkung von den specifischen Antikörpern des choleraimmun Blutserums sich würden unterscheiden lassen. Zu diesem Zwecke erhitzen wir eine Partie des



normalen Pferdeserums 1 Stunde lang auf 60° C. Es liess sich nun feststellen, dass jetzt in der That unseren Erwartungen entsprechend die Wirksamkeit dieses Serums sehr erheblich herabgemindert war, da es nun erst in der Dosis von 0.5 bei intraperitonealer Einverleibung einen deutlichen Effect gegen  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera-virus entfaltete, während vor der Erhitzung eine zehnfach geringere Dosis (0.05) ausgereicht hatte. In gleicher Weise untersuchten wir den Einfluss der Erhitzung auf das Serum eines gegen Cholera immunisirten Kaninchens, das in der Menge von 0.01 vom Peritoneum und 0.1 vom Subcutangewebe aus den Meer-schweinchen gegen  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera sicheren Schutz zu verleihen vermochte. Es zeigte sich, dass einstündiges Erwärmen auf 60° in keiner Weise den Wirkungswerth dieses Serums veränderte.

Damit ist bewiesen, dass die schützenden Substanzen des normalen Pferdeblutes und wahrscheinlich auch aller anderen Blutarten ihrem Wesen nach absolut verschieden sind von den specifischen Antikörpern der Cholera, die bei der Immunisirung im Blute der mit den Producten der Cholera-vibrionen vorbehandelten Thiere entstehen. Möglicher Weise beruht die auffällig hohe Schutzkraft des normalen Pferdeblutes auf dem Gehalt desselben an irritativen Stoffen, die vielleicht identisch oder verwandt sind mit den Substanzen des Tetanus-immunen Pferdeserums, welche bei Menschen, denen es zu Heilzwecken subcutan injicirt wird, urticariaartige Exantheme hervorrufen.

Tabelle V.

Nummer der Versuche	Nr. der Meerschwein- chen	Körper- gewicht gmm	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Tetanus- serum von Behring mit einem Wirkungs- werth von 1:50000000	I	345	0.1 Ser. intrap.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intrapériton.	Temperaturabfall b. z. 30.0	lebt
	II	315	0.2 „ „			„ „ 34.0	lebt
	III	310	0.25 „ „			„ „ 36.0	lebt
	IV	267	0.5 „ „			„ „ 35.5	lebt
	V	295	0.5 „ subcut.			Todt nach 22 Std.	†
	Control.	300	—	—	„	Allgemeininfektion	†
Dasselbe Serum	I	290	0.01 S. + 0.5 ph. Kochsalzl.intrap.	24	„	Todt nach 16—18 Std. Allgemeininfektion	†
	II	290	0.05 + „			Todt nach 22 Std. Localaffection	†
Normales Pferde- serum	I	310	0.01 norm. Pferd- serum + 0.5 Kochsalzl.intrap.	24		Todt nach 12 Std. Allgemeininfektion	†
	II	320	0.05 „			Temperaturabfall b. z. 32.0	lebt

Tabelle V. (Fortsetzung.)

Nummer der Versuche	Nr. der Meerschweinchen	Körpergewicht gm	Menge des eingespritzten Serums ccm	Zeit der Infection Std.	Virusdosis	Bemerkungen	Erfolg
Normales Pferdeserum.	III	345	0.5 Ser. subcut.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperiton.	Temperaturabfall b. z. 33.2	lebt
	IV	340	1.0 „ „	—		„ „ 36.0	lebt
	V	320	1.5 „ „	—		„ „ 34.5	lebt
	Control.	260	—	—		Allgemeininfektion.	†
	I	330	0.1 Ser. intrap.	—		Todt innerhalb 16 Std. Allgemeine Infektion.	†
Dasselbe normale Pferdeserum auf 60° währ. 1 Stunde erhitzt.	II	240	0.25 „ „	24	„	Todt innerhalb 20 Std. Localaffection.	†
	III	210	0.5 „ „	—	„	Temperaturabfall b. z. 32.0	lebt
	IV	270	1.5 „ subcut.	—	„	Todt nach 16—18 Std. Allgemeininfektion.	†
	Control.	250	—	—	„	Allgemeininfektion.	†
	I	280	0.1 Ser. + 0.5 phys. Kochsalzl. intraperitoneal.	—	1 Oese Cholera intraperit.	Todt innerhalb 14 Std. Allgemeininfektion.	†
Blut eines an Tetanus gestorbenen Menschen, der intravitam mit Behring'schem Tetanusantitoxin behandelt war.	II	270	0.5 Ser. intrap.	24		Todt innerhalb 18 Std. Localaffection.	†
	Control.	250	0.5 phys. Kochsalzlösung intraperitoneal.	—		Todt innerhalb 8 Std. Allgemeininfektion.	†
	I	300	0.1 S. + 0.5 ph. Kochsalzl. intrap.	—		Temperaturabfall b. z. 36.8	lebt
	II	370	0.01 Ser. + „	—		„ „ 36.0	lebt
Blut eines gegen Cholera immunisirten Kaninchen.	III	260	0.005 „ + „	—	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperit.	Todt innerhalb 20 Std. Peritoneum fast steril.	†
	IV	300	1.0 Ser. subcut.	24		Temperaturabfall b. z. 35.0	lebt
	V	240	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzl. subc.	—		„ „ 37.0	lebt
	Control.	250	0.5 Ser. phys. Kochsalzl. intrap.	—		Todt nach 8 Std. Allgemeininfektion.	†
	I	205	0.1 S. + 0.5 ph. Kochsalzl. intrap.	24		Temperaturabfall b. z. 37.0	lebt
Dasselbe Serum nach d. Erhitzen auf 60° währ. 1 Stunde.	II	240	0.01 Ser. + „	—	„	„ „ 35.5	lebt
	III	270	0.1 Ser. subcut.	—	„	„ „ 35.0	lebt
	Control.	250	0.5 physiol. Kochsalzl. intrap.	—	„	Todt nach 7 Std. Allgemeininfektion.	†

Seit der Entdeckung des Erregers der Cholera asiatica durch Robert Koch ist immer wieder von Neuem meist von recht unberufener Seite der Versuch gemacht worden, die ätiologische Bedeutung des Kommabacillus der Cholera zu erschüttern. Auf die älteren Angriffe gegen die Koch'sche Lehre wollen wir an dieser Stelle nicht zurückgreifen, von actuellem Interesse sind jedoch einige neueren Arbeiten, welche die Verwirrung auf dem Gebiete der Choleraätiologie für den mit den bakteriologischen Thatsachen nicht völlig Vertrauten auf das Höchste zu steigern drohen. Den Reigen eröffnete eine Mittheilung Gamaleia's, dass der Vibrio Metschnikowi, den sein Entdecker bei einer Hühnerepizootie in Odessa angetroffen hatte, mit den Koch'schen Kommabacillen verwandt, wenn nicht identisch sei. Gamaleia behauptete, die Choleravibrionen durch öftere Thierpassagen so umzüchten zu können, dass sie in ihren sämtlichen biologischen Merkmalen dem Vibrio Metschnikowi immer ähnlicher würden, bis schliesslich kaum noch eine deutliche Differenz festzustellen wäre. Ja noch mehr. Gamaleia gab an, man könne mit den Cholerabakterien gegen die Metschnikoff-Vibrionen immunisiren und umgekehrt, was, wenn es sich bestätigt hätte, durchaus für die Identität der beiden Vibrionenarten beweisend gewesen wäre. Diese Angaben Gamaleia's wurden seiner Zeit durch R. Pfeiffer und Nöcht einer scharfen Kritik unterzogen und als völlig unbegründet zurückgewiesen. R. Pfeiffer kam in seiner Arbeit „Ueber den Vibrio Metschnikowi und sein Verhältniss zur Cholera asiatica“<sup>1</sup> im Gegensatz zu Gamaleia zu folgendem Schluss: „Eine wechselseitige Immunität der mit Vibrio Metschnikowi vorgeimpften Thiere gegen Cholera asiatica und umgekehrt besteht nicht“, ein Resultat, das Jahre lang von keiner Seite, nicht einmal durch Gamaleia selbst ernsthaft angefochten wurde. Nachdem R. Koch die Züchtung der Kommabacillen in Peptonlösungen für die Diagnose der Cholera verwerthet und dadurch gleichzeitig ein ausserordentlich feines Reagens für den Nachweis ganz vereinzelter in menschlichen Dejectionen oder auch im Wasser enthaltener Vibrionen geschaffen hatte, wurden mit einem Schlage in allen Laboratorien zahlreiche bis dahin unbekannte Vibrionenarten gezüchtet, von denen eine ganze Gruppe die Cholerarothreaction und die Thierpathogenität mit den echten Choleraerregern gemeinsam hatte. Damit war den wildesten Speculationen Thür und Thor geöffnet. Obwohl sehr bald unter diesen Wasservibrionen einzelne Species durch besondere biologische Merkmale, beispielsweise durch das Vermögen der Phosphorescenz mit voller Sicherheit von den Koch'schen Kommabacillen zu differenziren waren, obwohl das Wachsthum in Gelatine, die

<sup>1</sup> Diese Zeitschrift. Bd. VII. S. 362.

Thierpathogenität dem besonnenen Bakteriologen Mittel an die Hand gab, sich auch unter diesem Wirrwarr neuer Formen zurechtzufinden, so fehlte es doch nicht an Forschern, welche die aufgefundenen Differenzen als unerheblich hinstellten. Am weitesten ging nach dieser Richtung Sanarelli,<sup>1</sup> der sich zu der Behauptung fortreissen liess: „La conception morphologique unitaire des vibrions cholériques doit être abandonnée. Il existe diverses variétés de vibrions morphologiquement distinctes les unes des autres, mais capables de déterminer chez l'homme et chez les animaux le même tableau morbide cliniquement identique.“ Sanarelli wirft sämtliche Vibrionen, ob sie thierpathogen sind oder nicht, ob sie die Cholerarothreaction geben oder nicht, welches auch immer ihre morphologischen Charaktere auf künstlichen Nährböden sein mögen, unbekümmert in einen Topf und giebt dadurch ein warnendes Beispiel, zu welchen Ungereimtheiten derjenige gelangt, der die Grundsätze der Koch'schen Lehre von der Specifität der Krankheitserreger vernachlässigen zu können glaubt. In Deutschland hat Sanarelli bisher keine Nachfolger gefunden; doch hat Salus in einer unter Hüppe's Leitung gefertigten Arbeit neuerdings den Beweis zu führen gesucht, dass die von R. Pfeiffer constatirten specifischen Unterschiede zwischen den Cholerabakterien und dem *Vibrio Metschnikowi* hinfällig sind. Es ist dabei ein eigenes Geschick für Hüppe, der in der Cholerafrage überhaupt nur negative Verdienste besitzt,<sup>2</sup> dass diese von ihm inspirirte Arbeit gerade in dem Zeitpunkt das Licht des Tages erblicken musste, wo die Specifität der Vibrionenarten durch unsere Untersuchungen fester als je begründet war.

Die älteren, aus dem Jahre 1887 stammenden *Vibrio Metschnikoff*-Culturen, die seiner Zeit von Paris aus nach Berlin gelangt waren, hatten im Laufe der Jahre durch die fortgesetzte Züchtung auf künstlichem Nährsubstrat viel von ihrer ursprünglichen Virulenz eingebüsst. Es war daher ein glücklicher Zufall, als Pfuhl im Sommer vorigen Jahres bei der bakteriologischen Untersuchung des Spreewassers einen *Vibrio* isolirte, der in sämtlichen morphologischen und biologischen Charakteren mit der typischen Form des *Vibrio* von Gamaleia übereinstimmte. Wir verweisen auf die genauen von Pfuhl<sup>3</sup> gegebenen Beschreibungen. Diesen *Vibrio*, welcher wegen seiner Fundstätte als *Vibrio Nordhafen* bezeichnet wurde, benutzten wir zu einer grossen Reihe von Versuchen, deren Resultate nun folgen mögen.

Wir begannen damit, einige Meerschweinchen so hoch als möglich gegen den *Vibrio Nordhafen* zu immunisiren. Es ist das kein leichtes

<sup>1</sup> Les vibrions des eaux et l'étiologie du choléra. *Ann. d. l'Inst. Past.* 1893. Nr. 10.

<sup>2</sup> (Auch seine letzte Arbeit über den Nachweis des Choleragiftes beim Menschen ist wenig geeignet, dieses Urtheil zu mildern.) <sup>3</sup> *Diese Zeitschrift.* Bd. XVII.

Beginnen, da die Giftstoffe dieser Vibrionenart für Meerschweinchen ausserordentlich deletär sind. Die Thiere beginnen abzumagern, verlieren in wenigen Tagen bis zu 30 Procent ihres Körpergewichts und gehen an allgemeinem Marasmus zu Grunde. Bei der Section findet man dann fast regelmässig eine starke Verfettung der Leber.<sup>1</sup> Im Gegensatz dazu lässt sich eine sehr hoch getriebene Immunität gegen die Koch'schen Kommabacillen bei einigermassen vorsichtigem Vorgehen ohne nennenswerthen Thierverlust erreichen. Geht bei zu rasch auf einander folgenden oder unvorsichtig gesteigerten Präventivimpfungen gelegentlich doch ein oder das andere Meerschweinchen zu Grunde, so fehlt bei der Obduction die Leberverfettung, oder ist höchstens andeutungsweise nachweisbar, was darauf hindeutet, dass die Toxine der Nordhafen- und Cholera-Vibrionen keinesfalls identisch sein können. —

Folgende Methode der Immunisirung gegen *Vibrio Nordhafen* hat uns die besten Resultate geliefert: Man beginnt mit der subcutanen Injection abgetödteter Agarculturen. Frühestens nach 8 bis 10 Tagen, wenn das Körpergewicht der Thiere wieder seine ursprüngliche Höhe erreicht hat, impft man eine kleine Platinöse lebender Cultur in eine Hauttasche. Es bildet sich dann eine locale, zur Necrose führende Entzündung aus. Man wartet weitere 8 bis 10 Tage, bis das entstehende Hautgeschwür in voller Vernarbung ist, und injicirt nun  $\frac{1}{5}$  Oese des Virus mit  $\frac{1}{2}$  ccm Bouillon aufgeschwemmt intraperitoneal. Diese Dosis wird jetzt in der Regel gut vertragen. Man wiederholt dann in Zwischenräumen von 8 Tagen die intraperitonealen Viruseinspritzungen mit  $\frac{1}{3}$ ,  $\frac{1}{2}$ , 1 Oese und mehr. Dabei muss das Allgemeinbefinden der Meerschweinchen und ihr Körpergewicht stets sorgfältig berücksichtigt werden. Nie sollte eine Präventivimpfung wiederholt werden, wenn Abmagerung sich einstellt. —

Wir hatten zunächst zu untersuchen, ob Thiere, welche mit *Vibrio Nordhafen* immunisirt sind, gleichzeitig auch eine Immunität gegen Cholera besitzen, oder nicht, und vice versa. (Vgl. Tabelle VI.)

Wir erfahren aus den umstehend mitgetheilten Versuchen, dass Meerschweinchen, welche in hohem Grade gegen die Cholerabakterien immunisirt sind, so dass sie die intraperitoneale Injection mehrerer Oesen der lebenden Cultur ohne Weiteres überstehen, rapide zu Grunde gehen, wenn ihnen auch nur 1 Oese des *Vibrio Nordhafen* einverleibt wird. Der Befund enormer Mengen wohlerhaltener und sich lebhaft bewegender Vibrionen im Peritonealexsudat, ihr Vorhandensein im Blutstrom beweist, dass durch die Immunisirung mit den Koch'schen Kommabacillen keinerlei merkliche schützende Effecte dem *Vibrio Nordhafen* gegenüber erzeugt werden. Um-

<sup>1</sup> Vergl. R. Pfeiffer, Ueber die *Vibr. Metschnikowi* und sein Verhältniss zur Cholera asiatica. *Diese Zeitschrift* Bd. VII S. 357.

## Tabelle VI.

## Versuch 10./X. 1893.

I. Hoch gegen Cholera immunisirtes Meerschweinchen von 430 <sup>grm</sup> Gewicht, welches 20./IX. 93 die letzte Schutzimpfung bekommen hatte, erhält:	II. Durch wochenlange Vorbehandlung hoch gegen Cholera immunisirtes Meerschweinchen von 360 <sup>grm</sup> Gewicht, welches die letzte Schutzimpfung 24./IX. 93 bekommen hatte, erhält:
10./X. 11 Uhr Morgs. 1 Oese Nordhafenvibriocultur intraperitoneal eingespritzt.	desgl.
12 Uhr Temp. 35.5	34.2
1            33.5	32.1
2            30.0	30.1
3 Uhr † an Allg. Infection.	† um 3½ Uhr an Allg. Infection.
Im P.-Exsudate massenhaft Vibrionen.	

## Versuch vom 13./III. 1894.

Meerschweinchen von 300<sup>grm</sup> Gewicht wurde in folgender Weise gegen Vibrio Nordhafen immunisirt:

- 27./I. 1 Oese durch Chloroform abgetödteter Cultur subcutan.  
 8./II. ½ Oese lebender Vibrionen subcutan. Locale Nekrose der Haut.  
 17./II. ½ Oese lebender Vibrionen intraperitoneal. Temperatur sinkt bis 35.0°.  
 27./II. Blutentziehung aus Carotis. 0.1 dieses Serums schützte bei intraperitonealer Einverleibung sicher gegen ⅓ Oese Vibrio Nordhafen.  
 13./III. Das Thier, welches völlig munter ist und seit Beginn der Immunisirung um 100<sup>grm</sup> Körpergewicht zugenommen hat, erhält 1 Oese Cholera intraperitoneal:

1 Uhr	Temp. 38.0
2	36.0
5	31.0
7	†

Allgemeine Infection. Im Blut vereinzelte Cholerabacillen, im Peritonealexsudat ziemlich zahlreich. Eiterflocken auf der Leber.

gekehrt erlag das Meerschweinchen Nr. III der Tabelle, welches durch die Vorbehandlung mit der Nordhafencultur einen so hohen Immunitätsgrad erworben hatte, dass 0.1<sup>cem</sup> seines Serums sicheren Schutz gegen die intraperitoneale Injection einer relativ sehr hohen Dosis des hochvirulenten Vibrio Nordhafen (⅓ Oese) zu verleihen vermochte, der Infection mit einer mittleren Dosis (1 Oese) der Cholerabakterien nach 6 Stunden unter dem Bilde der Allgemeininfection. Diese Versuche rechtfertigen von Neuem die Behauptung R. Pfeiffer's, „eine wechselseitige (active) Immunität der mit Vibrio Metschnikoff vorgeimpften Thiere gegen Cholera asiatica und umgekehrt besteht nicht“.

Eine solche Reciprocität fehlt ferner durchaus bei der passiven durch Uebertragung specifisch immunisirten Serums bewirkten Immunität. Da diese Versuche von grundlegender Bedeutung sind, so wollen wir etwas ausführlicher darauf eingehen.

Wir entnahmen das zu den folgenden Experimenten benutzte Serum 6 Meerschweinchen, die durch wochenlange Vorbehandlung zu einem möglichst hohen Grad von Choleraimmunität gebracht waren; die einzelnen Serumpportionen wurden unter einander gemischt, um ein Serum von gleichmässigem Wirkungswerth zu erhalten. Durch zahlreiche Vorversuche bestimmten wir zunächst die immunisirende Kraft dieses Gemisches (vgl. Tabelle VII) und fanden, dass vom Subcutangewebe aus 0.1<sup>ccm</sup>, vom Peritoneum weniger als 0.05<sup>ccm</sup> ausreichend waren, um Meerschweinchen von 200<sup>gmm</sup> Gewicht gegen  $\frac{3}{4}$  Oese Choleracultur mit Sicherheit zu schützen. Grössere Quantitäten dieses Serums, 1.0<sup>ccm</sup>, erzeugten einen so hohen Grad von passiver Immunität, dass 4 Oesen des lebenden Cholera-virus im Peritoneum derartig vorbehandelter Meerschweinchen im Laufe von 2 bis 3 Stunden total abgetödtet wurden, wobei die Thiere allerdings nach schweren Vergiftungserscheinungen mit dem Leben davon kamen.

Als wir diese Versuche mit dem *Vibrio Nordhafen* wiederholten, konnten wir keine Andeutung einer specifischen Beeinflussung der Infection mit diesem Mikroorganismus durch unser Choleraserum constatiren. Sämmtliche Meerschweinchen, gleichgültig ob sie das Serum subcutan oder intraperitoneal erhielten, gingen zu Grunde an der Vibrionensepticämie wie die Controlthiere, denen die entsprechenden Mengen normalen Meerschweinchenserums injicirt worden waren. Selbst 1<sup>ccm</sup> des Choleraserums vermochte nicht, die Infection mit  $\frac{1}{2}$  Oese Nordhafen irgendwie zu beeinflussen.

Für diesen Ausfall unserer Versuche gab es zwei Erklärungsmöglichkeiten. Wir wussten, dass der *Vibrio Nordhafen* für Meerschweinchen ganz ausserordentlich virulent ist, während die Cholera-bakterien für diese Thiergattung nur einen relativ geringen Grad von Virulenz besitzen. Es war denkbar, dass der Wirkungswerth unseres Serums zwar für die Cholera-infection ausreichte, nicht aber hoch genug war, um gegen den *Vibrio Nordhafen* als den so sehr viel stärkeren Infectionserreger zu immunisiren; oder mit anderen Worten, es konnte die Unwirksamkeit des Serums choleraimmuner Thiere gegen den Nordhafen-*Vibrio* auf quantitativen Differenzen im Gehalt an Antikörpern beruhen. Andererseits lag es für uns nach früheren Versuchen mit dem Serum gegen *Bact. coli*, Typhus, Diphtherie, Tetanus u. s. w. immunisirter Thiere nahe, die beobachteten in die Augen springenden Differenzen auf qualitative Unterschiede specifischer Natur zu beziehen. Entsprach diese letztere Voraus-

Tabelle VII. Wirkung des Serums choleraimmuner Meerschweinchen gegen die Cholera Bakterien.

Nr. d. Meer- schwein- ch.	Körper- GE Gewicht	Vorbehandlung	Zeit d. In- fection St.	Virusdosis 1 Oese = 2 mg	Bemerkungen	Erfolg
I	230	0.1 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. intraperitoneal	24	$\frac{3}{4}$ Oese intraperi- toneal Cholera	Von Zeit zu Zeit wurde dem Thier Peritonealexsudat entnommen. Schon 2 Stunden nach der Infection erwies sich das Peritonealexsudat als steril. Zahlreiche Leukocyten; manche von ihnen enthalten die Ueberreste zu Grunde gegangener Vibrionen. Zahlreiche Vibrionentrümmer frei in der Exsudatflüssigkeit	Temperaturabfall bis 35.5°. Das Thier bleibt am Leben
II	230	0.05 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. intraperitoneal	"	"	Fast der gleiche Befund	Temperaturabfall bis 34.0°. Bleibt am Leben
III	210	0.1 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. intraperitoneal	"	"	Nach 3 Stunden Peritonealexsudat steril	Temperaturabfall bis 32.5°. Bleibt am Leben
IV	200	1 ccm Serum intraperitoneal	"	4 Oesen! intraperi- toneal Cholera	Sofort nach der Injection enorme Mengen von Vibrionen im Peritoneum, 2 $\frac{1}{2}$ Stunde später Peritonealexsudat steril. Wenig Leukocyten, viel Vibrionentrümmer frei im Exsudat.	Temperaturabfall bis 34°. Bleibt am Leben
V	190	0.1 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. subcutan	"	$\frac{3}{4}$ Oese in- traperiton. Cholera	Nach 3 Stunden Peritonealexsudat steril	Temperaturabfall bis 34.8°. Bleibt am Leben
VI	140	0.01 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. subcutan	"	"	5 $\frac{1}{2}$ Stunden nach der Infection noch vereinzelte Vibrionen im Peritonealexsudat	Temperaturabfall bis 29.8°. Bleibt am Leben
VII	210	0.25 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. subcutan	"	"	Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunden schon Peritonealexsudat steril	Temperaturabfall bis 34.0°. Bleibt am Leben
VIII	200	0.1 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. subcutan	"	1 Oese in- traperiton. Cholera	Nach 5 Stunden Peritonealexsudat steril, viel Vibrionentrümmer frei und in Leukocyten	Temperaturabfall bis 34.5°. Bleibt am Leben
gegen den Vibrio Nordhafen.						
I	225	0.1 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. intraperitoneal	24	$\frac{1}{3}$ Oese Nordhafen	Progressive Vermehrung der Vibrionen. Keine Andeutung von bactericiden Wirkungen	+ nach 7 $\frac{1}{2}$ Std. Allgemeininfec- tion
II	270	0.05 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. intraperitoneal	"	$\frac{1}{2}$ Oese Nordhafen	"	+ nach 8 Std. All- gemeininfec- tion
III	230	1.0 Serum intraperitoneal	48	"	Progressive Vermehrung der Vibrionen	+ nach 7 Std. Massenhaft Vi- brionen im Peri- toneum, zahlreich im Blut
IV	250	1.0 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. subcutan	24	$\frac{1}{4}$ Oese Nordhafen	"	+ nach 6 Std.
V	255	0.25 Serum + 0.5 Kochsalzlösg. subcutan	"	"	"	+ nach 6 $\frac{1}{2}$ Std.



setzung der Wahrheit, so mussten wir erwarten, dass das Blut von Thieren, welche gegen den *Vibrio Nordhafen* immunisirt waren, nur gegen diese Bakterienart, nicht aber gegen die Cholera schützende Wirkungen ausüben würde. Zur Entscheidung dieser Frage benutzten wir das Serum von Meerschweinchen, die durch vorsichtig gesteigerte Virusdosen in der früher angegebenen Art und Weise mit den Nordhafenvibrionen vorbehandelt waren. Dieses Serum zeigte sich gegen die Infection mit Nordhafenbakterien stark wirksam, wie aus Tabelle VIII, Versuch I bis VII deutlich hervorgeht. Sogar 0.05<sup>cem</sup> beeinflussten in Versuch IV und V die Infection mit der enormen Dosis von  $\frac{2}{3}$  Oese Nordhafen in sehr auffälliger Weise, indem bei dem Tode der Thiere das Peritonealexsudat fast frei von Vibrionen gefunden wurde, was darauf hindeutet, dass intra vitam starke bactericide Wirkungen vorhanden gewesen waren. Bei höheren Dosen des Serums von 0.1 an überstanden die Meerschweinchen glatt die Infection mit  $\frac{1}{3}$  und sogar mit 1 ganzen Oese dieser so hochvirulenten Vibrionenspecies.

Ganz anders verhielten sich die mit dem eben charakterisirten Serum vorbehandelten Meerschweinchen gegen die Choleraeinfektion. Alle Thiere gingen auf die gewöhnliche Choleraeosis von  $\frac{3}{4}$  Oese rapide im Laufe weniger Stunden zu Grunde mit massenhaften Vibrionen im Peritonealexsudat und spärlichen Kommabacillen im Blut, also unter dem Bilde der Allgemeinfektion. Hier war demnach nicht einmal andeutungsweise ein günstiger Einfluss auf den Verlauf der intraperitonealen Choleraeinfektion nachweisbar.

Tabelle VIII.

Wirkung des Serums von Meerschweinchen, die gegen *Vibrio Nordhafen* immunisirt sind.

Gegen den *Vibrio Nordhafen*:

Nr. d. Meer- schweinch.	Körper- gewicht grm	Vor- behandlung	Zeit der Infection Std.	Virusdosis 1 Oese = 2 mg	Bemerkungen	Erfolg
I	240	0.5 Ser. intra- peritoneal.	24	1 Oese Nordhafen.	Sehr rasche Vernichtung der Vibrionen im Perito- nealexsudat. Zahlr. Leuko- cyten, die mit Vibrionen- trümmern beladen sind.	Das Thier wird nur leicht krank. Bleibt am Leben.
II	270	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperiton.	24	$\frac{1}{3}$ Oese Nordhafen.	Nach 2 Stunden nur noch spärliche Vibrionen im Peritoneum. 1 Stunde später Exsudat steril.	Temperaturabfall b. 35.0 Bleibt am Leben.
III	210	„	24	„	Der gleiche Befund.	Temperaturabfall b. 35.2. Bleibt am Leben.

Tabelle VIII. (Fortsetzung.)

Nr. d. Meer- schwein.	Körper- gewicht	Vor- behandlung	Zeit der Infektion Std.	Virusdosis 1 Oese = 2 mg	Bemerkungen	Erfolg
IV	260	0.05 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperiton.	24	$\frac{2}{3}$ Oese Nordhafen.	Die Vibrionen verschwin- den langsamer aus dem Peritoneum. Noch nach 5 Stunden im Exsudat ziemlich zahlreiche Vibronen.	† nach 15—18 Stunden. Obductionsbefund: Peritonealexsudat dick wie Eiter, enthält ganz vereinzelte Vibrionen in Zellen eingeschlossen.
V	240	„	24	„	Fast der gleiche Befund.	† während der Nacht. Obductionsbefund wie bei Nr. IV.
VI	270	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. subcutan.	24	$\frac{1}{3}$ Oese Nordhafen.	Nach $5\frac{1}{2}$ Stunden Peri- tonealexsudat steril. Also sehr deutl. Wirk. Das Thier erlag reiner Intoxication.	† nach 22 Stunden. Im Peritoneum Eiterflocken. Exsudat steril.
VII	360	0.25 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. subcutan.	14	„	„	† nach 10 Stunden. Im Peritoneum Eiterflocken. Exsudat steril.

## Gegen die Cholera Bakterien:

I	240	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperiton.	24	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera.	Progressive Vermehrung der Cholera vibrionen, die b. z. Tödt. Thieres anhielt.	† nach 8 Stunden. Allgemeininfektion.
II	265	„	24	„	„	„
III	210	0.05 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. intraperiton.	24	„	„	† nach 10 Stunden. Allgemeininfektion.
IV	270	„	24	„	„	„
V	280	0.1 Ser. + 0.5 Kochsalzlös. subcutan.	24	„	Nach $2\frac{1}{2}$ Stunden sehr zahlreiche, freie Vibrionen im Peritonealexsudat.	† nach 7 Stunden. Allgemeininfektion.
VI	270	„	24	„	„	† nach 12 Stunden. Allgemeininfektion.
VII	220	0.5 Serum subcutan.	24	„	„	† nach 20 Stunden. Massenhaft Kommabacil- len im Peritoneum.

## Controlversuche:

	Nr.	Körper- gewicht gm	Virusdosis 1 Oese = 2 mg	Erfolg
Cholera	I	250	$\frac{1}{12}$ Oese Cholera.	† nach 12—16 Stunden. Im Peritonealexsudat spärliche Vibrionen. Blut steril.
	II	270	$\frac{1}{4}$ Oese Cholera.	† nach 9 Stunden. Im Peritoneum sehr zahl- reiche Bakterien. Blut steril.
	III	285	$\frac{1}{2}$ Oese Cholera.	† nach 7 Stunden. Allgemeininfektion.

Tabelle VIII. (Fortsetzung.) Controlversuche.

	Nr.	Körper- gewicht gram	Virusdosis 1 Oese = 2mg	Erfolg
Nordhafen	I	280	$\frac{1}{40}$ Oese Nordhafen.	† nach 15 Stunden. Im Peritonealexsudat und im Blut mässig zahlreiche Bakterien.
	II	230	$\frac{1}{20}$ Oese Nordhafen.	† nach 10 Stunden. Im Bauchfellexsudat und im Blut massenhaft Bakterien.

Das durchaus eindeutige Resultat dieser Versuche berechtigt uns zu folgendem Schluss: „Die Veränderungen, welche das Blut von Meerschweinchen bei der Immunisirung mit den Cholera-bakterien oder den Nordhafenvibrionen erfährt, sind durchaus spezifischer Natur, und verleihen nur gegen diejenige Vibrionenart Schutz, mit welcher der Immunisirungs-process stattgefunden hat, während derartiges Serum allen fremden Bakterien-species gegenüber keine andere Wirkung ausübt, wie das Serum normaler Meerschweinchen“.

Durch diese bemerkenswerthen biologischen Thatsachen ist die Art-verschiedenheit der Cholera-bakterien von den Vibrionen des Metschnikoff-Typus einwandfrei bewiesen. Zwischen diesen beiden Bakterien-species besteht keine nähere Verwandtschaft, wie beispielsweise zwischen dem Heubacillus und dem Milzbrand.

Es erhob sich nun die Frage ob Differenzen von so einschneidender Bedeutung, wie wir sie eben zwischen dem Nordhafenvibrio und den Koch'schen Kommabacillen aufgedeckt hatten, auch bei anderen Vibrionen-species sich würden auffinden lassen. Es traf sich günstig, dass im Institut für Infektionskrankheiten eine ganze Sammlung von Vibrionen vorhanden war, die im Laufe der Zeit aus menschlichen Dejecten oder aus Wasserproben gezüchtet, oder von ausserhalb zur Prüfung eingesandt worden waren. Manche von ihnen, die uns als Cholera-culturen zugegangen waren, hatten bei näherer Untersuchung schon längst auffällige morphologische und biologische Differenzen gegen das Verhalten der echten Cholera-bakterien gezeigt, so dass ihre Choleranatur mehr als zweifelhaft geworden war. Andere wieder, welche im Institut für Infektionskrankheiten aus Wasserproben gewonnen waren, boten alle bisher bekannten Charaktere der typischen Koch'schen Vibrionen dar und waren demzufolge stets als echte Cholera-culturen betrachtet worden. Es bot für uns das grösste Interesse, unsere neue Differenzirungsmethode an diesen Culturen zu versuchen, um die Spreu von dem Weizen zu trennen. Natürlich waren wir ausser Stande, jede einzelne Cultur in derselben umständlichen Weise durchzuprüfen, wie dies bei dem Vibrio Nordhafen geschehen war. Es wäre dies eine geradezu unabsehbare Arbeit geworden, die Hekatomben von Versuchsthieren verschlungen hätte. Wir suchten daher einen ein-

facheren Weg. Wir prüften das Verhalten von Meerschweinchen, welche 24 Stunden vorher mit choleraimmunem Serum von bekanntem Wirkungswerth vorbehandelt waren, gegen die intraperitoneale Infection mit einer für Controlthiere absolut tödtlichen Dosis der fraglichen Vibrionenart. Zeigte sich dabei keine Andeutung einer specifischen Beeinflussung, so war mit voller Sicherheit anzunehmen, dass die betreffende Cultur nichts mit echter Cholera zu thun hatte. Wurde dagegen eine ausgesprochene Schutzwirkung von der gleichen Intensität, wie sie unser Serum den echten Koch'schen Vibrionen gegenüber ausübt, festgestellt, so sprach dies mit allergrösster Wahrscheinlichkeit dafür, dass die untersuchte Vibrionenspecies eben Cholera war.

Vorbedingung für die Anwendbarkeit unserer Prüfungsmethode ist eine gewisse Virulenz der betreffenden Culturen. Das ist leicht einzusehen. Vibrionen, welche ausser Stande sind, sich im Meerschweinchenperitoneum lebend und vermehrungsfähig zu erhalten, die also schon den im normalen Körper wirkenden Kräften rasch und ohne Widerstand erliegen, sind kein geeignetes Object, um daran specifische Unterschiede in den bactericiden Functionen, wie wir sie hier im Sinne haben, zu studiren. Je pathogener vielmehr eine Vibrionenart für unsere Versuchsthiere sich erweist, um so leichter und sicherer muss es gelingen, sie auf dem von uns beschrittenen Wege von den Cholera-bakterien zu differenziren. Es ist daher nothwendig, sich in jedem Falle durch vorläufige Thierversuche über den Virulenzgrad der zu prüfenden Cultur möglichst genau zu orientiren.

Damit die Resultate von der individuellen Empfänglichkeit der zum Versuch dienenden Meerschweinchen nicht beeinflusst werden, haben wir stets Thiere derselben Grösse, von ungefähr 200<sup>g</sup> Gewicht benutzt. Ferner wählten wir aus dem gleichen Grunde Virusdosen, welche die Dosis letalis minima für Meerschweinchen, die mit entsprechenden Quantitäten normalen Serums vorbehandelt waren, ungefähr um das Doppelte übertrafen. Culturen von so geringer Virulenz, dass 1 Oese von 2<sup>ms</sup> für Meerschweinchen von 200<sup>g</sup> Körpergewicht nicht zur Herbeiführung des exitus letalis ausreichte, haben wir als ungeeignet vorläufig von diesen Versuchen ausgeschlossen. Möglicher Weise wird aber auch in solchen Fällen unsere Methode zum Ziele führen, da wir an der direct zu beobachtenden Geschwindigkeit des Vibrionenvernichtungsprocesses das Vorhandensein oder Fehlen specifischer bactericider Einflüsse mit ziemlicher Sicherheit abschätzen können. Doch ziehen wir es vor, ehe wir in so schwierigen Fragen das letzte Wort sprechen, noch weitere Erfahrungen zu sammeln.

Nach den oben angegebenen Gesichtspunkten haben wir bisher 24 Vibrionenculturen geprüft. Wir theilen dieselben der Uebersichtlichkeit halber in folgende 3 Gruppen:

Tabelle IX.

Gruppe A. Culturen, die aus dem menschlichen Darm gezüchtet sind.

Nr.	Bezeichnung der Cultur	Fundort	Bemerkungen
1	Cholera Pfeiffer	Hamburg, Frühjah 1893 gezüchtet	Vgl. S. 358 u. 359 dieser Arbeit.
2	Vibrio Ivanoff	Berlin, Sommer 1893	Die näheren Daten über diese Cultur auf S. 387 u. 394 dieser Arbeit.
3	Vibrio Weichselbaum	—	Von Weichselbaum aus einem choleraverdächtigen Fall isolirt. Ist für Tauben bei einfacher Impfung pathogen, atypisches Wachstum in Gelatine.
4	Cultur Paris I	} unbekannt	Im Sommer 1893 durch Metschnikoff dem Institut für Infektionskrankheiten übersandt. Beide Culturen sind pathogen für Tauben, zeigen atypisches Wachstum in Gelatine.
5	„ II		
6	Cultur Kemper	Solingen, Herbst 1893	Aus den Fäces einer Reconvalescentin am 45. Tage eines schweren typischen Choleraanfalles durch Dönitz isolirt.
7	„ Schmidt	Berlin, Sommer 1893	Aus den Dejecten einer als choleraverdächtig zur Beobachtung aufgenommenen Person im städtischen Barackenlazareth Moabit gezüchtet.

Gruppe B. Culturen, welche aus dem Wasser stammen.

a) Culturen von typischer Thierpathogenität und typischem Wachstum auf künstlichen Nährböden.

8	Cholera Nietleben	Nietleben, Januar 1893	Während der bekannten Nietlebener Choleraepidemie im Institut für Infektionskrankheiten aus dem Leitungswasser der Irrenheilanstalt Nietleben gezüchtet.
9	Cholera Stettin Filter C	} Stettin, October 1893	Während der Stettiner Herbstepidemie aus Proben des Rohwassers isolirt, die am 15. October aus den Filterbassins entnommen wurden. desgl.
10	Cholera Stettin Filter D.		
11	Cholera Gollnow	Mühlbach bei Gollnow	Aus dem Wasser dieses Baches am 8. November 1893 isolirt, während des Herrschens einer kleinen Choleraepidemie in Gollnow
12	Cholera Havel	Potsdam	Todter Havelarm hinter Burgstr. 8. Wasserprobe entnommen 31./X. 93. In diesem Haus war am 29./X. 93 der Schuhmacher Zumpe an bakt. constatirter Cholera erkrankt. Am 3./XI 93 in demselben Hause ein Todesfall an Cholera.

(Fortsetzung.)

Nr.	Bezeichnung der Cultur	Fundort	Bemerkungen
13	Cholera Spree	Berlin, Friedrichsbrücke	Wasserprobe entnommen am 27./X. 1893. Dort erkrankte 2 bis 3 Tage vorher der Arbeiter Malinsky an bakt. festgestellter Cholera, die Dejecte gelangten am Ort der Erkrankung in die Spree.
14	Colfontaine	} Belgien	} Durch Prof. van Ermengem isolirt.
15	Eau de la Lys		

## b) Culturen mit atypischen Eigenschaften.

16	Vibrio Massauah	Massauah	Von Pasquale aus dem Wasser eines Brunnens bei Ghinda isolirt, atypische Colonieenbildung.
17	Vibrio Emmerich	Rhein bei Emmerich	Herbst 1893 aus dem Rheinwasser durch Dönitz gezüchtet, taubenpathogen.
18	Vibrio Ruhrort	Ruhrorter Hafen	Herbst 1893 aus dem Hafenwasser durch Dönitz gezüchtet, atypisch. Wachsthum.
19	Vibrio Nordhafen	Berlin	Metschnikoff-Art, August 1893 in Wasser des Berliner Nordhafens aufgefunden.
20	Vibrio Danubicus	Donau	Von Heider isolirt.
21	Vibrio Dunbar I	} Elbe bei Hamburg	} Beide Vibrionenarten zeigen starke Phosphorescenz.
22	„ „ II		
23	Vibrio Kolle I	} Spree bei Berlin	} Im Februar 1894 im Institut für Infektionskrankh. aus Spreewasser gezüchtet.
24	„ „ II		

Wir geben nun zunächst eine tabellarische Uebersicht der zur Virulenzprüfung mit diesen 24 Culturen an normalen Meerschweinchen unternommenen Infectionsversuche.

Tabelle der Virulenzprüfungen Nr. X.

Nr.	Bezeichnung der Cultur	Nr. des Meer- schweinchen	Körper- gewicht gram	Dosis	Bemerkungen	Erfolg
1	Cholera Pfeiffer			vergl. Tabelle VIII		
2	Vibr. Ivanoff	I 185 II 200	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{2}$	Oese "	† nach 16 Std. Localaffection "	† †
3	Vibr. Weichsel- baum	I 240 II 260	$\frac{1}{3}$ $\frac{1}{2}$	" "	Temperaturabfall bis 33° † innerhalb 15 bis 18 Std., im Ex- sudat zahlreiche Vibrionen	lebt †
4	Vibr. Paris I	I 260 II 280	$\frac{1}{3}$ $\frac{1}{2}$	" "	† nach 9½ Std. Im Peritoneal- exsudat massenhaft Bakterien, im Blut mässig zahlreich † nach 7 Std., derselbe Obductions- befund	† †
5	Vibr. Paris II	I 290 II 290	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{2}$	" "	† nach 15 Std. } Im Peritoneum zahlr., † nach 13 Std. } im Blut vereinzelte Vibrionen	† †
6	Cultur Kemper	I 180 II 200	$\frac{1}{2}$ 1	" "	Temperaturabfall bis 32° C. † nach 8 Std., im Peritonealexsu- dat viel Kommabacillen	lebt †
7	" Schmidt	I 225 II 230	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† nach 6 Std. } im Peritonealexsu- † nach 6½ Std. } dat zahlreiche Bak- terien	† †
8	Nietleben	I 215 II 205	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† innerhalb 10 } im Periton. zahlr., bis 15 Std. } im Blut vereinzelte " } Vibrionen	† †
9	Filter C. Stettin	I 210 II 210	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† innerhalb 12 } im Periton. zahlr. bis 15 Std. } Bakterien	† †
10	Filter D. Stettin	I 240 II 225	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† nach 10½ Std. } " }	† †
11	Gollnow Bach	I 160 II 190	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† nach 9 Std. } † nach 13 Std. } "	† †
12	Havel bei Pots- dam	I 265 II 270	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{2}$	" "	Temperaturabfall bis 30° " " 29°	lebt "
13	Spree an der Inselbrücke Berlin	I 225 II 210	$\frac{1}{4}$ $\frac{1}{2}$	" "	" " 33-4° † nach 8 Std., im Peritoneum reich- lich Vibrionen	" †
14	Colfontaine	I 290 II 240	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† nach 12 bis 15 Std. } im Periton. " } mässig viel " } Vibrionen	† †
15	Eau de la Lys	I 200 II 215	$\frac{1}{2}$ 1	" "	† in der Nacht } im Periton. mässig " } viel Vibrionen, zahl- reiche Leukocyten, Phagocytose	† †

(Fortsetzung.)

Nr.	Bezeichnung der Cultur	Nr. des Meer- schweinchen	Körper- gewicht gm	Dosis	Bemerkungen	Erfolg
16	Massanah	I	220	$\frac{3}{4}$ Oese	† nach 15 Std., Peritoneum völlig steril	†
		II	210	1 „	† nach 8 Std., Peritoneum mässig viel Vibrionen. Blut steril	†
		III	205	2 Oesen	† nach $4\frac{1}{2}$ Std., Allgemeininfektion	†
17	Vibr. Emmerich	I	210	$\frac{1}{2}$ Oese	† nach 5 Std. }	†
		II	240	1 „	† nach 6 Std. } Allgemeininfektion	†
18	„ Ruhrort-	I	220	$\frac{1}{2}$ „	† nach 15 Std. }	†
		II	230	1 „	† nach $10\frac{1}{2}$ Std. } im Peritonealexsudat ziemlich viel Vibrionen	†
19	„ Nordhafen				vergl. Tabelle VIII	
20	„ Danubicus	I	235	$\frac{1}{2}$ „	† nach $6\frac{1}{2}$ Std. }	†
		II	210	1 „	„ } Allgemeininfect.	†
21	„ Dunbar I	I	240	$\frac{1}{3}$ „	† in der Nacht }	†
		II	220	$\frac{2}{3}$ „	„ } colossale Mengen von Vibrionen im Peritoneum	†
22	„ Dunbar II	I	215	$\frac{1}{3}$ „	† in der Nacht }	†
		II	225	$\frac{2}{3}$ „	„ } Allgemeininfektion	†
23	„ Kolle I	I	300	$\frac{1}{4}$ „	† in 7 Std., Allgemeininfektion	†
24	„ Kolle II	I	200	$\frac{1}{2}$ „	desgl.	†

Mit einer jeden dieser 24 Vibrionenculturen machten wir mindestens zwei Thierexperimente. Zwei Meerschweinchen wurden mit 0.1 bzw. 0.25<sup>cem</sup> eines Serums durch subcutane Injection vorbehandelt, welches, wie Controlversuche zeigten, in der Menge von 0.1 bei gleicher Applicationsweise gegen  $\frac{3}{4}$  Oese unserer Test-Cholera-cultur zu schützen vermochte. 24 Stunden später erfolgte die intraperitoneale Einverleibung der Virusdosis der zu prüfenden Vibrionenspecies und zwar jedesmal in 1<sup>cem</sup> Bouillon aufgeschwemmt. Wir beobachteten den Ablauf der im Peritoneum sich abspielenden baktericiden Vorgänge, in dem wir von Zeit zu Zeit durch Capillarröhrchen einen kleinen Tropfen des peritonealen Exsudates hervorholten und mikroskopisch untersuchten. In allen Fällen, wo das Choleraserum specifisch wirkte, sahen wir die injicirten Vibrionen rapide zu Grunde gehen. Dieselben schrumpften zu kleinen Kügelchen zusammen, welche zunächst den Farbstoff noch ziemlich stark aufnehmen und dann oft ganz das Aussehen von Mikokokken darboten. Diese Kügelchen wurden bald blasser und blasser, man konnte direct verfolgen, wie ihre Substanz



in der Exsudatflüssigkeit sich auflöste, schliesslich blieben nur noch schwach sichtbare Schatten als Residuen der untergegangenen Vibrionen zurück, bis auch diese letzten Reste verschwanden. Die Schnelligkeit dieses Bakterienvernichtungsprocesses zeigte sich direct proportional der Quantität des wirksamen Serums, welche zur Vorbehandlung verwendet worden war. In der Regel waren nach 2 bis 3 Stunden die injicirten Vibrionenmassen total verschwunden. In einer Anzahl von Versuchen, die sofort zu besprechen sein werden, wo wir grössere Serummengen injicirt hatten, wurden enorme Mengen der Vibrionen (4 Oesen) in unglaublich kurzer Zeit, in 40, 60 Minuten vollständig abgetödtet. In diesen Fällen überzeugten wir uns davon, dass die überwiegende Mehrzahl der Vibrionen frei im Exsudat ohne Phagocytosis zu Grunde ging.

Im Gegensatz dazu konnten wir in denjenigen Fällen, wo der specifische Einfluss unseres Choleraserums fehlte, stets eine fortschreitende Vermehrung der injicirten Vibrionen feststellen, die bis zum Tode des Thieres anhielt.

Die beobachteten Unterschiede im Verhalten der Vibrionen waren stets höchst frappant und eindeutig, so dass bei den von uns bisher untersuchten Vibrionenspecies niemals ein Zweifel darüber herrschen konnte, ob eine specifische Beeinflussung vorlag oder nicht. Bei einer Anzahl besonders wichtiger Culturen wurden weitere Versuche mit Meerschweinchen angestellt, denen wir verhältnissmässig grosse Quantitäten des Schutzserums (1<sup>cem</sup>) intraperitoneal beigebracht hatten. 24 Stunden später injicirten wir den so vorbehandelten Thieren von denjenigen Culturen, welche den kleinen Serumdosen gegenüber sich wie Cholera verhalten hatten, die enorme Quantität von 2 Oesen pro 100<sup>g</sup> des Körpergewichtes und sahen ausnahmslos, dass diese geradezu kolossalen Vibrionenmengen in kürzester Frist aufgelöst wurden, wobei die Thiere, allerdings nach dem Bestehen schwerster Vergiftungserscheinungen, mit dem Leben davon kamen (conf. weiter oben). Diejenigen Vibrionenarten, welche durch die kleinen Serummengen nicht beeinflusst werden konnten, tödteten in diesen Versuchen die mit 1<sup>cem</sup> Choleraserum vorbehandelten Meerschweinchen wie die Controlthiere, obwohl wir Dosen wählten, welche 1 Oese nicht überschritten.

Wir lassen die Thierversuche tabellarisch geordnet in nachstehender Tabelle XI folgen.

Aus diesen Versuchen folgern wir: Von den Culturen der Gruppe A verhalten sich wie echte Cholera Nr. 2 (*Vibrio Ivanoff*) und Nr. 6 (*Cultur Kemper*). Der *Vibrio Ivanoff*, welcher im Uebrigen von echter Cholera nicht zu unterscheiden ist, hat die Neigung, in Culturen, besonders aber im Thierkörper, zu längeren, feinen, spiralig gewundenen Fäden auszu-

Tabelle XI. Einfluss des Serums choleraimmuner Meerschweinchen auf

## Gruppe A.

Name der Cultur	Nr.	Körpergewicht grm	Vorbehandlung	Zeit der Infection Std.	Dosis	Bemerkungen	Erfolg
Ivanoff	I	230	0.1 Ser. + 0.5 <sup>cem</sup> Kochsalzl. intrapert.	24	1 Oese = 2 mg	Nach 1 1/2 Std. waren die Vibrionen schon aus Perit.-Exsudat verschw.	Temperaturabfall b. z. 36.0, bleibt am Leben.
	II	235	0.05 " + "	24	"	"	"
	III	225	0.1 " + " Kochsalzl. subcutan.	24	1 1/2 Oese	Nach 3 Std. erwies sich das Perit.- Exsudat als ganz steril. Viel runde Körperchen.	Temperaturabfall b. z. 34.0, bleibt am Leben.
	IV	225	0.25 " + 3/4 <sup>cem</sup> "	24	"	"	"
Weichsel- baum	I	260	0.1 " + 1/8 " Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese	Progressive Vermehrung der Mi- krobenzahl. Kein Unterschied im Infectionsverlauf zwischen den mit verschiedenen Serumengen vor- behandelten Thieren.	Nach 5 Std. + an allg. Inf.
	II	270	0.25 " + 3/4 <sup>cem</sup> Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	" 4 1/2 " "
	III	200	0.1 " + 1/8 <sup>cem</sup> Kochsalz- lösung subcutan.	24	1/4 Oese	"	" 7 1/2 " "
	IV	210	0.25 " + 3/4 <sup>cem</sup> Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	" 8 " "
	V	200	1 <sup>cem</sup> intraperitoneal.	24	3/4 Oese	Kein spezifischer Einfluss der Vor- behandlung. Leukocytosis und Phagocytosis unterdrückt.	" 10 1/2 " "
	VI	200	"	24	1 Oese	Progressive Vermehrung der Vibrionen.	" 8 1/2 " " Colossale Mengen v. Vibrio- nen im Peritoneum gefund.
Paris Nr. I	I	265	0.1 Ser. + 1/2 <sup>cem</sup> Kochsalz- lösung subcutan.	24	1/2 Oese	Progressive Vermehrung der Vibrionenzahl. Leukocytose un- terdrückt. Kein Unterschied im	N. 6 1/2 Std. + an allg. Inf.

Paris Nr. I	II	265	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{1}{2}$ Oese	Infectionsverlauf zwischen den mit verschiedenen Serumdososen vor- behandelten Thieren.	5 $\frac{1}{2}$	"	"
	III	200	0.1 "	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{1}{4}$ Oese		8	"	"
	IV	220	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"		8 $\frac{1}{2}$	"	"
	V	200	1 cem intraperitoneal.		24	$\frac{3}{4}$ Oese		5 $\frac{1}{2}$	"	"
	VI	240	"		24	1 Oese		Colossale Mengen v. Vibrio- nen im Peritoneum gefund.	"	"
	I	290	0.1 Ser.	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{1}{2}$ Oese		N. 5 Std. † an allg. Infect. Colossale Mengen v. Vibrio- nen im Peritoneum gefund.	"	"
Paris Nr. II	II	290	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	Progressive Vermehrung der Vibrien. Kein Einfluss der Vorbehandlung.	N. 4 $\frac{1}{2}$ Std. † an allg. Inf.	"	"
	I	295	0.1 Ser.	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 $\frac{1}{2}$ Oese		Temperaturabfall b. z. 32.1, das Thier bleibt am Leben.	"	"
Kemper	II	310	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	Schon $\frac{3}{4}$ Std. nach der Infec- tion hatte die Zahl der Vibrien merklich abgenommen. Phago- cytosis war sehr deutlich ausge- sprochen. 3 Std. später liessen sich nur noch ganz vereinzelte Vibrien, meistens in Leukocyten eingeschlossen, nachweisen. $\frac{1}{2}$ St. darauf hatte der Vibrienver- mehrungsproceß seinen Abschluss erreicht.	Temperaturabfall b. z. 33.0, bleibt am Leben.	"	"
	I	150	0.1 "	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{3}{4}$ Oese		Nach 3 Std. erwies sich das Peritonealexsudat als ganz steril.	N. 6 $\frac{1}{2}$ Std. † an allg. Inf.	"
	II	170	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"		Progressive Vermehrung der Vibrien.	7	"
Schmidt										

Tabelle XI. (Fortsetzung.) Gruppe B.

Name der Cultur	Nr.	Körpergewicht grm	Vorbehandlung	Zeit der Infection Std.	Dosis	Bemerkungen	Erfolg
Nietleben	I	200	0.1 Ser. + $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese = 2 mg	3 Std. nach der Infection Perit- tonealexsudat steril.	Temperaturabfall b. z. 34.0, bleibt am Leben.
	II	215	0.25 „ + $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$1\frac{1}{2}$ Oese	Nach 3 Std. liessen sich im Peri- tonealexsudate noch ganz vereinzt. Bacillen nachweisen. Phagocytose. Sehr viel runde Körper, theils frei, theils in den Zellen eingeschl.	Temperaturabfall b. z. 33.0, bleibt am Leben.
Filter C.	I	250	0.1 „ + $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{3}{4}$ Oese	4 Std. nach der Inf. liessen sich die Vibrien noch in grossen Mengen nachweisen. Phagocytosis war deutlich ausgesprochen, das Thier ging zu Grunde.	Innerhalb 20 Std. + an Localaffection.
	II	220	0.25 „ + $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	„	Nach 4 Std. Perit.-Exsudat fast steril gefunden.	Temperaturabfall b. z. 35.5, bleibt am Leben.
	III	220	1 cem intraperitoneal.	24	4 Oesen	Nach $3\frac{1}{2}$ Std. konnte man noch vereinzelte Bacillen, in Leukoeyten eingeschl., nachw. $\frac{1}{2}$ St. darauf w. das Perit.-Exsudat steril gefund.	Temperaturabfall b. z. 30.0, bleibt am Leben.
Filter D.	I	205	0.1 Ser. + $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese	In den ersten 3 Std. war der Vibrienvernichtungsproc. sehr deutl. ausgespr., trotzdem aber ist das Thier zu Grunde gegangen.	Innerhalb 15—18 Std. + an Localaffection.
	II	220	„	24	$\frac{3}{4}$ Oese	Fast ebensolcher Befund.	Innerhalb 7—9 Std. + an Localaffection.
	III	200	„	24	„	Nach 3 Std. der Inf. im Perito- nealexsudat ganz vereinzelte Vibrien nachzuweisen.	Temperaturabfall b. z. 34.0, bleibt am Leben.
	IV	200	0.25 „ + $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese	Fast ebensolcher Befund.	Temperaturabfall b. z. 31.0, bleibt am Leben.

Gollnow.	I	180	0·1	„	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese	In den ersten 3—4 Std. war die Phagocytose sehr merklich aus- gesprochen. Am Ende der 4. Std. ging die Mikrobenvermehrung an u. das Thier ging zu Grunde.	Nach 10½ Std. † an Local- affection.
	II	200		„	„	24	$\frac{3}{4}$ Oese	Fast ebensolcher Befund.	Innerhalb 15—18 Std. † an Localaffection.
	III	200		„	„	24	„	N. 3½ Std. erwies sich d. Perito- nealexsudat als ganz steril.	Temperaturabfall b. z. 32·8, bleibt am Leben.
	IV	180	0·25	„	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese	Ebensolcher Befund.	Temperaturabfall b. z. 34·0, bleibt am Leben.
	V	205	1 cem	intraperitoneal.	„	24	4 Oesen	Nach 2½ Std. noch ganz verein- z. Vibrien. nachzw. Sehr viel runde Körperchenüberreste d. Vibrien.	Temperaturabfall b. z. 31·0, bleibt am Leben.
Havel bei Potsdam	I	270	0·1 Ser.	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	„	24	1 Oese	In den ersten 2 Std. war der Vibrienvernichtungsprocess sehr leb., trotz d. i. d. Thier gest.	Innerhalb 15—18 Std. † an Localaffection.
	II	270	0·25	„	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	„	Nach 2½ Std. Peritonealexsudat steril gefunden.	Temperaturabfall b. z. 31·6, bleibt am Leben.
	I	330	0·1	„	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{3}{4}$ Oese	Nach 3 Std. im Perit.-Exsudat sehr viel Leukocyten mit Bacillen überladen nachzuweisen, ganz vereinzelte freie Vibrien gefund. 2 Std. darauf ebensolcher Befund.	Innerhalb 15—17 Std. †. Peritoneum völlig steril ge- funden.
Spree Insel- brücke	II	320	0·25	„	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	„	Nach 3 Std. das Perit.-Exsudat steril.	Temperaturabfall b. z. 32·0, bleibt am Leben.
	III	220	1 cem	intraperitoneal.	„	24	4 Oesen	Nach 1¾ Std. im Perit.-Exsudat ganz vereinzelte Bacillen gefun- den. Viel runde Körp. theils frei, theils in den Zellen eingeschl.	Temperaturabfall b. z. 32·5, bleibt am Leben.
Colfontaine	I	280	0·1 Ser.	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	„	24	1 Oese	Nach 2½ Std. im Perit.-Exsudat viel runde Körperchen frei und in Zellen eingeschl. Keine Bakterien.	Temperaturabfall b. z. 32·0, bleibt am Leben.
	II	290	0·25	„	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	„	Fast ebensolcher Befund.	Temperaturabfall b. z. 33·0, bleibt am Leben.

Tabelle XI. (Fortsetzung.) Gruppe B.

Name der Cultur	Nr.	Körpergewicht grm	Vorbehandlung	Zeit der Infection Std.	Dosis	Bemerkungen	Erfolg
Eau de la Lys	I	260	0·1 Ser. + $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese = 2 mg	Nach $1\frac{1}{2}$ Std. im Perit.-Exsudat ganz vereinzelte Vibrionen nach- zuweisen. Sehr viel runde Kör- perchen frei oder in Leukocyten eingeschlossen. $\frac{1}{2}$ Std. darauf Perit.-Exsudat völlig steril gefund.	Temperaturabfall b. z. 36·6, bleibt am Leben.
	II	240	0·25 „ + $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	„	Fast ebensolcher Befund. Das Perit.-Exsudat erwies sich noch früher als bei vorig. Thiere steril.	Temperaturabfall b. z. 37·0, bleibt am Leben.
	III	220	1 cem intraperitoneal.	24	4 Oesen	Sofort nach der Infect. colossale Mengen von Vibrionen. Viel Leukocyten mit Bacillen überlad. $2\frac{1}{2}$ Std. darauf noch viel Vibrio- nen, aber fast alle in Leukocyten eingeschl. Sehr vereinzelte freie Bacillennachzuw. 4 Std. nach der Inf. Perit.-Exsudat steril gefund.	Temperaturabfall b. z. 31·0, bleibt am Leben.

Gruppe C.

Massanah	I	185	0·1 Ser. + $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	2 Oesen	Progressive Vermehrung der Mikrobenzahl. Kein Einfluss der Vorbehandlung.	N. $5\frac{1}{2}$ Std. † an allg. Inf. Colossale Mengen v. Vibrio- nen im Perit.-Exsud. gefund.
	II	188	0·25 „ + $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	„	„	N. $7\frac{1}{2}$ Std. † an allg. Inf. Colossale Mengen v. Vibrio- nen im Perit.-Exsud. gefund.
	III		1·0 „ intraperitoneal.	48	$1\frac{1}{2}$ Oese	Keine Spur einer Beeinflussung.	Nach $7\frac{1}{2}$ Std. †.
Emmerich	I	260	0·1 „ + $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{1}{2}$ Oese	Kein spezifischer Einfluss der Vorbehandlung.	N. $6\frac{1}{4}$ Std. † an allg. Inf. Colossale Mengen von Vibrionen gefunden.

Emmerich	II	235	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{1}{2}$ Oese	"	"
	I	220	0.1 "	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	1 Oese	Progressive Vermehr. der Mikro- benzahl bis zum Tode des Thieres.	Innerhalb 15—16 Std. † an allgemeiner Infection.
Dönitz	II	240	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	"
	I	205	0.1 "	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	Progressive Vermehrung der Mikrobenzahl. Kein Einfluss der Vorbehandlung.	Nach 10 Std. † an allg. Inf.
Danubicus	II	220	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	" 7 " "
	I	260	0.1 "	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{1}{2}$ Oese	"	Innerhalb 15—17 Std. † an allgemeiner Infection.
Dunnbar Nr. I	II	220	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	"
	I	190	1 cem intraperitoneal.		24	1 Oese	"	N. $6\frac{1}{2}$ Std. † an allg. Inf.
Dunnbar Nr. II	II	200	"		24	"	"	" $5\frac{1}{2}$ " "
	I	240	0.1 Ser.	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	$\frac{3}{4}$ Oese	"	Innerhalb 15—18 Std. † an allgemeiner Infection.
Kolle Nr. I	II	220	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	"
	I	200	0.1 "	+ $\frac{1}{2}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	Progressive Vermehrung der Mikrobenzahl. Kein Unterschied im Infektionsverlauf zwischen den mit verschiedenen Serummenngen vorbehandelten Thieren.	Nach $9\frac{1}{2}$ Std. † an allge- meiner Infection.
Kolle Nr. II	II	200	0.25 "	+ $\frac{3}{4}$ cem Kochsalz- lösung subcutan.	24	"	"	Innerhalb 12—15 Std. † an allgemeiner Infection.

wachsen. Die besonderen Umstände, unter welchen er gefunden wurde, machen nun den Verdacht rege, dass es sich bei ihm in der That um echte, durch äussere Einflüsse etwas modificirte Cholera handelt. Ivanoff, welcher damals mit Versuchen über die desinficirende Wirkung von Kalk und Mineralsäuren auf im Stuhl enthaltene pathogene Mikroorganismen beschäftigt war, isolirte angeblich seinen *Vibrio* aus dem diarrhöischen Stuhl einer Typhuskranken, die damals, Anfang August 1893, auf der Krankenabtheilung des Instituts für Infektionskrankheiten behandelt wurde. Zufällig ist denselben Tag ein anderer Stuhl derselben Patientin durch Prof. Pfuhl untersucht worden, der keine Vibrionen darin nachweisen konnte. Die Stühle der Patientin sind dann Tag für Tag auf das Sorgfältigste mit der empfindlichen Peptonmethode auf die Anwesenheit von Kommabacillen geprüft worden, stets mit negativem Resultat. Die Vermuthung ist daher nicht ausgeschlossen, dass Ivanoff das Opfer eines unglücklichen Zufalles geworden ist, der ihm echte, durch Desinfectionswirkung irgendwie modificirte Cholera in die Hände gespielt hat. — Die vier anderen Vibrionenarten, Cultur I und II Paris, Cultur Weichselbaum und Schmidt sind sicher keine Choleraeulturen.

Dagegen verhielten sich sämmtliche Culturen der Gruppe B in unseren Versuchen wie die typischen Choleraeulturen. Dieses Resultat beweist, dass die morphologischen und biologischen Merkmale der Koch'schen Kommabacillen charakteristisch genug sind, um geübten Bakteriologen die Unterscheidung von anderen ähnlichen Vibrionenarten recht wohl zu ermöglichen, auch ohne Benutzung unserer neuen Differenzirungsmethode. Um so weniger gerechtfertigt erscheinen die absprechenden Urtheile Metschnikoff's, Sanarelli's, Gruber's u. A., welche es geradezu für unmöglich erklären, unter den aus dem Wasser gezüchteten Vibrionenarten die echten Choleraeulturen herauszufinden.

Die Culturen der Gruppe C, welche wegen ihrer atypischen Eigenschaften schon längst im Institut für Infektionskrankheiten nicht mehr zur Cholera gerechnet wurden, haben sich sämmtlich auch nach unserer Methode als artverschieden von den Choleraerregern zu erkennen gegeben.

Darunter befindet sich auch die berühmte Massauahcultur, welche den Bakteriologen seit langer Zeit Kopfzerbrechen bereitet hat. Als sie im Jahre 1890 durch Pasquale dem Institut für Infektionskrankheiten zugesandt wurde, waren unsere Kenntnisse über choleraähnliche Vibrionen mit Rothreaction und Thierpathogenität noch auf den *Vibrio Metschnikowi* beschränkt. Zudem musste zunächst angenommen werden, dass es sich um eine Cultur handle, die aus dem Cholera Darm gezüchtet sei. Trotzdem hatte R. Koch von vornherein den *Vibrio Massauah* als suspect erklärt und die Thatfachen haben ihm schliesslich Recht gegeben.



In Gruppe C gehören ferner die leuchtenden Vibrionen Dunbar's, die in Hamburg manchen Zweifel an der Koch'schen Lehre von der Choleraätiologie erweckt haben mögen, mit Unrecht zwar, da die Eigenschaft der Phosphoreszenz sie von den Koch'schen Bakterien mit vollster Bestimmtheit unterschied. Jetzt haben unsere Versuche, wie wir hoffen, auch den Zweiflern bewiesen, dass es sich um völlig differente Vibrionen, die mit der Cholera nicht das Mindeste zu schaffen haben, handelt.

Wir lassen schliesslich noch einige Versuchsprotocolle folgen, deren Ergebnisse als Anregung für weitere Untersuchungen Bedeutung gewinnen können.

R. Pfeiffer hatte in den „Studien zur Choleraätiologie“<sup>1</sup> angegeben, dass Meerschweinchen in einem Zeitpunkt, wo die specifisch schützende Kraft ihres Blutes schon wieder verschwunden ist, doch noch gegen das Cholera-virus eine ausgesprochene active Immunität bewahren können. Wir geben die ausführlichen Protocolle zweier Experimente, welche für diese Behauptung sehr beweisend sind.

## Tabelle XII.

### Versuch.

13./X. 1893. Ein Meerschweinchen von 275 gr<sup>m</sup> Gewicht bekommt 2 c<sup>cm</sup> Bouillon intraperitoneal eingespritzt.

14./X. 1893	$\frac{3}{4}$	Oese	Cholera-virus	intraperitoneal,
21./X.	$\frac{1}{2}$	„	„	„
27./X.	$\frac{1}{2}$	„	„	„
3./XI.	$\frac{1}{2}$	„	„	„
9./XI.	1	„	„	„
14./XI.	$\frac{1}{4}$	„	„	„

15./XI. 1893 Gewicht 315 gr<sup>m</sup>. Das Thier erhält 8 Oesen mit Chloroformdämpfe abgetödtete Cholera-Agarcultur intraperitoneal eingespritzt.

20./II. 1894, d. h. 97 Tage nach der letzten Schutzimpfung, wurde dem Thiere Blut entnommen und untersucht. Die Resultate dieser Untersuchung sind folgende:

Es erhielten Meerschweinchen:

I, 225 gr <sup>m</sup> .		II, 374 gr <sup>m</sup> .	
21./II.	$\frac{1}{2}$ c <sup>cm</sup> Serum intraperitoneal,	$1\frac{1}{2}$ c <sup>cm</sup> Serum subcutan.	
22./II.	$\frac{3}{4}$ Oese Cholera intraperiton.,	desgl.	
	Temperaturabfall bis zu 36.7,	Temperaturabfall bis zu 36.0.	
	Das Thier bleibt am Leben.	Das Thier bleibt am Leben.	
7./III. Zum zweiten Male Blutentziehung. Versuch mit diesem Blute:			

<sup>1</sup> A. a. O. S. 284.

## Meerschweinchen:

- I, 260 grm. II, 250 grm.
- 8./III.  $\frac{1}{2}$  ccm Serum intraperitoneal,  $1\frac{1}{2}$  ccm Serum subcutan.
- 9./III.  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera intraperiton., desgl.
- Temperaturabfall bis zu 35.0, nach 11 Std. † an Localaffection.
- Bleibt am Leben.
- 16./III. Zum dritten Mal Blutentziehung.
- 17./III. Versuch mit diesem Blute: Ein Meerschweinchen von 140 grm Gewicht bekommt  $\frac{1}{2}$  ccm dieses Blutes intraperitoneal eingespritzt. 24 Stunden darauf  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera intraperitoneal. 10 Stunden nach der Infection † an Localaffection.
- 20./III., d. h. 125 Tage nach der letzten Schutzimpfung, wurde das Thier mit einer Oese Cholera intraperitoneal inficirt.

Um 1 Uhr Temp. 38.3

3 " " 36.0

5 " " 37.1

7 " " 37.0

Das Thier bleibt am Leben.

## Versuch Nr. 20.

Meerschweinchen von 300 grm Gewicht bekommt am:

- 6./XI. 93  $1$  ccm hochimmunen Blutserums intraperitoneal eingespritzt.
- 7./XI.  $7\frac{1}{2}$  Oesen Choleratoxine intraperitoneal.
- 17./XI.  $3\frac{1}{2}$  Oesen Choleravirus intraperitoneal.
- 28./XI. Blutentziehung. Immunisirende Wirkung des Serums sehr deutlich. Zwei Meerschweinchen bekamen: das eine 0.25 ccm Serum, das andere 1 ccm subcutan eingespritzt. Nach 24 Stunden wurden die beiden Thiere mit  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera intraperitoneal inficirt. Die beiden überstanden den Eingriff.
- 7./II. 94, d. h. 82 Tage nach der letzten Viruseinspritzung wurde diesem Thiere zum zweiten Male Blut entnommen, und am 12./II. ein Versuch mit Serum dieses Blutes angestellt:

Es erhielten Meerschweinchen:

- I, 355 grm. II, 288 grm.
- 0.5 ccm Serum intraperitoneal, 1.5 ccm Serum subcutan.
- 13./II.  $\frac{3}{4}$  Oese Cholera intraper. desgl.
- † an allg. Infection, † an allg. Infection.

24./II. 94, d. h. 99 Tage nach der letzten Schutzimpfung, wurde das Thier mit einer Oese Cholera intraperitoneal eingespritzt.

Um 12 Uhr Vorm. T. 36.7

12 " " 37.5

3 " Nm. 36.7

4 " " 36.0

5 " " 35.5

6 " " 35.0

8 " " 34.3

25./II. 10 Uhr Temp. 37.6. Das Thier ganz munter.

Wir stellten ferner einige Versuche an über die im Reagensglas zu beobachtende baktericide Wirkung des Serums von Meerschweinchen, welche gegen die Cholera Bakterien, den *Vibrio Ivanoff*, den *Vibrio Nordhafen* und eine aus dem Wasser gezüchtete nicht thierpathogene und nicht choleraerregende Vibrionencultur immunisirt worden waren.

Die Immunisirung wurde in der schon früher beschriebenen Weise im Laufe mehrerer Wochen unter sorgfältiger Beaufsichtigung der Thiere durchgeführt. Das Serum wurde 8 bis 10 Tage nach der letzten Schutzimpfung aus der Carotis entnommen. Wir wollten prüfen, ob das specifisch immunisirte Serum auch ausserhalb des Meerschweinchenorganismus specifisch baktericide Wirkungen zu entfalten vermag. Unsere Versuche haben diese Voraussetzung als unberechtigt erwiesen. Das Choleraserum, welches im Peritoneum nur auf die Cholera Bakterien einwirkte, den übrigen Vibrionen gegenüber aber sich wie das Serum normaler Thiere verhielt, hat im Reagensglase alle vier Vibrionenspecies gleichmässig rapide abgetödtet. Das Nordhafen-Serum dagegen, welches überhaupt nur geringe baktericide Wirkungen zeigte, beeinflusste auffälliger Weise im Reagensglase den Nordhafen-*Vibrio* am wenigsten, während er im Thierkörper ausschliesslich gegen diese Vibrionenart eine sehr ausgesprochene Wirksamkeit ausübte.

Tabelle XIII.

**Bactericide Eigenschaften des Serums von Meerschweinchen, welche gegen verschiedene Vibrionenarten immunisirt sind.**

1. Serum von choleraimmun Thieren.

	sofort	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	24 Std.
Cholera . . .	3200	1140	420	0	0	0
Vibr. Ivanoff . .	2240	240	0	0	0	0
Vibr. Nordhafen	2800	1600	1000	100	0	0
Wasservibrio . .	2800	1200	800	440	44	0

2. Serum von Meerschweinchen, welche gegen *Vibr. Ivanoff* immunisirt wurden.

	sofort	1/2 Std.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	5 Std.	7 Std.	24 Std.
Cholera . . .	6300	900	0	0	0	0	0	0
Vibr. Ivanoff . .	7800	1680	0	0	0	0	0	0
„ Nordhafen	16800	16900	18000	24000	—	4200	1500	0
Wasservibrio . .	8200	6600	5040	3180	1800	550	300	0

3. Serum von gegen Vibr. Nordhafen immunisirten Meerschweinchen.

	sofort	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	$1\frac{1}{2}$ Std.	$2\frac{1}{2}$ Std.	4 Std.	5 Std.	7 Std.	9 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Cholera . . .	7970	12880	7440	9300	7930	5040	100	45	32	0	0	—
Vibr. Ivanoff . .	7250	8400	—	6900	6480	7200	2940	1350	540	15	0	—
„ Nordhafen	6270	4020	4340	5640	6720	2940	2400	2000	2320	1200	3	0
Wasservibrio . .	—	28800	13080	7070	—	300	45	0	0	0	0	—

4. Serum von Meerschweinchen, welche mit dem Wasservibrio immunisirt sind.

	sofort	$\frac{1}{4}$ Std.	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	$1\frac{1}{2}$ Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	24 Std.
Cholera . . .	2800	2300	2650	2600	3000	∞	∞	∞	∞	∞
Vibr. Ivanoff . .	2280	2300	2036	2080	1050	780	1000	1000	1600	∞
„ Nordhafen	3350	2400	600	115	15	4	0	0	0	0
Wasservibrio . .	3000	2000	0	0	0	0	0	0	0	0

5. Bactericide Wirkung des Serums eines Meerschweinchens, welches 24 Stunden vor der Blutentziehung 3<sup>cem</sup> normalen Meerschweinchenserums intraperitoneal erhalten hatte (Versuch bei Zimmertemperatur).

	sofort	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	$1\frac{1}{2}$ Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.	24 Std.
Cholera . . .	6000	16200	8100	2520	44	0	0	0	0

6. Derselbe Versuch wie in Nr. 5 bei Brutschrankwärme ausgeführt.

	sofort	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	24 Std.
Cholera . . .	4990	0	0	0	0	0

7. Versuch mit dem Serum von Meerschweinchen, denen in Experiment I 24 Stunden vor der Blutentnahme 0.25 Tuberculin intraperitoneal eingespritzt war, während in Experiment II die Blutentziehung 72 Stunden nach der intraperitonealen Vorbehandlung mit der gleichen Tuberculin-dosis vorgenommen wurde.

	sofort	$\frac{1}{2}$ Std.	1 Std.	2 Std.	3 Std.	4 Std.	6 Std.	8 Std.	24 Std.
I Cholera .	3960	1650	2795	3780	7480	21100	∞	∞	∞
II „ . .	600	660	740	800	—	1500	2800	∞	∞

Wir ziehen aus den Versuchen (Tab. XIII) vorläufig den Schluss, dass die specifisch baktericiden Effecte, die in der Bauchhöhle des Meerschweinchens nach Vorbehandlung mit dem Serum immuner Thiere so deutlich hervortreten, keinesfalls auf der Uebertragung fertiger, im Serum gelöster specifisch baktericider Substanzen beruhen kann.

Diese von uns festgestellten Thatsachen harmoniren sehr gut mit der früheren Auffassung R. Pfeiffer's, welcher in der mit A. Wassermann publicirten Arbeit („Untersuchung über das Wesen der Choleraimmunität“) sich über die Wirkung des Serums von Cholera-reconvalescenten auf die intraperitoneale Cholera-infection der Meerschweinchen in folgender Weise ausspricht: „Man muss nach diesen Resultaten den Gedanken durchaus fallen lassen, als ob in dem Serum direct (specifisch) baktericide Körper enthalten sind; wir sind gezwungen, den Vorgang der Immunisirung durch Serumübertragung so aufzufassen, dass unter dem Einfluss specifischer, bisher völlig unbekannter Substanzen, die mit dem Serum einverleibt werden, eine Reaction, eine Umstimmung des Meerschweinchenkörpers sich einstellt, wodurch dieser befähigt wird, sich der eingedrungenen Vibrionen rascher zu entledigen.“

Wie diese Umstimmung des Organismus zu Stande kommt, worauf die sich ausbildenden baktericiden Functionen beruhen, darüber behalten wir uns weitere Untersuchungen vor.

Der Mittheilung werth erscheinen uns schliesslich folgende Experimente, welche vielleicht berufen sind, einen Beitrag für die Aufklärung gewisser hochinteressanter Angaben C. Fränkel's und Sobernheim's in ihrer mehrfach citirten Abhandlung „Versuche über das Zustandekommen der künstlichen Immunität“ zu geben. Wir injicirten mehreren Meerschweinchen 3 <sup>cem</sup> normalen Meerschweinchenserums intraperitoneal. 24 Stunden später entnahmen wir Blut aus der Carotis und untersuchten das sich abscheidende Serum auf seine Fähigkeit, Cholera-bacillen abzutöden. Dabei zeigte sich die überraschende Thatsache, dass dieses Serum ganz ausgesprochene bakterientödtende Effecte besass, welche dem Serum normaler Meerschweinchen fehlten. Diese Versuchs-anordnung unterscheidet sich in einem gewiss nicht unwesentlichen Punkte von den Experimenten C. Fränkel's und Sobernheim's. Wir haben das zur Vorbehandlung dienende normale Serum unerhitzt injicirt, während die erwähnten Autoren das Serum vor der Einspritzung eine Stunde lang auf 70° C. erwärmten. Immerhin erscheinen uns unsere Versuche, die bei mehrfacher Wiederholung stets identische Resultate ergaben, sehr beachtenswerth und sollen weitergeführt werden.

Tuberculin, welches bei intraperitonealer Einspritzung den Meer-schweinchen nach 24 Stunden eine starke Resistenz gegen die Cholera-infection verleiht, hat nach unseren bisherigen Experimenten nicht die Fähigkeit, das Serum der damit vorbehandelten Thiere baktericid für Choleravibrionen zu machen.

Wir stehen hier vor Thatsachen, die vorläufig sich unserem Ver-ständniss entziehen. Wir ziehen es daher vor, ehe wir leere Hirngespinnste ersinnen, weiter zu forschen und zunächst auf eine Erklärung, die doch nur eine luftige Hypothese sein würde, zu verzichten.

---