

[Aus dem Königl. Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)
(Abtheilung für gefährliche Krankheiten. Vorsteher: Prof. Dr. W. Kolle.)

Ueber die Bindungsverhältnisse der Choleravibrionen. Studien zur Theorie der Specificität.

Von

Dr. E. Meinicke,

Dr. J. Jaffé,

Assistenten am Institut.

und

Oberarzt Dr. J. Flemming,

freiwilligem Hilfsarbeiter am Institut.

(Hierzu Taf. VI.)

A. Einleitung.

Die vorliegenden Untersuchungen sind als Studien zu Arbeiten über die Frage der Choleraszutzimpfung am Menschen entstanden. Bekanntlich sind es vornehmlich zwei Methoden der Choleraszutzimpfung, welche in grossem Maassstabe angewendet worden sind und noch angewendet werden: die Haffkine'sche und die Kolle'sche Methode. Das Haffkine'sche Verfahren ist hauptsächlich in Indien erprobt worden; über das Kolle'sche liegen aus neuerer Zeit Berichte von Murata¹ vor, der es in Japan in ausgedehntem Maasse (mehr als 10 000 Geimpfte) ausgeübt hat. Soweit sich aus den statistischen Angaben ein Urtheil gewinnen lässt, setzen beide Methoden die Morbidität und Mortalität an Cholera wesentlich herab. Ist demnach der Werth der Choleraszutzimpfung erwiesen, so erscheint es als äusserst wünschenswerth, die Frage nach den neuesten Gesichtspunkten der Immunitätslehre und auf Grund der erweiterten Kenntnisse über die Choleravibrionen wieder experimentell in Angriff zu nehmen. Bei den früher im Institut von Kolle² aus-

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXV.

² *Ebenda*. Bd. XIX. — *Deutsche med. Wochenschrift*. 1897.

geführten wissenschaftlichen Untersuchungen über Choleraschutzimpfung wurde stets dieselbe Cultur benutzt. Sie war 2 Jahre auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet und hatte viele Male zur Erhaltung der Virulenz für Meerschweinchen den Thierkörper passirt. Es erschien geboten, für neue Versuche am Menschen verschiedene Culturen heranzuziehen. Den Untersuchungen am Menschen sind vergleichende Prüfungen am Thier mit Culturen verschiedener Herkunft, verschiedenen Alters und verschiedener Virulenz vorangeschickt worden. Besonders aber sollten zwei Fragen, die in der Litteratur zur Zeit noch umstritten sind, bearbeitet werden, nämlich die Beziehungen, die zwischen der immunisirenden Kraft einer Cholera-cultur einerseits, ihrer Virulenz und ihrer Bindungskraft andererseits bestehen. Die Bindungskraft für Bakteriolyse in bakteriolysischem Serum war neben der Fähigkeit, die Agglutinine aus agglutinirendem Serum zu binden, zu prüfen. Wir folgten daher gern der Anregung von Hrn. Prof. Kolle, dieses Thema experimentell zu bearbeiten.

B. Experimenteller Theil.

I. Herkunft der Culturen.

Zu unseren Versuchen standen uns im Ganzen 47 Cholera-culturen zur Verfügung. Die Mehrzahl derselben stammt aus der ägyptischen Epidemie vom Jahre 1902. Dazu kommen sechs Cholera-stämme aus Saratow, fünf aus Baku und eine Cultur aus Lodz. Die Saratow-Stämme wurden im Jahre 1905 von Hrn. Dr. Haller in Saratow, die Baku-Culturen von Hrn. Prof. Dr. M. Hahn während einer Reise im Herbst 1904 in Baku isolirt und uns überlassen, während die Cultur Asiatica uns von Hrn. Dr. Serkowski aus Lodz zur Verfügung gestellt wurde. Es sei auch an dieser Stelle den genannten Herren für ihre Liebenswürdigkeit unser verbindlichster Dank ausgesprochen. Auch die alte Cultur Cholera Pfeiffer wurde zu unseren Versuchen herangezogen. Sechs Culturen verdanken wir der Güte von Hrn. Prof. Dr. Gotschlich. Sie sind in El Tor im März 1905 von Hrn. Prof. Dr. F. Gotschlich aus dem Darm von Pilgern isolirt, die an intercurrenten Krankheiten (Dysenterie, Colitis) gestorben waren. Die Pilger hatten weder intra vitam Krankheitserscheinungen gezeigt, die auf Cholera deuten konnten, noch ergab der Obductionsbefund Anhaltspunkte, dass sie an Cholera gestorben waren. Die sechs aus dem Darm der Leichen isolirten Culturen zeigen alle charakteristischen Merkmale echter Cholera-vibrien und wurden dementsprechend von Hrn. Prof. Dr. Gotschlich auch als solche angesprochen. Ausgedehnte Versuche, welche mit diesen Culturen im Kgl.

Institut für Infectiouskrankheiten angestellt wurden und worüber von Prof. Dr. Kolle und dem einen von uns (Meinicke) Bericht erstattet¹ wurde, liessen an der Choleranatur der Stämme keinen Zweifel.²

Ueber Herkunft, Bezeichnung und Virulenz der Culturen auf Meer-schweinchen giebt die folgende Tabelle I Auskunft.

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Namen der Culturen	Herkunft der Culturen	Virulenz a. Meerschw.		Bemerkungen
			zur Zeit der Einsendg. d. Culturen	jetzt	
1	1	Aegypten 1902	$\frac{1}{4}$	Oese	
2	6	"	$\frac{1}{10}$	"	
3	7	"	$\frac{1}{8}$	"	
4	13	"	$\frac{1}{10}$	"	
5	17	"	$\frac{1}{4}$	"	
6	19	"	$\frac{1}{6}$	"	> 1 Oese
7	30	"	$\frac{1}{4}$	"	
8	32	"	$\frac{1}{8}$	"	
9	37	"	$\frac{1}{4}$	"	

¹ Dieser Bericht wird im *Klin. Jahrbuch* in Kürze veröffentlicht werden. Vgl. auch die Veröffentlichung von Dr. F. Gotschlich, Alexandrien 1905.

² Anmerkung. Bei Gelegenheit der Identificierung dieser Culturen wurde auch ihr Verhalten auf Platten von Kaninchenblutagar geprüft. Der eine von uns, Meinicke (*Deutsche med. Wochenschrift*, 1904 und *diese Zeitschrift*, Bd. L), hatte im Gegensatz zu R. Kraus (*Wiener klin. Wochenschrift*, 1903, Nr. 50) und Schottmüller (*Münchener med. Wochenschrift*, 1904, Nr. 7) festgestellt, dass es Cholerastämme giebt, welche auf Blutagarplatten ausgeprägt helle Höfe um die einzelnen Colonien bilden, und dass andere echte Choleraculturen dies nicht thun. Neuerdings stellt Prausnitz (*Berliner klin. Wochenschrift*, 1905, Nr. 19) wieder die Behauptung auf. Cholera-vibrionen machten auf Blutplatten keine Aufhellungszone, während diese choleraähnliche Vibrionen thäten; man könne demnach den Blutagar zur Differenzierung von Cholera und choleraähnlichen Culturen verwenden. Es sei dem gegenüber darauf hingewiesen, dass auch unter den sechs Culturen aus Alexandrien sich wiederum drei befinden, welche den Blutagar nicht nur um Bakterienrasen, sondern auch um ganz isolirte Culturen ausserordentlich stark aufhellen. Die Brauchbarkeit des Blutagars zur Choleradiagnose können wir nach unseren Untersuchungen nicht anerkennen. Uebrigens hat auch bereits Schottmüller (Biolog. Abthlg. des ärztl. Vereins Hamburg. Sitzung vom 14. III. 05. Referat: *Münchener med. Wochenschrift*, 1905, Nr. 23) seine Ansicht dahin modificirt, und Nachprüfungen im Wiener Serotherapeutischen Institut, aus dem die Arbeit von R. Kraus (a. a. O.) stammte, haben die Befunde des einen von uns bestätigt, wie aus einem demnächst im Ergänzungsband zum Kolle-Wassermann'schen *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen* erscheinenden Artikel von Pribram über Bakterienhämolyse hervorgeht. Prausnitz steht daher mit seiner abweichenden Ansicht gänzlich isolirt.

Tabelle I. (Fortsetzung.)

Lfde. Nr.	Namen der Culturen	Herkunft der Culturen	Virulenz a. Meerschw.		Bemerkungen
			zur Zeit der Einsendg. d. Culturen	jetzt	
10	41	Aegypten 1902	$\frac{1}{2}$ Oese	$\frac{1}{2}$ Oese	
11	42	"	> $\frac{1}{2}$ "		
12	45	"	> $\frac{1}{2}$ "		
13	48	"	> $\frac{1}{2}$ "		
14	54	"	$\frac{1}{4}$ "		
15	55	"	$\frac{1}{4}$ "	> 1 "	
16	58	"	$\frac{1}{3}$ "		
17	59	"	$\frac{1}{3}$ "		
18	60	"	> $\frac{1}{2}$ "		
19	63	"	$\frac{1}{3}$ "	> 1 "	
20	66	"	$\frac{1}{4}$ "		
21	68	"	$\frac{1}{2}$ "	> 1 "	
22	69	"	> $\frac{1}{2}$ "		(Von Cultur 74 existirt ein nur auf künstlichen Nähr- böden fortgezüchteter Stamm 74 S und ein durch häufige Thierpassage viru- lent erhaltener 74 v.
23	72	"	> $\frac{1}{2}$ "		
24	74	"	$\frac{1}{12}$ "	$\frac{1}{8}$ - $\frac{1}{10}$ "	
25	82	"	$\frac{1}{3}$ "		
26	83	"	> $\frac{1}{2}$ "		
27	84	"	$\frac{1}{3}$ "		
28	Pfeiffer	Geh.R.Pfeiffer		> 1 "	
29	Messina	Messina			
30	Asiatica	Russland 1905		$\frac{1}{4}$ "	wie bei 74 existirt ein Stamm As.S und As. v.
31	Hahn	" 1904		$\frac{1}{4}$ "	wie bei 74 existirt ein Stamm Hahn S u. Hahn v.
32	Baku I	"	$\frac{1}{6}$ "	$\frac{1}{8}$ - $\frac{1}{10}$ "	wie bei 74 existirt ein Stamm BIS u. B I v.
33	" II	"	$\frac{1}{4}$ "		
34	" III	"	$\frac{1}{4}$ "		
35	" IV	"	$\frac{1}{4}$ "		
36	Saratow I	" 1905	> $\frac{1}{4}$ "		
37	" II	"	> $\frac{1}{4}$ "		
38	" III	"	$\frac{1}{6}$ "	$\frac{1}{8}$ - $\frac{1}{10}$ "	wie bei 74 existirt ein Stamm S I I S und S I I v.
39	" IV	"	> $\frac{1}{4}$ "		
40	" V	"	> $\frac{1}{4}$ "		
41	" VI	"	> $\frac{1}{4}$ "	> 1 "	
42	Gotschlich I	Aegypten 1905		$\frac{1}{10}$ "	
43	" II	"		$\frac{1}{4}$ "	
44	" III	"		$\frac{1}{6}$ "	
45	" IV	"		$\frac{1}{10}$ "	
46	" V	"		$\frac{1}{3}$ "	
47	" VI	"		$\frac{1}{20}$ "	

Es sei schon an dieser Stelle besonders hervorgehoben, dass nicht nur die sechs in El Tor isolirten Culturen, sondern sämtliche untersuchten Stämme sich morphologisch und biologisch wie echte Cholera-vibrionen verhielten. Vor Allem aber erwiesen sie sich auch in ihren Immunitätsreactionen als Cholera-culturen. Sie wurden von einem hochwerthigen Pferdeserum, das mit der ägyptischen Cultur 74 hergestellt war, sämmtlich in annähernd gleichem Grade agglutinirt. Die Unterschiede in der Agglutinabilität der einzelnen Stämme waren in vollem Einklang mit den umfassenden Untersuchungen von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz¹ nur geringe. So weit die Culturen im Pfeiffer'schen Versuch gegen hochwerthiges baktericides Cholera-kaninchen-serum ausgewerthet werden konnten, verhielten sie sich ebenfalls in Uebereinstimmung mit den früheren Untersuchungen der ebengenannten Autoren als echte Cholera-culturen. An einer anderen Stelle der Arbeit werden wir auf diese gleichmässige Beeinflussbarkeit der untersuchten Culturen durch hochwerthiges agglutinirendes und baktericides Cholera-serum noch ausführlich zurückkommen. Mit einer Anzahl der Culturen sind bereits früher von den genannten Autoren Serumproben an Kaninchen hergestellt. Zahlreiche Stichproben, die auch wir in gleicher Weise vorgenommen haben, ergaben analog activen Immunisirungsversuchen stets das eindeutige Resultat von der Specificität der Immunitätsreactionen und der untersuchten Cholera-vibrionen.

II. Methodik.

Bevor wir zur Untersuchung der Bindungskraft der einzelnen Culturen schritten, wurden einige Vorversuche über die Methodik der Bindungsversuche gemacht. Bekanntlich waren Gruber und Durham² die ersten, welche die Beobachtung machten, dass bei der Agglutination von Typhus-bacillen die Agglutinine verbraucht werden. Bordet³ wandte dann zum ersten Male die Absorptionsmethode, welche Ehrlich und Morgenroth bei dem Studium der Hämolyse so vortreffliche Dienste geleistet hatte, auch auf Bakterienagglutinine an. Nach ihm haben sich dann zahlreiche Autoren mit diesem Gegenstand beschäftigt. Die von den einzelnen Forschern bei diesen Untersuchungen angewandte Methodik ist jedoch ausserordentlich verschieden. Umfassende Untersuchungen über die Bindungsverhältnisse der Bakterienagglutinine verdanken wir Eisenberg und

¹ *Diese Zeitschrift.* Bd. XLIV.

² *Münchener med. Wochenschrift.* 1896.
Wiener klin. Wochenschrift. 1896.

³ *Annales de l'Institut Pasteur.* 1899.

Volk.¹ Diese Autoren arbeiteten mit lebenden Culturen, liessen in der Regel die Mischung von Agglutinin und Bakterien 2 Stunden im Thermostaten bei 37° und über Nacht bei Zimmertemperatur stehen. Dann centrifugirten sie die Bakterien ab und untersuchten die klare Flüssigkeit auf ihre agglutinirende Kraft. Das Agglutinationsresultat stellten sie erst fest, nachdem die Versuchsröhrchen 24 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten. Im Wesentlichen auf Grund dieser Versuche von Eisenberg und Volk hat Arrhenius² ein allgemeines Gesetz der Bindungsverhältnisse von Bakterien und Antikörpern zu formuliren gesucht. Man wird Neisser³ Recht geben müssen, wenn er in einer Polemik gegen Arrhenius feststellt, dass die Methodik, mit der Eisenberg und Volk gearbeitet haben, keineswegs einwandfrei ist. Denn

1. fehlen Controlagglutinationen mit Serumverdünnungen, welche dieselbe Zeit wie die Versuchsröhrchen der erhöhten Temperatur ausgesetzt waren,

2. wachsen die zur Absättigung benutzten Bakterien während der langen Dauer des Versuches und schaffen dadurch uncontrolirbare Verhältnisse,

3. ist die Möglichkeit vorhanden, dass in grossen agglutinierten Haufen Bakterien vor der Agglutinationswirkung geschützt werden.

Um diese letzte Fehlerquelle zu vermeiden, schüttelten Neisser und Lubowski⁴ in eigenen Versuchen das Absorptionsgemisch alle 10 Minuten mit Glasperlen. Auch Hetsch und Lentz⁵, sowie Wassermann⁶ geben an, dass man die Versuchsröhrchen von Zeit zu Zeit umschütteln möge.

Während Eisenberg und Volk⁷ das Absorptionsgemisch 24 Stunden bei Brüt- und Zimmertemperatur stehen lassen, sättigt z. B. Scheller⁸ nur 2 Stunden bei 37° ab, Hetsch und Lentz⁹ 1 Stunde bei Zimmertemperatur, Wassermann¹⁰ $\frac{3}{4}$ Stunden auf Eis. Die Temperatur und die Zeit, in der die einzelnen Autoren die Bindung vor sich gehen lassen, ist darnach ausserordentlich verschieden.

¹ *Diese Zeitschrift.* Bd. XL.

² *Zeitschrift für Elektrochemie.* Bd. X. S. 661.

³ *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI.

⁴ *Ebenda.* 1901.

⁵ Koch's *Festschrift.*

⁶ *Ebenda.*

⁷ A. a. O.

⁸ *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI.

⁹ A. a. O.

¹⁰ A. a. O.

Einige Autoren geben an, dass es für den Endeffect ziemlich gleichgültig sei, wie lange und bei welcher Temperatur man die Absättigung vor sich gehen lässt. So wollen Buxton und Vaughan¹ beobachtet haben, dass die Bindung in 15 Minuten ebenso vollständig erfolgt, als in 24 Stunden, und R. Pfeiffer², dass eine 1½ stündige Absättigung im Eisschrank dieselben Resultate liefere, wie eine bei 43° ausgeführte. In ähnlichem Sinne sprechen sich Eisenberg und Volk³ aus.

Ein Theil der Autoren z. B. Joos⁴ hat mit abgetödteten Culturen gearbeitet, um das Wachstum der Bakterien auszuschalten und dadurch eventuell bedingte Fehlerquellen zu vermeiden.

Auch in der Serumconcentration und in der Menge der eingesäten Cultur bestehen die grössten Differenzen bei den in der Litteratur mitgetheilten Versuchen.

Bei den so ausserordentlich schwankenden Angaben über Zeit und Bedingungen der Absättigung schien es erwünscht, zunächst einige orientirende Vorversuche zu machen, nach deren Ausfall die endgültige Methodik für unsere Versuche festgestellt wurde.

Es wurden zuerst Versuche mit agglutinirendem Serum gemacht, deren Resultate kurz folgende sind:

1. In Uebereinstimmung mit den anderen Autoren stellten wir fest, dass die Serumconcentration und die Menge der verwandten Bakterien einen wesentlichen Einfluss auf den Grad der Absättigung ausübt. Zu stärkeren Serumconcentrationen muss entsprechend mehr Cultur hinzugesetzt werden, um dieselben Resultate wie mit grösseren Verdünnungen zu erzielen. Setzt man zu abgestuften Quantitäten Agglutinin gleiche Bakterienmengen, so bleiben in den starken Serumconcentrationen noch Agglutinine frei, während aus den niederen alle gebunden werden, wie das folgende Beispiel erläutert:

Tabelle II.

Pferdeserum I, mit 74 S hergestellt vom Agglutinationstiter 1:4000 ist in den Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:50 1 Stunde bei 37° unter Schütteln mit Stamm 74 S abgesättigt und zwar auf 1^{cem} Serumverdünnung 1 Oese Cultur. Das Centrifugenklar ausagglutinirt mit Cultur 74 S.

Verdünnungen des Absorptions- gemisches	Verdünnungen der abgesättigten Sera						
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
1:10	+++	+++	+++	++	+	—	—
1:20	+++	+++	±	—	—	—	—
1:50	+	±	—	—	—	—	—
1:100	—	—	—	—	—	—	—
Controle mit nicht abges. Serum	+++	+++	+++	+++	++	+	—

¹ *Journal of Medical Research.* Vol. XII.

² Koch's *Festschrift.*

³ A. a. O.

⁴ *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXIII.

Andererseits nimmt aus derselben Serumverdünnung die grössere Bakterienmenge mehr Agglutinin heraus als die geringere.

Tabelle III.

Der Versuch wie auf Tabelle II mit dem Unterschiede, dass zu 1^{cem} einer Serumverdünnung von 1:50 je 1/2 Oese, 1 Oese, 2 Oesen Cultur zur Absättigung hinzugesetzt wurden.

Zur Absorption verwendete Culturmenge	Verdünnungen des Centrifugenklars				
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
1/2 Oese in 1 ^{cem}	+++	++	+	-	-
1 „ „ 1 „	±	-	-	-	-
2 Oesen „ 1 „	-	-	-	-	-

Controle wie auf Tabelle II.

2. Wenn die Bindung bei höherer Temperatur erfolgt, so tritt in der gleichen Zeit wie bei niedrigerer vollständigere Absättigung ein, doch sind hierbei die Unterschiede nicht sehr ausgesprochen.

3. Eine Stunde auf 60° erhitzte Cholera-vibrionen binden unter denselben Versuchsbedingungen ebenso viel Agglutinin wie lebende.

4. Einen wesentlichen Einfluss auf das Endresultat hat die Dauer der Bindung, wie wir im Gegensatz zu Eisenberg und Volk¹ und Anderen stets beobachten konnten.

Tabelle IV.

1. Agglutinationsversuch.

Pferdeserum II wird mit Cultur 74S in der Verdünnung 1:50, 1/2 Oese Cultur auf 1^{cem} Serumverdünnung, bei 37° abgesättigt in 5 verschiedenen Proben, die nach je 1/4 Stunde, 1/2, 3/4, 1 und 2 Stunden centrifugirt werden. Agglutination mit Cultur 74S.

Dauer der Bindung	Verdünnungen des Centrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000
1/4 Stunde	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	
1/2 „	+++	+++	+++	+	±	-	-	
3/4 „	+++	+++	++	-	-	-	-	
1 „	+++	+	-	-	-	-	-	
2 Stunden	+++	±	-	-	-	-	-	
Controle mit nicht ab- gesättigtem Serum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±

¹ A. a. O.

Die Erklärung für diese Differenz ist wohl im Sinne Neissers¹ zu geben. Die Cholera vibrionen klumpen so schnell zu grossen Flocken zusammen, dass mechanisch eine Anzahl von ihnen, die noch nicht der vollen Wirkung der Agglutinine ausgesetzt waren, mitgerissen und im Inneren der Haufen von dem umgebenden Agglutinin abgeschlossen werden. Dadurch wird die thatsächlich an der Bindung betheiligte Bakterienmenge kleiner als in dem Schüttelversuch, bei dem die Bildung grosser Haufen vermieden wird. Demgemäss können in dem geschüttelten Versuchskölbchen mehr Agglutinine gebunden werden als in dem ruhig gehaltenen. Mehrmaliges Umschütteln der Versuchskölbchen kommt dem dauernden Schütteln in der Wirkung nicht gleich. Vielmehr ist zwischen so behandelten und ruhig gehaltenen Gemischen kaum ein Unterschied zu constatiren.

Tabelle VI.

Pferdeserum I mit Cultur 74 S in der Verdünnung 1:20, zu 1^{ccm} Serumverdünnung 1 Oese Cultur, bei 37° 1 Stunde lang abgesättigt, in 3 Proben, von denen die erste ruhig stand, die zweite alle 10 Minuten, die dritte dauernd geschüttelt wurde. Das Centrifugenklar agglutinirt mit 74 S.

Dauer und Art der Bindung	Verdünnungen des Centrifugenklars							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000	1:6000
1 Stunde ruhig	+++	+	±	—	—	—	—	—
1 St., alle 10 Min. geschüttelt	+++	+	±	—	—	—	—	—
1 Stunde im Schüttelapparat geschüttelt	+	±	—	—	—	—	—	—
Controle mit nicht abgesättigtem Serum	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

6. Die in der Litteratur häufig wiederkehrende Behauptung, die Bindung von Toxin, Antitoxin, Bakterien und ihren Antikörpern sei zunächst nur eine lockere und verhältnissmässig leicht zu trennende und würde erst vollkommen fest durch längeres Stehenlassen des Absorptionsgemisches, z. B. 24 Stunden lang oder des Nachts auf Eis, liess daran denken, dass auch bei unseren Versuchen diese Verhältnisse eine Rolle spielten. Es wäre denkbar gewesen, dass durch den mechanischen Eingriff des Centrifugirens ein Theil des nur ganz locker gebundenen Agglutinins wieder von den ausgeschleuderten Bakterien zu trennen wäre, dass eine Abspaltung des einmal gebundenen Agglutinins aber nicht mehr eintreten würde, wenn die Bakterien Gelegenheit fänden, das Agglutinin fest zu verankern. Unsere Versuche bestätigten diese Annahme nicht. Die Resultate blieben stets die gleichen, ob wir sofort nach Entnahme

¹ A. a. O.

aus dem Brüttschrank centrifugirten, oder das Absorptionsgemisch über Nacht auf Eis stehen liessen und erst dann durch Centrifugiren klärten.

Bei der definitiven Versuchsanordnung waren für uns folgende Gesichtspunkte maassgebend:

1. Es kam darauf an, die bei einem bestimmten Verhältniss von Agglutinin zu Bakterien grösstmögliche Menge Agglutinin an die Bakterien zu verankern. Wir setzten daher das Absorptionsgemisch im Einklange mit unseren Vorversuchen 1 Stunde im Schüttelschrank der Temperatur von 37° aus. Die Versuchskölbchen länger als 1 Stunde im Thermostaten zu lassen, ist nicht nöthig, da bereits nach einer Stunde das Maximum der Agglutininbindung erreicht ist.

2. Da wir eventuell vorhandene Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Culturen eruiren wollten, wählten wir die Serumconcentrationen und Bakterienmengen so, dass nach erfolgter Absättigung noch etwas freies Agglutinin in der Flüssigkeit vorhanden war. Im Allgemeinen wurde der Versuch so angestellt, dass die nach der Absättigung von den Bakterien befreite Flüssigkeit noch in den Verdünnungen 1:50, 1:100, 1:200 oder 1:500 den zur Bindung benutzten Stamm agglutinierte. Bei Absorption grösserer Agglutininmengen hätten sich zwischen den einzelnen Culturen vorhandene Unterschiede der Beobachtung entziehen können. Wenn nämlich die Versuchsanordnung so gewählt wird, dass bei Benutzung eines schwach bindenden Stammes das abgesättigte Serum selbst in der Verdünnung 1:50 gegen den eigenen Stamm unwirksam ist, kann natürlich ein Unterschied gegen eine stark bindende Cultur nicht constatirt werden. In der Regel wurden bei den Absättigungsversuchen Serumconcentrationen von 1:10, 1:20 oder 1:50 verwandt und in je 10^{cem} dieser Verdünnungen eine gleichmässig bewachsene Agarcultur aufgeschwemmt. Es wurden dazu stets Röhrchen von gleicher Oberfläche verwandt.

3. Die Zeit der Absättigung wurde nach Möglichkeit beschränkt: Die aus dem 37° Thermostaten genommenen Absorptionsgemische wurden sofort centrifugirt und decantirt. Von der klaren Flüssigkeit wurden dann mit physiologischer Kochsalzlösung Verdünnungen gemacht und in der im Institut für Infectionskrankheiten gebräuchlichen Weise zur makroskopischen Agglutination verwandt: d. h. in 1^{cem} Serumverdünnung wurde eine Oese 18ständiger Choleraagarcultur verrieben und nach 1stündigem Aufenthalt des Agglutinationsgemisches bei 37° das Resultat makroskopisch festgestellt.

4. Zu den Absorptionsversuchen wurden lebende Culturen benutzt und zwar aus folgenden Gründen: Erstens ist die Möglichkeit vorhanden,

dass die Cholera-culturen beim Abtöden bei erhöhter Temperatur Spuren von agglutinabler Substanz an die Kochsalzlösung abgeben, dass also das Resultat durch das Vorhandensein sogenannter „freier Receptoren“ ungenau wird. Zweitens wird der Endeffect der Absorption, nämlich die Auswerthung der abgesättigten Flüssigkeit gegenüber lebenden Culturen, beobachtet. Es erschien uns daher für die Einheitlichkeit der Versuchstechnik erwünscht, auch die Absättigung mit lebenden Cholera-vibrionen vorzunehmen. Eine wesentliche Vermehrung der Vibrionen und dadurch hervorgerufene Fehlerquellen sind bei der kurzen Versuchsdauer nicht zu erwarten.

5. Zur Controle wurden die entsprechenden nicht mit Cholera-vibrionen versetzten Serumverdünnungen denselben Bedingungen wie die Absorptionsgemische ausgesetzt. Mit dieser Serumprobe wurden dann die zu dem Versuche verwandten Culturen ausagglutinirt. Hierzu sei bemerkt, dass sich zwischen den während derselben Zeit auf Eis gehaltenen, bei 37° oder bei Zimmertemperatur stehenden Proben des unabgesättigten Serums niemals Unterschiede in der Agglutinationswirkung zeigten.

Bei Absättigungsversuchen mit bakteriocidem Serum ergaben sich den mit agglutinirendem Serum angestellten entsprechende Resultate. Auch hier zeigen sich dieselben Beziehungen zwischen Bindungsergebnis einerseits, Serumconcentration, Culturmenge, Zeit u. s. w. andererseits, vgl. Tabelle IV. Bei der Wahl der definitiven Versuchsanordnung waren dieselben Gesichtspunkte maassgebend wie bei den Agglutinationsversuchen. Die Serumverdünnungen wurden mit stark alkalischer Bouillon hergestellt; die Auswerthung der Serumproben geschah in der Anordnung des Pfeiffer'schen Versuches. Selbstverständlich wurden dieselben Cautelen wie bei den Agglutinationsversuchen beobachtet.

III. Bindungsversuche.

Es war Eingangswort erwähnt worden, dass sich alle zu unseren Versuchen benutzten Culturen als echte Cholera-stämme bewährt hatten, im Besondern wurden sie von einem hochwerthigen agglutinirenden Cholera-serum sämtlich annähernd gleich hoch beeinflusst. Dasselbe Serum agglutinirt cholera-ähnliche Vibrionen entweder gar nicht oder nur in ganz starken Concentrationen (1:20 bis 1:30).

Unsere Versuche, über die im Folgenden berichtet werden soll, haben nun ergeben, dass bei den Ausfällungsversuchen doch ziemlich erhebliche Unterschiede in der agglutinablen Substanz der Cholera-stämme zu Tage treten. Um die Ausdrucksweise zu vereinfachen, sollen Culturen, welche sich bei den Ausfällungsversuchen ähnlich oder gleich verhalten, als „homologe“, die sich dagegen verschieden verhalten, als „heterologe“ be-

Tabelle VII. (Fortsetzung.)

2. Derselbe Versuch wie 1 mit Pferdeserum II, Titer 1:10000 bis 20000, in der Verdünnung 1:50 abesättigt.

Zur Absättigung verwandte Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklares								
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:15000
74	+++	++	++	—	—	—	—	—	—
S III	+++	++	+	—	—	—	—	—	—
BI	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
19	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+
S VI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	+
G IV	+++	+++	++	++	+	—	—	—	—
55	+++	+++	+++	+	—	—	—	—	—
63	+++	+++	+++	++	±	—	—	—	—
Controle mit nicht abesätt. Serum	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	±

3. Derselbe Versuch mit Pferdeserum III, Titer 1:3000 bis 1:4000, in der Verdünnung 1:20 abesättigt.

Zur Absättigung verwandte Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklares						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
74	—	—	—	—	—	—	—
G IV	+++	+++	++	±	—	—	—
BI	+++	+++	+++	—	—	—	—
S III	±	—	—	—	—	—	—
G VI	—	—	—	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	++	—	—	—	—
Pfeiffer	+++	+++	+++	+	—	—	—
Messina	+++	+++	+	—	—	—	—
30	+++	+++	±	—	—	—	—
63	+++	±	—	—	—	—	—
S VI	+++	+++	+++	+++	++	—	—
55	±	—	—	—	—	—	—
Controle mit nicht abesätt. Serum	+++	+++	+++	+++	+++	++	±

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass die einzelnen Culturen sehr verschiedene Mengen Agglutinin bei gleichbleibender Versuchsanordnung zu binden vermögen. Es lag nahe, an quantitative Unterschiede in dem Bindungsvermögen der verschiedenen Cholera-culturen zu denken, wie sie bereits von Pfeiffer und Friedberger¹, Wassermann² und Strong³ beschrieben worden sind.

¹ Berliner klin. Wochenschrift. 1902.

² Centralblatt für Bakteriologie. Ref. Bd. XXXIV.

³ Some Questions relating to virulence of mikroorganisms, with particular reference to their immunising power.

Handelte es sich lediglich um quantitative Unterschiede in der Ausbildung einer an sich gleichartigen bindenden Kraft bei den einzelnen Culturen, so war zu erwarten, dass man auch mit einer schwach bindenden Cultur bei immer erneuter Absättigung allmählich alles Agglutinin zu binden vermag. Als eine derartige schwach bindende Cultur erscheint nach der Tabelle B I.

Der in dieser Richtung angestellte Versuch gab nicht das erwartete Resultat. Bei wiederholter Einsaat tritt in dem Absorptionsgemisch (Serumverdünnung 1:20 Ser. II) überhaupt keine Agglutination mehr auf, sondern die Flüssigkeit bleibt gleichmässig trübe. Das Centrifugenklar agglutinirt jedoch Cultur 74 in annähernd unverminderter Weise weiter. Es gelingt also nicht, mit der Cholera-cultur B I aus einem Choleraserum alle auf die andere, ebenfalls echte Cholera-cultur 74 einpassenden Agglutinine zu binden.

Lassen sich diese Versuchsergebnisse mit Hülfe der Annahme eines differenten Receptorenapparates der Cholera-vibrionen erklären?

Aus den mitgetheilten Versuchen ist zunächst folgender Schluss zu ziehen:

1. Es gelingt auch mit einem scheinbar schwach bindenden Stamme alle Agglutinine aus dem Serum für den eigenen Stamm zu entfernen.

2. Zur Erklärung der auffallenden Thatsache, dass Cultur B I wohl im Stande ist, aus einem agglutinirenden Serum die Agglutinine für sich zu binden, nicht aber in nennenswerther Weise für Stamm 74, lassen sich, gestützt auf die Ehrlich'sche Theorie, zwei Hypothesen aufstellen:

a) Cultur 74 hat agglutinable Receptoren, welche B I fehlen. Cultur 74 findet dementsprechend in einem durch B I abgesättigten Serum noch Agglutinin vor, das zu keiner bindenden Gruppe von B I passt und daher der Bindung entzogen wurde. Andererseits aber absorbiert Cultur 74 alle Agglutinine für sich und für B I, wie aus Tabelle IX ersichtlich ist. Man könnte sich demnach vorstellen, dass die beiden Cholera-culturen B I und 74 einen Grundreceptor *G* im Sinne Wassermann's¹ gemeinsam haben, daneben aber äusserst differente Partialreceptoren besitzen. Graphisch liesse sich das folgendermassen darstellen:

B I: *a, b, c, d, e, f, G.*

74: *a, b, c, d, e, f, G h, i, k, l, m, n.*

¹ A. a. O.

Nach diesem Bilde erscheint es verständlich, dass Cultur 74 nicht nur für sich alle Agglutinine aus einem Choleraserum zu binden vermag, sondern auch für B I, dass aber andererseits B I nicht im Stande ist, auf 74 passende Agglutinine in nennenswerther Weise zu absorbiren.

b) Die andere Möglichkeit ist folgende: Cultur B I und 74 haben zwar dieselben Receptoren, aber ein Theil der Receptoren des Stammes B I hat nur eine äusserst geringe Affinität zu den Agglutininen des Serums. Diese mit geringer Avidität ausgestatteten Receptoren vermögen nur Spuren von Agglutininen zu binden. Das graphische Bild dürfte sich folgendermaassen gestalten:

B I: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n.

74: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n.

(Vgl. die beigelegte Taf. VI.)

Unter der Annahme, dass die Receptoren *h, i, k, l, m, n* der Cultur B I nur sehr schwache Avidität zu den Agglutininen des Serums haben, erklärt sich zwanglos das oben beschriebene auffallende Resultat der Bindungsversuche.

An einer anderen Stelle der Arbeit werden wir ausführlicher auf diese theoretischen Ueberlegungen eingehen. Es muss aber schon hier hervorgehoben werden, dass unserer ersten Annahme eines „Grundreceptors“ und verschiedener differenten „Partialreceptoren“ schwere Bedenken entgegen stehen. Ein Theil unserer Versuchsergebnisse lässt sich mit dieser Hypothese überhaupt nicht in Einklang bringen. Die zweite Erklärung jedoch, dass Cholera-culturen (zunächst 74 und B I) dieselben Receptoren haben, dass aber die Avidität der einzelnen Receptoren zu den Agglutininen different ist, erklärt zwanglos die auffallenden Differenzen der einzelnen Culturen, wie sie sich bei den Bindungsversuchen zeigten. Kein einziger unserer zahlreichen Versuche, über die im Folgenden berichtet wird, steht mit dieser Annahme verschiedener Aviditätsverhältnisse im Widerspruch. Wir stehen daher nicht an, diesen Deutungsversuch als für den nach dem heutigen Stande unseres Wissens begründetsten zu erklären und beziehen uns im Folgenden stets auf ihn.

Nach diesen theoretischen Erörterungen, auf die wir an anderer Stelle noch zurückkommen werden, kehren wir zur Beschreibung unserer Versuche zurück.

Es hatte nach unseren ersten Versuchen den Anschein gehabt, als sei Cultur B I eine schwach bindende Cultur. War das thatsächlich der Fall?

Das musste ein Parallelversuch erweisen. Zu 10^{cem} einer Serumverdünnung (Serum II Titer 1:5000) von 1:20 wurde eine Cultur B I

zugesetzt und ein entsprechender Versuch mit Cultur 74 angestellt. Die von den Bakterien befreite Flüssigkeit wurde dann gegen B I und 74 wechselseitig ausgewerthet. Dabei zeigte sich, dass B I für sich unter gleichen Versuchsbedingungen mindestens ebenso viel Agglutinin bindet wie Cultur 74 für sich. Man kann daher nicht ohne Weiteres sagen, dass B I ein geringeres Bindungsvermögen hätte. Wohl aber ergab sich ein Unterschied in der gegenseitigen Beeinflussung. Cultur 74 hatte auch die auf B I passenden Agglutinine gebunden, B I dagegen in Uebereinstimmung mit unseren früheren Versuchen nicht die für 74.

Tabelle VIII.

Pferdeserum II, Titer 1:4000 bis 5000, in der Verdünnung 1:20, je mit Cultur 74 und B I 10^{cem} Serumverdünnung auf 1 Cultur bei 37° 1 Stunde unter Schütteln abgesättigt und gegen 74 bezw. B I wechselseitig ausgewerthet.

Verdünnungen des mit B I abgesättigt. Serums	Cultur		Verdünnungen des mit 74 abgesättigt. Serums	Cultur		Controllen mit nicht abgesättigt. Serum	Cultur	
	B I	74		B I	74		B I	74
1:50	±	+++	1:50	±	+++	1:50	+++	+++
1:100	—	+++	1:100	—	+	1:100	+++	+++
1:200	—	+++	1:200	—	±	1:200	+++	+++
1:500	—	+++	1:500	—	—	1:500	+++	+++
1:1000	—	+++	1:1000	—	—	1:1000	+++	+++
1:2000	—	++	1:2000	—	—	1:2000	+++	+++
1:4000	—	—	1:4000	—	—	1:4000	++	+++
						1:5000	±	+

Man erhält dieselben Resultate, wenn man zur Absättigung statt eines verdünnten, unverdünntes Serum wählt. Nur muss man dann natürlich wesentlich grössere Bakterienmengen zur Bindung verwenden und das Serum mehrmals hinter einander absättigen. Bei einem in diesem Sinne angestellten Versuche erhielten wir erst nach siebenmaligem Absättigen des unverdünnten Serums mit grossen Bakterienmengen eine Uebereinstimmung mit den auf Tabelle VIII vermerkten Resultaten.

Die Versuche lehren in Uebereinstimmung mit den oben beschriebenen, dass die Receptoren der Cultur 74 sämmtlich eine starke Affinität zu den Agglutininen haben, dass aber bei Stamm B I nur ein Theil der Receptoren eine derartige Avidität besitzt, ein anderer Theil nicht, wie es in Zeichnung II skizzirt ist (vgl. die beigefügte Taf. VI).

In derselben Weise, wie mit diesen beiden Culturen, wurden nun Absättigungsversuche mit anderen Cholerculturen angestellt. Sie ergaben, wie aus den folgenden Tabellen ersichtlich ist, analoge Resultate. Ein Theil der Culturen verhielt sich dabei wie B I, ein anderer wie 74.

Tabelle IX.

1. Pferdeserum II, Titer 1:4000 bis 5000, in der Verdünnung 1:20, 1 Stunde bei 37° unter Schütteln mit verschiedenen Stämmen abgesättigt, gegen verschiedene Stämme ausgewerthet.

a) Auswerthung gegen 74.

Der zur Absättigung verwandte Stamm	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
74	+++	+	—	—	—	—	—
B I	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
S III	+++	+	—	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
G I	+++	+++	+++	++	++	+	±
G II	+	+	—	—	—	—	—
G III	+++	++	±	—	—	—	—
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
G V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
Controle	+++	+++	+++	+++	+++	++	+

b) Auswerthung gegen B I.

74	±	—	—	—	—	—	—
B I	±	—	—	—	—	—	—
S III	+	±	—	—	—	—	—
Hahn	+	—	—	—	—	—	—
G I	+	+	±	—	—	—	—
G II	+	±	—	—	—	—	—
G III	+++	+	±	—	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G V	++	±	—	—	—	—	—
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
Controle	+++	+++	+++	+++	++	+	—

c) Auswerthung gegen S III.

74	+++	+	—	—	—	—	—
B I	+++	+++	+++	++	++	+	—
S III	+++	+	—	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
G I	+++	+++	+++	++	++	+	±
G II	±	±	—	—	—	—	—
G III	+++	+++	+	—	—	—	—
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±
G V	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
Controle	+++	+++	+++	+++	+++	++	+

Tabelle IX. (Fortsetzung.)
Serum II abgesättigt mit G IV.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
G I	—	—	—	—	—	—	—
G II	+++	+++	+++	+++	++	+	—
G III	+++	+++	+++	+++	++	+	±
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G V	±	—	—	—	—	—	—
G VI	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±
B I	±	—	—	—	—	—	—
74	+++	+++	+++	+++	+++	++	±
S III	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+

Serum II abgesättigt mit G VI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
G I	+++	±	—	—	—	—	—
G II	+++	++	±	—	—	—	—
G III	+++	+	±	—	—	—	—
G IV	+++	+++	++	±	—	—	—
G V	+++	++	±	—	—	—	—
G VI	+++	+	—	—	—	—	—
B I	+++	+	—	—	—	—	—
74	+++	++	±	—	—	—	—
S III	+++	+++	—	—	—	—	—

Controle mit nicht abgesätt. Serum	Stämme										
	G I	G II	G III	G IV	G V	G VI	B I	74	S III	Hahn	Pfeiffer
1:1000	++	+++	+++	++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+++
1:2000	+	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	±	+++
1:5000	±	+	++	±	—	+++	±	±	+++	—	+++
1:10000	—	—	—	—	—	±	—	—	—	—	±

2. Pferdeserum III, in der Verdünnung 1:20, 1 Stde. bei 37° unter Schütteln mit verschied. Stämmen abgesättigt, gegen verschied. Stämme ausgewerthet.

a) Absättigung mit B I.

Ausge- werthet gegen	Verdünnungen d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	—	—	—	—	—	—	—
74	+++	+++	+++	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G VI	+++	+++	+++	—	—	—	—

b) Absättigung mit G IV.

Ausge- werthet gegen	Verdünnungen d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	—	—	—	—	—	—	—
74	+++	+++	++	±	—	—	—
S III	+++	+++	+++	—	—	—	—
G IV	—	—	—	—	—	—	—
G VI	+++	+++	++	—	—	—	—

Tabelle IX. (Fortsetzung.)

e) Absättigung mit S III.

Aus- gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
BI	+	-	-	-	-	-	-
74	-	-	-	-	-	-	-
S III	+	-	-	-	-	-	-
G IV	+	-	-	-	-	-	-
G VI	+	-	-	-	-	-	-

d) Absättigung mit G VI.

Aus- gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
BI	-	-	-	-	-	-	-
74	-	-	-	-	-	-	-
S III	-	-	-	-	-	-	-
G IV	-	-	-	-	-	-	-
G VI	-	-	-	-	-	-	-

Controllen mit nicht abgesättigtem Serum.

	St ä m m e				
	BI	74	S III	G IV	G VI
1:1000	+++	+++	+++	+++	+++
1:2000	++	+++	+++	++	+++
1:4000	±	++	+	±	++
1:5000	-	±	-	-	±

3. Pferdeserum II, Titer 1:10000 bis 20000, in der Verdünnung 1:50 bei 37° 1 Stunde unter Schütteln abgesättigt mit verschiedenen Stämmen (10^{cem} Serumverdünnung auf 1 Cultur), ausgewerthet gegen verschiedene Stämme.

a) Absättigung mit 74.

Aus- gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
BI	+++	++	-	-	-	-	-
74	+++	+++	-	-	-	-	-
S III	+++	+	-	-	-	-	-

b) Absättigung mit S III.

Aus- gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
BI	+++	++	-	-	-	-	-
74	+++	+++	-	-	-	-	-
S III	+++	+	-	-	-	-	-

e) Absättigung mit BI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
BI	+++	+++	+	-	-	-	-
S III	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
G IV	+++	+++	+	-	-	-	-
Hahn	+++	+	-	-	-	-	-
Pfeiffer	+++	+++	++	+	-	-	-

d) Absättigung mit Hahn.

BI	+++	++	+	-	-	-	-
S III	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Pfeiffer	+++	+++	++	+	-	-	-
Hahn	+++	++	-	-	-	-	-

Tabelle IX. (Fortsetzung.)
 Controlen mit nicht abgesättigtem Serum

	Stämme					
	BI	74	S III	G IV	Hahn	Pfeiffer
1:1000	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1:2000	+++	+++	+++	+++	++	+++
1:5000	+++	+++	+++	+++	±	+++
1:10 000	+	++	++	+	-	++
1:15 000	±	±	-	-	-	+
1:20 000	-	-	-	-	-	-

Tabelle X.

Pferdeserum II und Pferdeserum III in der Verdünnung 1:20 bei 37° 1 Stunde unter Schütteln mit den Stämmen BI und 74 abgesättigt (10^{ccm} Serumverdünnung auf eine Cultur) und in den Verdünnungen 1:500 bzw. 1:200 gegen alle Stämme der Sammlung ausgewerthet.

Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit		Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit	
	BI	74	BI	74		BI	74	BI	74
1	+++	-	+++	-	82	+++	+	+++	-
6	+++	-	+++	-	83	+++	+	+++	±
7	+++	++	+++	-	84	+++	-	+++	-
13	+++	++	+++	-	Pfeiffer	+	-	±	-
17	+++	-	+++	-	Messina	+++	+++	+++	+++
19	+++	+++	+++	+++	Asiatica	+++	-	+++	-
30	+++	+++	+++	+++	Hahn	-	-	-	-
32	+++	-	+++	-	BI	-	-	-	-
37	+++	-	+++	-	B II	+++	-	+++	-
41	+++	-	+++	-	B III	+++	-	+++	-
42	+++	-	+++	-	B IV	+++	-	+++	±
45	+++	++	+++	-	S I	+++	-	+++	-
48	+++	++	+++	-	S II	+++	-	+++	-
54	+++	++	+++	-	S III	+++	-	+++	-
55	+++	+++	+++	+++	S IV	+++	-	+++	-
58	+++	+	+++	±	S V	+++	-	+++	±
59	+++	-	+	-	S VI	+++	+++	+++	++
60	+++	-	+++	-	G I	-	-	-	-
63	+++	+++	+++	+++	G II	+++	-	+++	-
66	+++	-	++	+	G III	+++	-	+++	-
68	+++	-	+++	-	G IV	-	-	-	-
69	+++	++	++	-	G V	-	-	-	-
72	+++	-	+++	-	G VI	+++	-	+++	-
74	+++	-	+++	-					

Um nun zu sehen, ob in unserer Cholerasammlung sich ausser diesen beiden Gruppen (B I und 74) noch andere vorfinden, wurde das agglutinirende Serum mit B I einerseits und 74 andererseits abgesättigt und dann mit der decantirten Flüssigkeit die Agglutinationsprobe gegenüber allen Stämmen gemacht.

Da es ausserordentlich zeitraubend gewesen wäre, das abgesättigte Serum gegen alle Stämme genau auszuwerthen, wurde zu diesen Versuchen eine Verdünnung gewählt, bei der die Unterschiede zwischen den beiden Gruppen B I und 74 erfahrungsgemäss scharf hervortraten. Das war bei Anwendung des Serum II die Verdünnung 1:500. Wie aus Tabelle IX hervorgeht, agglutinirt das mit Cultur B I abgesättigte Serum die homologen Culturen z. B. G I, G IV, G V in dieser Verdünnung nicht mehr; und auch das mit 74 abgesättigte Serum ist in dieser Verdünnung gegenüber den 74 homologen Stämmen wie S III, G II, G III, G VI u. s. w. unwirksam. Die Resultate dieser Versuche sind in Tabelle X zusammengestellt. Gleichzeitig enthält die Tabelle Versuchsergebnisse, die mit denselben Stämmen bei der Auswerthung des Serums III erzielt wurden. Hier war die geeignete Verdünnung 1:200. (Vgl. Tabelle X.)

Vergleicht man die neben einander gestellten Versuchsergebnisse, so sieht man, dass sich die Culturen nach ihrem Verhalten gegenüber den abgesättigten Serumproben in mehrere grosse Gruppen theilen lassen. Verhältnissmässig viele Culturen verhalten sich wie 74, einige wenige wie B I, andere wieder lassen sich zu keinem dieser beiden Stämme in Beziehung bringen. So wird z. B. Stamm 19 und S VI agglutinirt, einerlei ob das Serum mit B I oder 74 abgesättigt war.

Eine Anzahl von Stämmen, nämlich die Stämme 7, 13, 45, 48, 54, 58, 59, 66, 69, S V, zeigten bei den Versuchen mit Serum III ein dem Stamme 74 homologes Verhalten, wurden aber durch das mit B I und 74 abgesättigte Serum II noch agglutinirt. Die weiterhin mit dem abgesättigten Serum II vorgenommene genaue Auswerthung ihrer Agglutinabilität zeigte jedoch, dass die nächst höhere Verdünnung des mit 74 abgesättigten Serums (1:1000) auch für sie kein Agglutinin mehr enthielt, dass sie also, wie ja schon der Versuch mit Serum III zeigt, dem Stamme 74 homolog sind, zum Mindesten aber sehr nahe stehen müssen.

Andere Stämme wiederum, die Stämme 19, 30, 55, 63, Messina und S VI zeigten beim Versuche mit beiden Seris II und III ein von B I und 74 abweichendes Verhalten.

Mit derartigen, anscheinend den bisher gefundenen beiden Gruppen B I und 74 heterologen Culturen wurden nun weitere Bindungsversuche unternommen und das ausgefällte Serum gegen eine Anzahl bezüglich ihres Bindungsvermögens schon bekannter Stämme wie B I und S III

und gegen alle in ihrem Receptorenapparat noch ungeklärten Culturen ausgewerthet. Zu diesen Versuchen wurden auch die beiden Stämme Hahn und Pfeiffer herangezogen. Erster bot in Folge seiner etwas schweren Agglutinabilität, letzter in Folge seiner Neigung, spontan zu agglutiniren, Anlass, seine Gruppenzugehörigkeit genauer zu studiren. Die Versuche zeigen deutlich ein dem Stamme B I homologes Verhalten dieser beiden Culturen. Die Resultate sind in Tabelle XI niedergelegt.

Tabelle XI.

1. Pferdeserum III abgesättigt wie gewöhnlich mit:

a) Hahn.

Ausgewerthet gegen:	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
B I	—	—	—	—	—	—
S III	+++	+++	++	—	—	—
Pfeiffer	±	—	—	—	—	—
19	+++	+++	+++	+	±	—
30	+++	+++	+++	+	—	—
55	+++	+++	+++	+	—	—
63	+++	+++	+++	+++	+	+
Messina	+++	+++	+++	+++	+	—
Hahn	±	—	—	—	—	—
S VI	+++	+++	+	±	—	—
b) Pfeiffer.						
B I	++	±	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+	—	—
Pfeiffer	+++	+	—	—	—	—
19	+++	+++	++	+	—	—
30	+++	+++	+++	++	—	—
55	+++	+++	+++	++	±	—
63	+++	+++	+++	+++	++	++
Messina	+++	+++	+++	+++	±	—
Hahn	++	+	—	—	—	—
S VI	+++	+++	±	—	—	—
c) Messina.						
B I	+++	+++	+	—	—	—
S III	+++	+++	+	—	—	—
Pfeiffer	+++	+++	++	—	—	—
19	±	—	—	—	—	—
30	+++	+++	+++	++	+	—
55	+++	+++	+++	+	—	—
63	+++	+++	+++	++	—	—
Messina	++	+	—	—	—	—
Hahn	+++	+++	++	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
d) 30.						
BI	+++	+++	+++	—	—	—
S III	+++	+++	±	—	—	—
Pfeiffer	+++	+++	+++	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
30	+++	+	—	—	—	—
55	+++	+++	+++	+	—	—
63	+++	+++	++	++	±	—
Messina	+++	+++	+	±	—	—
Hahn	+++	+	—	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—
e) 63.						
BI	+++	+	—	—	—	—
S III	+++	±	—	—	—	—
Pfeiffer	+++	++	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
30	+	—	—	—	—	—
55	+++	+++	—	—	—	—
63	+++	+++	—	—	—	—
Messina	+	—	—	—	—	—
Hahn	++	±	—	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—
f) 55.						
BI	+	—	—	—	—	—
S III	±	—	—	—	—	—
Pfeiffer	+++	++	—	—	—	—
19	—	—	—	—	—	—
30	±	—	—	—	—	—
55	+	±	—	—	—	—
63	±	—	—	—	—	—
Messina	—	—	—	—	—	—
Hahn	+	—	—	—	—	—
S VI	—	—	—	—	—	—
g) S VI.						
BI	+++	+++	+++	+++	+++	++
S III	+++	+++	+++	+++	++	—
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	++	±
19	—	—	—	—	—	—
30	+++	+++	+++	+++	++	+
55	+++	+++	+++	+++	++	+
63	+++	+++	+++	+++	++	++
Messina	+++	+++	+++	+++	++	+
Hahn	+++	+++	+++	+++	±	—
S VI	—	—	—	—	—	—

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

h) 19.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
B I	+++	+++	+++	+++	++	+
S III	+++	+++	+++	+++	++	±
Pfeiffer	+++	+++	+++	+++	++	+
19	—	—	—	—	—	—
30	+++	+++	+++	+++	++	+
55	+++	+++	+++	+++	++	+
63	+++	+++	+++	+++	+++	++
Messina	+++	+++	+++	+++	+++	+
Hahn	+++	+++	+++	++	±	—
S VI	—	—	—	—	—	—

2. Pferdeserum II, abgesättigt wie gewöhnlich mit:

a) 19.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
19	++	++	+	—	—	—	—
S VI	++	++	±	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
B I	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
74	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

b) S VI.

19	+	+	±	—	—	—	—
S VI	+	+	—	—	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+++	++	±
B I	+++	+++	+++	+++	+++	+	±
G IV	+++	+++	+++	+++	+++	++	++
74	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

c) B I.

19	+++	+++	+++	+++	++	+	+
S VI	+++	+++	+++	+++	++	+	+
S III	+++	+++	+++	++	+	—	—
B I	+++	+++	+++	++	—	—	—
G IV	+++	+++	++	+	±	—	—
74	+++	+++	+++	+++	++	±	—

d) G IV.

19	+++	+++	+++	+++	++	+	±
S VI	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
S III	+++	+++	+++	+++	+	—	—
B I	+++	+++	++	+	—	—	—
G IV	+++	++	+	±	—	—	—
74	+++	+++	+++	+++	++	—	—

Tabelle XI. (Fortsetzung.)

e) 55.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
19	+	+	±	—	—	—	—
S VI	+	+	±	—	—	—	—
55	+++	+++	+++	+++	—	—	—
63	+++	+++	+++	+	—	—	—
S III	+++	+++	+++	±	—	—	—
B I	+++	+++	+++	+++	—	—	—
74	+++	+++	+++	+	—	—	—
G IV	+++	+++	+++	++	—	—	—

f) 63.

19	±	—	—	—	—	—	—
S VI	±	—	—	—	—	—	—
55	+++	+++	+++	+++	±	—	—
63	+++	+++	+++	++	±	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+	—	—
B I	+++	+++	+++	++	+	—	—
74	+++	+++	+++	+++	+	—	—
G IV	+++	+++	+++	+++	—	—	—

Serum II.

Controllen.

	Stämme							
	B I	S III	G IV	19	S VI	74	55	63
1:1000	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1:2000	+++	+++	+++	+	++	+++	+++	+++
1:5000	+++	+++	+++	±	+	+++	+++	+++
1:10000	+	++	+	—	—	++	++	++
1:15000	±	—	—	—	—	±	±	+
1:20000	—	—	—	—	—	—	—	+

Serum III.

	Stämme									
	B I	S III	Pfeiffer	19	S VI	30	55	63	Messina	Hahn
1:1000	+++	+++	+++	++	+	+++	+++	+++	+++	+++
1:2000	++	+++	++	+	±	+++	+++	+++	+++	+
1:4000	±	+	+	—	—	+	+	+++	++	—
1:5000	—	—	—	—	—	±	±	++	—	—
1:10000	—	—	—	—	—	—	—	±	—	—

Ausserdem wurden mit Culturen, die sich bei den bisherigen Versuchen wie B I bzw. 74 verhalten hatten, noch Stichproben in ausgedehntem Maasse vorgenommen und nochmals alle Stämme mit Serumproben agglutiniert, die der Bindung mit G IV und G VI (B I bzw. 74 homolog) ausgesetzt waren. (Siehe Tabelle XII.)

Tabelle XII.

Pferdeserum II bzw. III in der Verdünnung 1:20 bei 37° 1 Stunde unter Schütteln mit den Stämmen GIV und GVI (10^{cem} Serumverdünnung auf 1 Cultur) abgesättigt und in den Verdünnungen 1:100 bzw. 1:200 gegen alle Stämme der Sammlung ausgewerthet.

Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit		Name der Cultur	Serum II abgesätt. mit		Serum III abgesätt. mit	
	G IV	G VI	G IV	G VI		G IV	G VI	G IV	G VI
1	+++	-	++	-	82	+++	+	+++	-
6	+++	-	+++	-	83	+++	+	+++	+
7	+++	++	+++	-	84	+++	±	+++	-
13	+++	++	+++	±	Pfeiffer	+	±	+	-
17	+++	-	+++	-	Messina	+++	+++	+++	+++
19	+++	+++	+++	+++	Asiatica	+++	-	+++	-
30	+++	+++	+++	+++	Hahn	+	-	-	-
32	+++	-	+++	-	BI	-	-	-	-
37	+++	-	+++	-	BII	+++	-	+++	-
41	+++	-	+++	-	BIII	+++	-	++	-
42	+++	-	++	-	BIV	+++	-	+++	±
45	+++	++	+++	-	SI	+++	-	+++	-
48	+++	++	+++	-	SII	+++	-	+++	-
54	+++	++	+++	-	SIII	+++	-	+++	-
55	+++	+++	+++	+++	SIV	+++	-	++	-
58	+++	++	+++	±	SV	+++	++	+++	±
59	+++	-	++	-	SVI	+++	+++	+++	+++
60	+++	-	+++	-	GI	-	-	-	-
63	+++	+++	+++	+++	GII	+++	-	+++	-
66	+++	+	++	+	GIII	+++	-	++	-
68	+++	-	+++	-	GIV	-	±	-	-
69	+++	++	++	-	GV	-	-	-	-
72	+++	-	+++	-	GVI	+++	-	+++	-
74	+++	-	++	-					

Die Tabelle ergibt eine fast völlige Uebereinstimmung mit den oben mit BI bzw. 74 erzielten Resultaten (vgl. Tabelle X).

Aus den mitgetheilten Versuchen lassen sich Schlüsse in zweifacher Richtung ziehen. Einmal werfen sie ein Licht auf die biologischen Eigenschaften der agglutinablen Substanz bei einer bestimmten Cholercultur, zweitens lassen sie deutlich eine Gruppierung der untersuchten Culturen je nach ihrem Verhalten bei Bindungsversuchen erkennen.

Zum ersten Punkte lässt sich sagen:

1. Es gibt Cholerculturen, deren agglutinable Substanz (um im Ehrlich'schen Bilde zu bleiben) aus Receptoren zusammengesetzt ist, die alle eine starke Avidität zu den Agglutininen des specifischen Serums aufweisen. Derartige Culturen finden in dem mit den verschiedensten

Stämmen abgesättigten Serumproben noch genug Agglutinin vor, um auszuflocken. Andererseits nehmen sie für alle anderen Choleraculturen, einerlei welcher Gruppe sie angehören, die Agglutinine beim Bindungsversuch mehr oder weniger fort. Solche mit gleichmässiger Avidität begabten Stämme stellen die Culturen 55 und 63 und in etwas weniger ausgesprochenem Maasse die Culturen Messina und 30 vor.

2. Bei anderen Cholerastämmen ist nur ein verhältnissmässig geringer Theil der Receptoren mit starker Affinität zu den Agglutininen des Serums ausgezeichnet, der Rest zeigt nur wenig Avidität. Diese Culturen nehmen nur für eine Minderzahl anderer Stämme beim Bindungsversuch die Agglutinine heraus. Sie selbst finden jedoch in dem mit anderen Culturen abgesättigten Serum meist nicht mehr genügende Mengen Agglutinin vor, um auszuklumpen. Ein Vertreter dieser Culturen ist B I.

3. Zwischen diesen beiden Extremen giebt es alle Uebergänge, wie die Culturen 74, S III u. s. w. beweisen.

Derartige Unterschiede in den Affinitätsverhältnissen des an sich gleichartigen Receptorenapparates der Choleravibrionen sind bisher nicht bekannt gewesen. Sie gestatten, die einzelnen Choleraculturen mit Hülfe von Bindungsversuchen in Gruppen einzutheilen. Die Choleranatur der Stämme wird dadurch natürlich, wie Eingangs dargethan ist, keineswegs in Frage gestellt.

Eine derartige Gruppierung unserer Culturen nach dem Ausfall der Absättigungsversuche ist in der folgenden Tabelle versucht:

Tabelle XIII.

Gruppierung der Cholerastämme unserer Sammlung.				
B I	74	74 sehr nahe stehend	55	19
G I	1	7	63	S VI
G IV	6	13		
G V	17	45		
Hahn	32	48		
Pfeiffer	37	54		
	41	58		
	42	59		
	60	66		
	68	69		
	72	S V		
	82			
	83			
	84			
	Asiatica			
	B II—IV			
	S II—IV			
	G II—III			
	G VI			

Ganz scharf lässt sich die Trennung in homologe und heterologe Stämme nicht immer durchführen. Es kommen da Uebergänge vor, wie es ja auch bei derartigen biologischen Differenzen nicht anders zu erwarten ist. Ein genauer Vergleich der in den Tabellen niedergelegten Versuchsergebnisse zeigt wohl im Allgemeinen, dass homologe Culturen sich bei allen Versuchen gleich verhalten. Doch kommen auch Unterschiede vor. Da könnte man Uebergangsguppen bilden oder Unterabtheilungen in den einzelnen Gruppen construiren. Vermuthlich würden sich übrigens bei einem noch grösseren Material als dem uns zur Verfügung stehenden auch noch weitere Gruppen entsprechend den Aviditätsverhältnissen aufstellen lassen. Eine derartige bis in's Extrem geführte Gruppierung der einzelnen Cholera-culturen auf Grund ihrer Wahlverwandtschaft an der Hand von Bindungsversuchen hat aber keinerlei praktisches Interesse. Für uns kam es nur darauf an, zu zeigen, dass in der Avidität der agglutinablen Substanz oder vielmehr von Theilen der agglutinablen Substanz thatsächlich deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Cholera-culturen bestehen.

Besonders hervorheben möchten wir in diesem Zusammenhange die grossen Differenzen, welche sich bei Bindungsversuchen mit den Culturen B I, G I, G IV, G V, Hahn und Pfeiffer einerseits und 19, S VI andererseits ergeben: Wie aus den oben mitgetheilten Tabellen hervorgeht, bleibt in einem mit B I abgesättigten Serum für 19 und S VI Agglutinin in genügender Menge frei, und umgekehrt wird die Cultur B I von einem Serum, das der Bindung mit S VI bzw. 19 ausgesetzt war, noch annähernd in demselben Grade agglutinirt wie von nicht abgesättigtem Serum. Und trotz dieser grossen Verschiedenheit, die sich bei Bindungsversuchen ergiebt, werden diese sich anscheinend so fernstehenden Stämme durch beliebige Cholerasera in gleicher Weise agglutinirt. Mit der Hypothese eines Grundreceptors und verschiedener sehr different gebauter Partialreceptoren verträgt sich diese Thatsache der gleichmässigen Beeinflussbarkeit der Culturen durch agglutinirende oder baktericide Sera nicht, wohl aber mit den durchaus verschiedenen Affinitätsverhältnissen in der agglutinablen Substanz. Die folgenden Schemata mögen erläutern, wie wir uns den Receptorenapparat der einzelnen Cholera-stämme vorstellen: Die Buchstaben bezeichnen die einzelnen Receptoren, die bei allen Cholera-stämmen dieselben und deshalb mit den gleichen Buchstaben bezeichnet sind. Die unterstrichenen Receptoren sind die mit grosser Avidität ausgerüsteten.

55: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

74: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

BI: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

S VI: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

Aus diesem Schema lassen sich die Resultate unserer Bindungsversuche einerseits und die scheinbar entgegengesetzten Agglutinationsversuche andererseits zwanglos erklären. Es ist anzunehmen (wir kommen darauf noch später zurück)¹, dass bei der Vorbehandlung eines Thieres mit Choleravibrionen für alle, auch die weniger aviden Receptoren der agglutinablen Substanz, passende Agglutinine gebildet werden; ein beliebiges Choleraserum enthält daher die auf die Receptoren *a* bis *s* einpassenden Agglutinine. Es ist nach dem obigen Schema ohne Weiteres verständlich, dass Cultur 55 die Agglutinine für alle anderen Stämme unserer Sammlung, 74 für einen ziemlich grossen Theil und BI bezw. S VI nur für verhältnissmässig wenige Stämme zu absorbiren vermögen. Es ist ferner einleuchtend, warum BI und S VI wechselseitig keine Agglutinine aus dem Serum für einander herausnehmen.

Ganz bis zur Titerhöhe agglutinirt allerdings Choleraserum nach der Absättigung auch heterologe Stämme nicht mehr. Vielmehr hat das abgesättigte Serum in geringem Grade auch gegenüber diesen an Titer eingebüsst, wie ein Vergleich der Tabellen lehrt, in denen stets die Controlproben mit dem nicht zur Bindung benutzten Serum verzeichnet sind. Diese Abnahme des Titers gegenüber heterologen Stämmen ist manchmal ausgesprochener, manchmal so gering, dass sie bei der gewählten Serumverdünnung überhaupt nicht in die Erscheinung tritt. Dass der Titer eines Serums auch gegenüber heterologen Stämmen, wenn auch in geringem Grade, nach der Absättigung gesunken ist, würde nach unserer Hypothese so zu erklären sein, dass bei sehr fernstehenden Stämmen, wie BI und S VI geringe Mengen Agglutinin für einander durch die mit schwacher Affinität ausgestatteten Receptoren gebunden werden. Dasselbe gilt für Culturen wie 74 und BI; nur kommt hier noch hinzu, dass auch bei Cultur BI die Receptoren *a* bis *g* dieselbe Affinität haben wie die entsprechenden des Stammes 74.

Alle mit Agglutininbindungsversuchen bei Choleravibrionen erzielten Resultate stehen demnach im Einklange mit unserer Theorie der verschiedenen Affinität und sind durch sie einer zwanglosen Erklärung zugänglich.

¹ Siehe S. 465.

B. Baktericide Versuche.

Die Ansicht, welche Gruber und Durham¹ bei der Entdeckung der Agglutinine über ihre Bedeutung für die künstliche Immunität aussprachen, ist in der Folge wohl von allen Bakteriologen verlassen. Bereits im Jahre 1896 konnten Pfeiffer und Kolle² eindeutig nachweisen, dass die Agglutinine mit der Bakterienimmunität direct nichts zu thun haben. Die Ansicht der meisten Autoren geht vielmehr zur Zeit dahin, dass bei der Immunität gegen Typhus, Cholera und verwandte Krankheiten die baktericiden Kräfte des Blutes und der Körperflüssigkeiten die Hauptrolle spielen. In neuester Zeit sucht Bail³ diese Anschauung durch zahlreiche Experimente zu widerlegen. Aber auch er muss zugeben, dass wenigstens bei der Immunität gegen Cholera die baktericiden Antistoffe augenscheinlich das ausschlaggebende Moment sind.

Wie Eingangs gesagt wurde, sind unsere Versuche als Vorarbeiten zu neuen Studien über die Cholerashutzimpfungsfrage gedacht. Es war daher von höchstem Interesse, zu untersuchen, ob auch die Bindungsversuche mit baktericiden Antikörpern, den Trägern der Immunität, dieselben Unterschiede zwischen den einzelnen Choleraculturen zu Tage treten lassen, wie die mit Agglutininen.

Natürlich war es wegen der Kostspieligkeit der Thierversuche unmöglich, die baktericiden Bindungsversuche auch nur annähernd in demselben Umfange auszuführen, wie wir das bei den Agglutinationsversuchen gethan hatten. Wir mussten uns hier darauf beschränken, Stichproben mit verschiedenen Stämmen und Serumproben zu machen. Es standen uns zur Verfügung:

1. Ein baktericides Kaninchenserum 80, hergestellt durch eine einmalige Injection einer abgetödteten Cultur 74 intraperitoneal, vom Titer 1 : 10000 gegen den eigenen Stamm.

2. Ein baktericides Kaninchenserum 89, hergestellt durch eine intravenöse Injection von $\frac{1}{10}$ Oese 74, abgetödtet und 11 Tage später Injection einer Cultur 74 abgetödtet intraperitoneal, vom Titer 1 : 8000 gegen den eigenen Stamm.

Die Resultate dieser Versuche stehen, wie das aus den beigefügten Beispielen (Tabelle XIV) ersichtlich ist, in vollkommener Uebereinstimmung zu den Ergebnissen der Agglutinationsversuche.

¹ A. a. O.

² A. a. O.

³ *Archiv für Hygiene.* Bd. LII.

Tabelle XIV.

1. Baktericides Kaninchenserum 80 in der Verdünnung 1:20 wie üblich mit verschiedenen Culturen abgesättigt, gegen verschiedene Stämme im Pfeiffer'schen Versuche geprüft.

a) Ausgewerthet gegen Stamm S III v.

Die zur Absättigung verwandten Stämme	Verdünnungen des Centrifugenklars				
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
S III v	0	+	+	+	
Asiatica v	0	0	+	+	
74 v	0	0	+	+	
BI v	0	0	0	0	
Hahn v	0	0	0	0	
Controle mit nicht abgesättigtem Serum					0

b) Abgesättigt mit G VI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen				Controle mit nicht abgesätt. Serum 1:5000
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
S III v	0	+	+	+	0
74 v	0	+	+	+	0
G VI	+	+	+	+	0
BI v	0	+	+	+	0

c) Abgesättigt mit G IV.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen				Controle 1:5000
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
S III v	0	0	0	0	0
74 v	0	0	0	0	0
G IV	0	+	+	+	0
BI v	0	+	+	+	0

2. Serum 89.

a) Abgesättigt mit BI.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen					Controle 1:2000
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
BI	0	+	+	+	+	0
74	0	0	0	0	+	0
S III	0	0	0	0	0	0

b) Abgesättigt mit Pfeiffer.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen			
	1:200	1:500	1:1000	1:2000
BI	0	+	+	+
74	0	0	0	+
S III	0	0	0	0

Auch bei den baktericiden Absättigungsversuchen verhalten sich die einzelnen Cholera-culturen so verschieden von einander, dass man sie danach in homologe und heterologe Stämme trennen und in Gruppen vertheilen kann. Diese Gruppen entsprechen vollkommen den bei den Agglutinationsversuchen aufgestellten. So nimmt z. B. Cultur BI aus dem baktericiden Serum die Antistoffe für sich heraus, nicht aber für Cultur 74 und S III. Ebenso wie BI verhält sich G IV und Hahn. Umgekehrt absorbiren die Culturen S III, 74, Asiatica und G VI nicht nur für die homologen Stämme die Bakteriolyse, sondern auch für die heterologen, wie z. B. BI.

Also auch bei den Bindungsversuchen mit baktericiden Amboceptoren treten Unterschiede zwischen den einzelnen Cholerasträmmen zu Tage. Auch hier erklären wir uns die Differenzen nicht aus dem Vorhandensein verschiedener, nicht identischer Partialreceptoren, sondern aus Unterschieden in der Affinität an sich gleichartiger Receptoren. Diese Aviditätsverhältnisse für baktericide Antikörper entsprechen bei allen untersuchten Cholera-culturen genau denen für Agglutinine. Die Individualität der einzelnen Cholera-culturen tritt daher nach beiden Richtungen hin gleichmässig zu Tage.

Es sei hier beiläufig bemerkt, dass auf das Vorhandensein derartiger grosser Unterschiede in der Affinität des Bakterienleibes zu den Antistoffen, wie sie uns die Bindungsversuche mit Cholera-vibrionen gezeigt haben, weder bei Cholera-vibrionen noch bei anderen Bakterienarten bisher Rücksicht genommen worden ist. So erklären sich z. B. wohl zum Theil die verschiedenen Resultate, die von den einzelnen Autoren beim Immunisiren mit Bakterien, die mit Agglutininen oder baktericiden Amboceptoren beladen waren, erzielt worden sind. So haben R. Pfeiffer¹, Rehns² und Nicolle und Trénel³ im Gegensatz zu anderen Autoren mit agglutinierten Typhusbacillen wirksam agglutinirende Sera herstellen können. Nicolle⁴ zieht aus diesen Versuchen weitgehende Schlüsse über die Natur des Agglutinationsvorganges.

Bei allen derartigen Versuchen ist die Annahme nicht von der Hand zu weisen, dass mit schwachen Affinitäten ausgestattete Receptoren, die im Reagensglase nur minimale Mengen Antikörper zu binden vermögen, doch befähigt sind, im Thierkörper zur Bildung von entsprechenden Antistoffen Veranlassung zu geben. Dabei ist noch unberücksichtigt geblieben, dass ein Theil der an die Bakterien gebundenen Antikörper im Thierkörper wieder frei wird, wie die schönen Versuche von Pfeiffer und Friedberger⁵ für die baktericiden Amboceptoren des Choleraserums beweisen.

Auch bei anderen Untersuchungen über die Bakterienreceptoren und die zugehörigen Antistoffe wie Agglutinine und Bakteriolyse ist die Mannigfaltigkeit in den Affinitätsverhältnissen der einzelnen Culturen vielfach vernachlässigt worden. So bei den Versuchen über den Einfluss der Hitze auf die Verbindung von Agglutinin und Bakterien, bei den Immunisierungsversuchen mit erhitzten Bakterien und anderen mehr. Die so

¹ *Deutsche med. Wochenschrift*. 1901.

² *Compt. rend. de la Soc. de Biol.* 1900.

³ *Ebenda*.

⁴ *Annales de l'Institut Pasteur*. T. XVIII.

⁵ *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXIV.

ausserordentlich differenten Angaben der Autoren, die derartige Untersuchungen ausgeführt haben, finden wohl zum Theil ihre Erklärung in den complicirten Verhältnissen des Receptorenapparates der Bakterien, wie sie unsere Versuche für die Cholera-vibrionen dargethan haben.

C. Bindungskraft und Virulenz.

Man findet vielfach in der Litteratur Angaben über den Parallelismus von Virulenz und Bindungskraft bei den verschiedensten Bakterienarten. So hatten Pfeiffer und Friedberger¹ auf Grund von Versuchen mit vier verschiedenen Cholera-stämmen geschlossen, dass der virulenteste Stamm auch die meisten bindenden Gruppen besitze, und diese Anschauung durch theoretische Betrachtungen zu erklären gesucht. Ihre Untersuchungen wurden von Strong² im Wassermann'schen Laboratorium an zwei Cholera-culturen nachgeprüft. Er kommt zum gleichen Resultate wie Pfeiffer und Friedberger. Seine Schlussätze seien hier wörtlich angeführt: „The virulent cholera spirillum possesses a greater number of bacteriolytic and agglutinable haptophore groups, or these groups are endowed with a greater binding power for uniceptors and amboceptors than the avirulent.

The number or the avidity of the bacteriolytic receptors possessed by a bacterium is directly proportional to its virulence.“

Strong stellt sich also unbedingt auf den Boden der Pfeiffer-Friedberger'schen Anschauungen und bringt in seiner Arbeit ein reiches theoretisches Material zur Begründung seines Standpunktes vor.

Wassermann³ dagegen spricht sich in einem über denselben Gegenstand gehaltenen Vortrag wesentlich anders aus. Er hatte bei seinen Untersuchungen eine Cholera-cultur A in Händen, die 15 Mal mehr Amboceptoren band als eine Cultur B, ein 15 Mal höheres Serum erzeugte und 15 Mal virulenter war. „Man könnte daher sagen“ — so führt Wassermann aus — „dass das 15 Mal höhere Serum nicht die Folge der höheren Bindungsfähigkeit, sondern vielmehr der höheren Virulenz sei. Dass es aber nicht so ist, konnte ich bei der quantitativen Vergleichung des immunisatorischen Effectes verschiedener Typhusculturen nachweisen. In praktischer Hinsicht käme also Bindung, nicht Virulenz in Frage.“ Wassermann kommt also zu seinem reservirten Standpunkt lediglich durch einen Analogieschluss, während seine bezw. Strong's mit Cholera vorgenommenen Experimente im Sinne der Pfeiffer-Friedberger'schen Versuche ausfielen.

¹ A. a. O.

² A. a. O.

³ *Centralblatt für Bakteriologie*. Referate. Bd. XXXV.
Zeitschr. f. Hygiene. LIJ.

Unsere eigenen Untersuchungen über die Beziehungen zwischen Virulenz und Bindungskraft der einzelnen Cholera-culturen sind zum Theil schon zerstreut in den oben gegebenen Tabellen enthalten. Aus diesen geht hervor, dass weder bei den Agglutinations- noch bei den baktericiden Versuchen Unterschiede in der Bindungskraft virulenter und avirulenter Culturen zu Tage treten.

Bei der Wichtigkeit der Frage für die Choleraschutzimpfung wurden aber noch besondere Vergleichsversuche in dieser Richtung angestellt. Natürlich wurden zu diesen Versuchen nur homologe Culturen verschiedener Virulenz verwandt und nicht heterologe, da bei diesen die Resultate, wie das unten noch näher ausgeführt wird, nicht eindeutig gewesen wären.

Wir machten zunächst Agglutinations-Bindungsversuche und zwar mit homologen Culturen ganz verschiedener Virulenz. Es befanden sich darunter Stämme, die noch in der geringen Menge von $\frac{1}{20}$ Oese Meerschweinchen von 200 ^{grm} bei intraperitonealer Infection zu tödten vermochten. Zum Vergleich wurden ganz avirulente Culturen, die nicht einmal in der Dosis einer Normalöse gleich schwere Meerschweinchen zu tödten vermochten, herangezogen. Die Versuche sind in Tabelle XV niedergelegt.

Tabelle XV.

Pferdeserum II (Titer 1:5000), abgesättigt wie gewöhnlich mit Cultur 41 (Virulenz $\frac{1}{3}$ Oese) bezw. Cultur 68 (Virulenz > 1 Oese) und ausgewerthet gegen 41, 68, BI, SIII.

a) Absättigung mit Stamm 41.

Aus-gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	+	-	-	-	-	-
68	+++	±	-	-	-	-	-
BI	±	-	-	-	-	-	-
SIII	+++	±	-	-	-	-	-

b) Absättigung mit Stamm 68.

Aus-gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	++	±	-	-	-	-
68	+++	++	±	-	-	-	-
BI	+	±	-	-	-	-	-
SIII	+++	+++	±	-	-	-	-

Pferdeserum II abgesättigt mit Cultur G VI (Virulenz $\frac{1}{20}$ Oese) bezw. Cultur 74 v. (Virulenz $\frac{1}{6}$ Oese.)

c) Absättigung mit Stamm G VI.

Aus-gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	+	-	-	-	-	-
68	+++	++	-	-	-	-	-
BI	+++	+	-	-	-	-	-
SIII	+++	+++	-	-	-	-	-

d) Absättigung mit Stamm 74 v.

Aus-gewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000
41	+++	++	-	-	-	-	-
68	+++	±	-	-	-	-	-
BI	+++	+	-	-	-	-	-
SIII	+++	++	-	-	-	-	-

Controllen:

	Verdünnungen des nicht abgesättigten Serums							
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:5000	1:6000
41	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
68	+++	+++	+++	+++	+++	+++	±	—
BI	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—

Ein Unterschied in der bindenden Kraft avirulenter und virulenter Choleraeulturen ist darnach nicht zu constatiren. Unter den virulenten Culturen fanden sich frisch aus dem Menschen gezüchtete, die erst wenige Meerschweinchenpassagen durchgemacht hatten (z. B. GVI), und eine ältere aus der ägyptischen Epidemie stammend, die schon seit 1902 regelmässig in ungefähr 10 tägigen Intervallen durch den Meerschweinchenkörper gegangen war (74v) und ihre Virulenz vollkommen erhalten hatte.

Einen weiteren Vergleichsversuch machten wir mit dieser Passagetur 74 und der entsprechenden Sammlungscultur, die seit 1902 ohne jede Thierpassage auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet war. Sie hatte eine Virulenz von 1/2 Oese.

Tabelle XVI.

Pferdeserum II, 1:10000 bis 20000, abgesättigt mit 74v und 74S.

a) Absättigung mit 74v.

b) Absättigung mit 74S.

Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.						Ausgewerthet gegen	Verdünnung. d. Centrifugenkl.					
	1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000		1:50	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000
BIS	+++	+	—	—	—	—	BIS	+++	++	—	—	—	—
BIv	+++	+	±	—	—	—	BIv	+++	+	—	—	—	—
74S	++	+	—	—	—	—	74S	+++	++	—	—	—	—
74v	+++	+	—	—	—	—	74v	+++	+	—	—	—	—
S III S	+++	++	—	—	—	—	S III S	+++	+	—	—	—	—
S III v	+++	+	—	—	—	—	S III v	+++	+	—	—	—	—

Controllen mit nicht abgesättigtem Serum.

	Verdünnungen des nicht abgesättigten Serums					
	1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:15000	1:20000
BIS	+++	+++	+++	++	±	—
BIv	+++	+++	+++	+	±	—
74S	+++	+++	+++	+	±	—
74v	+++	+++	+++	++	±	—
S III S	+++	+++	+++	+	—	—
S III v	+++	+++	+++	+	—	—

Die Tabelle XVI ergibt eine völlige Uebereinstimmung in der bindenden Kraft des Passage- und des Sammlungsstammes. Auch in ihrer Agglutinabilität gegenüber dem Serum zeigten sie keine Differenzen.

Dieselben Versuche wurden darnach mit baktericidem Serum gemacht. Das Resultat war das gleiche wie bei den Agglutinationsbindungsversuchen. Die Tabelle XVII giebt darüber Aufschluss.

Tabelle XVII.

Serum 89 abgesättigt mit Stamm 41, Virulenz $\frac{1}{2}$ Oese.

Aus- gewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
74	0	0	+	+	0
S III	0	0	+	+	0

Serum 89 abgesättigt mit Stamm 68 (1 Oese intraperitoneal tödtet nicht).

Aus- gewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
74	0	0	+	+	0
BI	0	0	+	+	0

Serum 89 abgesättigt mit Stamm S III v (Virulenz $\frac{1}{6}$ Oese).

Aus- gewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
BI	0	+	+	+	0
74	0	0	+	+	0
S III	0	+	+	+	0

Serum 89 abgesättigt mit Stamm 74 v (Virulenz $\frac{1}{6}$ Oese).

Aus- gewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars				Controle
	1:200	1:500	1:1000	1:2000	
BI	0	0	+	+	0
74	0	0	+	+	0
S III	0	0	+	+	0

Im Gegensatz zu Pfeiffer und Friedberger¹, sowie Strong² konnten wir somit feststellen, dass die bindende Kraft einer Cholera-cultur weder für die Agglutinine noch für die wichtigeren Immunkörper eines Choleraserums in irgend welchem Zusammenhange mit der Virulenz steht.

¹ A. a. O.

² A. a. O.

Die Erklärung für die abweichenden Resultate der anderen eben erwähnten Autoren ist unschwer zu finden. Pfeiffer und Friedberger sättigten ihr Serum mit vier Culturen verschiedenster Virulenz ab, wertheten das abgesättigte Serum aber nur gegen einen einzigen virulenten Stamm aus. Strong arbeitete sogar nur mit zwei Culturen, einer virulenten und einer avirulenten, und prüfte das abgesättigte Serum ebenfalls nur gegen die eine virulente Cultur im Pfeiffer'schen Versuch. Auf so schmaler Basis stehende Versuche können für die vorliegende Frage keine eindeutigen beweisenden Resultate geben. Man muss derartige Untersuchungen, was Kolle stets betont hat, an einem möglichst reichhaltigen Material anstellen, um zu beweisenden Schlüssen zu gelangen. Einige Beispiele mögen besser als Worte darthun, wie sehr man bei der Verwendung nur weniger Culturen und einseitiger Versuchsanordnung (Auswerthen gegen nur einen Stamm) Täuschungen ausgesetzt ist.

These 1. Cultur BI bindet Amboceptoren besser als die gleichvirulente Cultur 74, s. Tabelle XVIII.

Beweisender Versuch mit Amboceptoren: Serum 89 wird mit BI einerseits, 74 andererseits unter gleichen Versuchsbedingungen abgesättigt. Die von den Bakterien befreite Flüssigkeit wird im Pfeiffer'schen Versuch gegen BI ausgewerthet:

Das mit 74 abgesättigte Serum hat noch den Titer 1:500,
 „ „ BI „ „ „ „ „ „ 1:100.

These 2. Cultur BI bindet Antikörper schlechter als die gleichvirulente Cultur 74. Das wie oben abgesättigte Serum wird gegen 74 ausgewerthet:

Das mit 74 abgesättigte Serum hat den Titer 1:500,
 „ „ BI „ „ „ „ „ 1:2000.

These 3. Avirulente Choleraulturen binden besser als virulente. Versuch: Serum 89 der Bindung mit BI virulent einerseits, 68 avirulent andererseits ausgesetzt. Die Auswerthung geschieht gegen 74 (vgl. Tabelle XIV und XVII):

Das mit 68 avir. abgesättigte Serum hat den Titer 1:500,
 „ „ BI vir. „ „ „ „ „ 1:2000.

These 4. Virulente Choleraulturen binden besser als avirulente. Versuch: Serum 89 abgesättigt mit Passagecultur 74 virulent einerseits, Sammlungscultur Pfeiffer avirulent andererseits, ausgewerthet gegen 74 (vgl. Tabelle XIV u. XVIII):

Das mit 74 abgesättigte Serum hat den Titer 1:500,
 „ „ Pfeiffer „ „ „ „ „ 1:1000.

Die von Pfeiffer-Friedberger¹ und Strong² erzielten Resultate lassen vermuthen, dass sie unter analogen Bedingungen, wie sie in unserem Versuch 4 skizzirt sind, gearbeitet haben. Die zahlreichen Tabellen Strong's² über seine baktericiden Bindungsversuche mit ihren grossen Differenzen zwischen der Bindungskraft seiner beiden Cholera-culturen stehen im Uebrigen im besten Einklange mit unseren Versuchsergebnissen. Nur können wir seinen Schlussfolgerungen keine Berechtigung zuerkennen.

Wenn man Choleraserum nach der Absättigung mit verschiedenen Cholerastämmen nur gegen eine Cholera-cultur auswerthet, so kann man unter Umständen grosse quantitative Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Culturen erhalten. Pfeiffer-Friedberger¹ und Strong² haben auch, wie aus ihren Schlussfolgerungen hervorgeht, nur an derartige quantitative Differenzen gedacht. In Wirklichkeit werden aber die anscheinend quantitativen Differenzen nur durch qualitative Verschiedenheiten im Receptorenapparat der einzelnen Cholera-culturen vorgetäuscht, so zwar, dass Receptoren, die bei einer Cholera-cultur A starke Affinität zu den Antikörpern zeigen, bei einer Cultur B fast gar keine Avidität besitzen. Das lässt sich jederzeit demonstrieren, wenn man nur zur Auswerthung der abgesättigten Serumproben möglichst verschiedene Culturen heranzieht.

Die Feststellung der am besten bindenden Cultur ist weit mühevoller und umständlicher, als man sich das sonst wohl vorgestellt hat. Der einzig brauchbare Weg scheint uns in dieser Richtung der zu sein: Absättigen eines agglutinirenden Serums mit verschiedenen Culturen und Auswerthen gegen möglichst viele Stämme. Erweisen sich hierbei Culturen noch als hoch beeinflussbar durch das abgesättigte Serum, einerlei mit welchem Stamme die Bindung erfolgte, so müssen mit diesen Culturen Bindungsversuche angestellt und das Serum wiederum gegen alle anderen Culturen ausgewerthet werden. So wird man schliesslich Stämme finden, die wie unsere Cholera-culturen 55 und 63 für alle oder nahezu alle Culturen der Sammlung die Agglutinine zu binden vermögen. Hat man so Klarheit über die Gruppierung der Culturen nach ihrer Bindungskraft gegenüber den Agglutininen, so macht man Bindungsversuche mit baktericidem Serum und den gut bindenden Culturen. Fallen diese analog den Agglutinationsversuchen aus (nach unseren Erfahrungen ist das stets zu erwarten), so ist die Beweiskette geschlossen. Nur einer derartigen Cultur kann man das Prädikat „gut bindend“ zuerkennen. Die Methode, das

¹ A. a. O.

² A. a. O.

abgesättigte Serum nur gegen einen Stamm auszuwerthen, ist zur Feststellung der bindenden Kraft einer Cultur ungeeignet.

In der Vernachlässigung der angeführten Grundsätze sind wohl auch die Verschiedenheiten in der Bewerthung der Bindungskraft und Virulenz bei den Typhusbacillen begründet, wie sie in den Arbeiten von Wassermann¹, Pfeiffer und Petterson² zu Tage treten. Auch hier ist in der Regel die abgesättigte Serumprobe nur gegen einen Typhusstamm ausgewerthet. Die von uns aufgestellten Grundsätze für die Bewerthung der Bindungskraft einer Cholera-cultur lassen sich zwanglos auf die Verhältnisse beim Typhusbacillus und anderen Bakterienarten übertragen.

IV. Beziehungen zwischen dem Stamm, mit dem ein Serum hergestellt ist, und dem Ausfall der Bindungsversuche.

Aus den Bemerkungen über die zu unseren Bindungsversuchen verwandten Sera ist ersichtlich, dass sie zum Theil mit Cholera-culturen hergestellt waren, die bei Bindungsversuchen sich verschieden verhalten hatten. So stand uns ein agglutinirendes Pferdeserum II zur Verfügung, das mit dem Stamm B I, ein anderes Serum III, das mit S III erzeugt war.

Cultur B I gehört nicht zur Gruppe S III und es liegt daher die Vermuthung nahe, dass Bindungsversuche mit den beiden Sera verschiedene Resultate geben. Man konnte erwarten, dass aus dem B I-Serum durch Cultur B I die Agglutinine für alle anderen Cholera-stämme gebunden würden, dass dagegen dem B I nicht nahestehende Culturen nur die Agglutinine für ihre Gruppe zu binden vermöchten. Dasselbe konnte für das mit S III hergestellte Serum gelten. Wie aus den oben mitgetheilten Tabellen hervorgeht, traf diese Erwartung nicht zu; vielmehr verhalten sich die beiden Sera bei Bindungsversuchen annähernd gleich.

Jedenfalls vertheilen sich sämtliche Culturen in dieselben Gruppen, einerlei, mit welchem Serum die Ausfällungsversuche angestellt werden. Geringe Unterschiede bestehen allerdings in den quantitativen Verhältnissen bei den einzelnen Culturen, je nach der Wahl des Serums. So bleiben z. B. in dem mit B I hergestellten Serum nach Ausfällung mit B I mehr Agglutinine für S III u. s. w. frei, wie in dem mit S III hergestellten. Die Tabellen IX bis XII geben ein Bild dieser Verhältnisse.

¹ Koch's *Festschrift*.

² *Centralblatt für Bakteriologie*. 1905. Nr. 1.

Es mag hier eingeschaltet werden, dass das Alter des Serums, sofern das Serum unzersetzt ist, keinen Einfluss auf den Ausfall der Bindungsversuche hat. In dieser Richtung wurden verschiedene Parallelversuche angestellt. Aus frisch entnommenem Blut durch Centrifugiren gewonnenes Serum verhält sich ganz genau wie solches, das sich spontan beim 24stündigen Verweilen im Eisschrank abgeschieden hat. Auch im Vacuum getrocknetes Serum giebt analoge Resultate.

Die Zusammensetzung des Receptorenapparates der Cholera vibrionen aus Einzelreceptoren verschiedenster Avidität konnte noch in einer anderen Weise in den verschiedenen Serumproben zu Tage treten. Es war wohl denkbar, dass z. B. Cultur 74 ein Serum erzeugte, in dem messbar mehr Antikörper (entsprechend der grösseren Zahl mit starker Affinität ausgestatteter Receptoren) für den eigenen und homologe Stämme als für die heterologen z. B. Baku I enthalten war. Eine derartige quantitativ verschiedene Zusammensetzung des Serums musste dann auch in Bindungsversuchen zum Ausdruck kommen. Enthielt das Serum mehr Antikörper für avide Gruppen des Stammes 74 als für solche von B I, so musste das Serum nach der Absättigung mit B I gegen B I einen niederen Titer zeigen, als nach der Absättigung mit 74 gegen 74. Denn je geringer im Verhältniss zur zugesetzten Bakterienmenge die Quantität der Immunkörper ist, desto stärker sinkt der Titer des Serums durch die Absättigung. Es lägen dann dieselben Verhältnisse vor, wie wenn man zu abgestuften Serumverdünnungen gleiche Bakterienmengen setzt, wie Eingangs im Beispiel erläutert ist. Unsere Vermuthung bestätigte sich zunächst wenigstens für ein Serum. Aus dem Serum 89, das mit Cultur 74 hergestellt ist, nimmt thatsächlich der heterologe Stamm B I unter sonst ganz gleichen Versuchsbedingungen mehr Amboceptoren für sich heraus, als es Cultur 74 für sich selbst thut (vgl. Tabelle XVIII). Bei anderen Seris ist es bisher nicht gelungen, nachweisbare Differenzen zu erzielen. Im Allgemeinen haben daher Cholerasera, einerlei mit welchem Stamme sie hergestellt sind, eine verhältnissmässig gleichmässige innere Zusammensetzung. Das ist eine weitere Stütze für unsere Annahme, dass die einzelnen Receptoren der verschiedenen Cholera-culturen identisch und in annähernd derselben Menge in den einzelnen Stämmen vorhanden sind. Im Sinne der Ehrlich'schen Theorie wäre aber zu erwarten, dass für die aviden Gruppen des Receptorenapparates mehr Antikörper im Thierkörper gebildet würden als für die mit schwachen Affinitäten ausgestatteten. Die Versuche mit unserem Serum 89, die nun folgen, beweisen thatsächlich, dass es Cholerasera giebt, in denen der individuell biologische Bau der zur Immunisirung benutzten Cultur auch im Serum in dieser Weise zum Ausdruck kommt.

Tabelle XVIII.

Bakterioides Kaninchenserum 89 mit B I v bzw. 74 v wie üblich abgesättigt und im Pfeiffer'schen Versuch gegen B I v bzw. 74 v ausgewerthet.

a) Absättigung mit B I und Auswerthung gegen B I und 74.

Ausgewerthet gegen	Verdünnungen des Centrifugenklars					
	1:100	1:200	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	lebt	†	†	†	†	†
74	lebt	lebt	lebt	lebt	lebt	†

Controle mit nicht abgesättigtem Serum 1:2000 B I: lebt.

b) Absättigung mit 74 v und Auswerthung gegen 74 v und B I.

74	lebt	lebt	lebt	†	†
B I	lebt	lebt	lebt	†	†

Controle mit nicht abgesättigtem Serum 1:4000 74: lebt

Nach den Bindungsversuchen mit diesem Serum (89) ist der Schluss nicht von der Hand zu weisen, dass es messbar mehr Antikörper für die Receptoren der Cultur 74 als der Cultur B I enthält.

War dieser Schluss richtig, so mussten bei sorgfältigem Austitriren des unabgesättigten Serums 89 gegen 74 und B I Unterschiede im baktericiden Titer zu Gunsten von Cultur 74 und der ihr homologen Stämme zu Tage treten (vgl. Tabelle XIX).

Tabelle XIX.

Werthbestimmung des Serums 89 gegenüber den Stämmen 74, B I, S III.

	Verdünnungen des baktericiden Serums						
	1:1000	1:2000	1:3000	1:4000	1:6000	1:8000	1:10000
74	0	0	0	0	0	0	+
B I	0	0	+	+	+	+	+
S III	0	0	0	0	0	+	+

Die Tabelle zeigt, dass dies der Fall ist. Die zu diesem Versuche benutzten Culturen hatten damals alle die gleiche Virulenz $\frac{1}{8}$ Oese. Wir betonen das ausdrücklich, da vielfach in der Litteratur die Anschauung vertreten ist, dass mit steigender Virulenz einer Cultur auch ihre Resistenz gegen Bakteriolyse zunimmt. Dadurch eventuell bedingte Fehlerquellen sind also bei diesem Versuche vermieden. Er lehrt eindeutig, dass der baktericide Titer des Serums 89 4 Mal höher für 74 als für B I ist. Ein Agglutinationsversuch mit demselben Serum gab ein ganz entsprechendes Resultat (vgl. Tabelle XX).

Tabelle XX.
Agglutination mit Serum 89.

	Verdünnungen des Serums					
	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:1500	1:2000
74	+++	+++	+++	+++	±	—
BI	++	+	±	—	—	—
S III	+++	+++	+++	+++	+	—

Um alle Zufälligkeiten auszuschliessen, agglutinierten wir weiterhin mit Serum 89 eine Anzahl möglichst heterologer Choleraculturen mit dem Ergebniss, dass die quantitative Auswerthung dieselben Gruppen unter den Culturen erkennen liess, die wir bei den Bindungsversuchen gefunden hatten (vgl. Tabelle XXI).

Tabelle XXI.
Agglutination mit Serum 89.

	Verdünnungen des Serums					
	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:1500	1:2000
74	+++	+++	+++	++	+	—
S III	+++	+++	+++	++	+	—
G VI	+++	+++	+++	+++	+	±
BI	++	+	±	—	—	—
G IV	+++	++	+	—	—	—
Hahn	++	+	±	—	—	—
59	+++	+++	+++	+++	+	±
GI	+++	+++	+++	—	—	—

Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass ein Theil der Choleraculturen mit dem Serum 89 verhältnissmässig schwer, ein anderer dagegen verhältnissmässig leicht zu agglutinieren ist. Da nun die „schwer agglutinablen“ Stämme ausnahmslos solche sind, deren Receptorenapparat nach den Bindungsversuchen von dem des Stammes 74, (der zur Immunisirung benutzt wurde,) in seinen Affinitätsverhältnissen verschieden ist, die „leicht agglutinablen“ andererseits dem Stamm 74 homologe Culturen sind, so ist damit bewiesen, dass die schwerere oder leichtere Beeinflussbarkeit von Choleraculturen durch ein agglutinirendes und baktericides Serum auf Differenzen in ihrem Receptorenapparat beruht. Bei anderen Bakterienarten, wie Typhus-, Dysenterie-, Colibacillen und anderen mehr sind ähnliche Beobachtungen schon mehrfach gemacht worden. Als Grund derartiger Unterschiede in der verschiedenen Beeinflussbarkeit der einzelnen Vertreter dieser Bakterienarten, sind vielfach Differenzen im biologischen Bau in der Art angenommen

worden, dass die einzelnen Stämme derselben Art ausser einem gemeinschaftlichen Grundreceptor differente Partialreceptoren besässen. Nach unseren Erfahrungen beim Studium der Cholera-vibrionen ist eine derartige Annahme auch für die anderen Bakterienarten nicht unbedingt nothwendig; vielmehr lassen sich alle beobachteten Differenzen durch verschiedene Affinitätsverhältnisse bei an sich einheitlichem Receptorenapparat zwanglos erklären. Es soll damit natürlich nicht gesagt sein, dass bei anderen Bakterienarten die individuellen Differenzen nicht durch Ausbildung verschiedener Partialreceptoren bedingt sein könnten. Aber bewiesen scheint es uns noch nicht zu sein; denn alle Unterschiede zwischen Stämmen einer Art in der Beeinflussbarkeit durch specifische Sera lassen sich auch bei einheitlich gedachtem Receptorenapparat durch Affinitätsdifferenzen erklären. Bei Cholera-vibrionen im Besonderen ist dies die einzige Erklärung, die allen Thatsachen in gleicher Weise gerecht wird. Hier wird in vielen Fällen, wie in den oben mitgetheilten, die etwas schwerere oder leichtere Agglutinabilität lediglich auf Affinitätsunterschiede im Receptorenapparat der einzelnen Culturen zurückzuführen sein, zumal die baktericiden Versuche entsprechende Resultate gaben.

Bereits im Jahre 1896 machten Gruber und Durham¹ und fast gleichzeitig mit ihnen Pfeiffer und Kolle² die Beobachtung, dass ein bestimmtes Choleraserum nicht alle Cholera-stämme ganz gleich beeinflusst. Die Autoren suchten sich damals ihre Versuchsergebnisse durch Unterschiede in der Virulenz zu erklären. Später jedoch hat Durham³, gestützt auf Beobachtungen bei anderen Bakterienarten, die Ansicht ausgesprochen, dass der differente Bau des Receptorenapparates der Bakterien dieser Erscheinung zu Grunde liege. Auch Kolle, Gotschlich, Hetsch, Lentz und Otto⁴ fanden geringe Unterschiede in der Agglutination der einzelnen Cholera-culturen mit den verschiedenen Serumproben, wie das ein Studium ihrer umfassenden Versuchsreihen darthut. Sie geben ebenfalls der Ansicht Raum, dass die geringen Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der einzelnen Cholera-stämme auf feine Differenzen in ihrem biologischen Bau zurückzuführen seien.

Auf einem anderen Wege ist neuerdings Pfeiffer⁵ zur gleichen Annahme gelangt. Er unterwarf fünf Cholera-stämme verschiedenster Virulenz der quantitativen Agglutinationsprobe mit Hunde-, Huhn-, Karpfen- und Kaninchen-serum und zwar mit normalem und specifischem.

¹ A. a. O.

² *Deutsche med. Wochenschrift*. März 1896.

³ *Journal of experim. Med.* 1901.

⁴ A. a. O.

⁵ Koch's *Festschrift*.

Dabei stellten sich Unterschiede in der Agglutinabilität der einzelnen Culturen heraus, die Pfeiffer eine gewisse Differenzirung ihres Receptorenapparates annehmen lassen. Alle die genannten Autoren dachten sich die Unterschiede im Receptorenapparat der Cholera-vibriolen in der Weise, dass die einzelne Cholera-cultur neben vielen mit anderen Cholera-stämmen gemeinschaftlichen Receptoren auch differente besässen. Dass diese Annahme unnöthig ist und sich vielmehr die geringen beobachteten Differenzen zwanglos durch Affinitätsunterschiede eines an sich bei allen Culturen gleichartigen Receptorenapparates erklären lassen, dafür sprechen unsere Versuche in deutlicher Weise. Im Folgenden soll diese Hypothese durch Mittheilung weiterer Versuche und theoretische Betrachtungen gestärkt werden.

V. Specificität des Cholera-vibrio.

Es ist schon Eingangs betont worden, dass die Unterschiede im Receptorenapparat der einzelnen Cholera-culturen, wie sie bei Bindungsversuchen und in ganz geringem Grade zuweilen auch bei Agglutinations- und baktericiden Versuchen in Erscheinung treten, die Cholera-natur der untersuchten Stämme nicht in Frage stellen. Vielmehr verlaufen die specifischen Immunitätsreactionen bei den Cholera-vibriolen im Allgemeinen ausserordentlich gleichmässig. Bei Agglutinations- und baktericiden Versuchen mit hochwerthigen Immunseris treten Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen keineswegs regelmässig zu Tage, und wenn sie vorhanden sind, erreichen sie stets nur ganz geringe Werthe. Die Beeinflussbarkeit cholera-ähnlicher Vibriolen durch Cholera-sera steht dazu in scharfem Gegensatz. Hier sind die Unterschiede in der Beeinflussbarkeit ausserordentlich grosse. Cholera-ähnliche Vibriolen werden, wenn überhaupt, nur in ganz geringen Grenzen, die dicht an der für normale Sera feststehenden Grenzzone liegen, von Cholera-serum mit beeinflusst. Umgekehrt ist mit derartigen Vibriolen hergestelltes Immunserum unwirksam gegenüber echten Koch'schen Vibriolen. In Bindungsversuchen absorbiren weder cholera-ähnliche Vibriolen Agglutinine und Immunkörper für echte Cholera-vibriolen, noch umgekehrt.

Die Kenntniss dieser Thatsachen verdanken wir den umfassenden Untersuchungen von Kollé, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz¹, die später durch Bindungsversuche von Hetsch und Lentz² noch eine Erweiterung erfuhren. Bestätigungen dieser Untersuchungen brachten weiterhin die Arbeiten von Prausnitz³ und von Crendiropoulo und

¹ *Diese Zeitschrift.*

² Koch's *Festschrift.*

³ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1905.

Amos.¹ Auch unsere Untersuchungen haben neue Belege für die Specificität der Cholera-vibrionen erbracht, denn alle zu unseren Versuchen verwendeten Cholera-culturen wurden von hochwerthigem Cholera-serum annähernd in gleichem Maasse beeinflusst. Auch haben wir keine Cholera-cultur gefunden, die nicht aus jedem der untersuchten Sera für verschiedene echte Cholera-culturen, und aus jedem Serum für sich selbst die Agglutinine und Bakteriolyse zu binden vermag. Die geringen Unterschiede in der Beeinflussbarkeit sind auf Affinitätsunterschiede zurückzuführen. Ein Parallelismus zwischen leichter Agglutinabilität und mangelhafter Virulenz konnte im Gegensatz zu Pfeiffer und Friedberger², Strong³ und Anderen nicht constatirt werden, wie aus folgendem Beispiel hervorgeht: Das Serum II agglutinirt B I virulent bis zu einer Verdünnung von 1:15 000, die avirulenten Stämme S VI und 19 nur bis 1:5000. Auch in diesem Beispiel ist die geringere Agglutinabilität der Stämme 19 und S VI durch Aviditätsunterschiede gegenüber dem Serum erzeugenden Stamm B I bedingt, wie ein Blick auf Taf. VI zeigt.

VI. Immunisirungsversuche.

Pfeiffer-Friedberger⁴ und Strong⁵ hatten gefunden, dass Virulenz, bindende und immunisirende bezw. Serum erzeugende Kraft bei Cholera-culturen Hand in Hand gingen. Unsere Versuche hatten dagegen gezeigt, dass kein Parallelismus zwischen Virulenz und bindender Kraft besteht und dass die anscheinend quantitativen Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Cholera-stämme auf qualitative Verschiedenheiten ihres Receptorenapparates zurückgeführt werden können. Zur weiteren Klärung der Frage stellten wir in Analogie mit Pfeiffer-Friedberger und Strong Thierversuche an und zwar immunisirten wir gleichschwere Kaninchen mit einer einmaligen kleinen Dosis bei 60° abgetödteter Cholera-cultur und prüften nach 10 Tagen den baktericiden und agglutinirenden Titer der Sera. Es waren dabei folgende Gesichtspunkte maassgebend:

1. Steht die bindende Kraft einer Cholera-cultur mit ihrem Vermögen ein baktericides Serum zu erzeugen im Zusammenhang? War das der Fall, so musste im Sinne der Ehrlich'schen Theorie eine Cultur, deren Receptoren sämmtlich eine grosse Affinität zeigten, ein Serum von höherem Titer erzeugen als eine andere, bei der nur ein Theil der Receptoren mit starker Avidität ausgestattet war.

¹ *Journal of Pathol. and Bacteriol.* 1904.

² *Berliner klin. Wochenschrift.* 1902.

³ A. a. O.

⁴ *Berliner klin. Wochenschrift.* 1902.

⁵ A. a. O.

2. Steht die Virulenz einer Choleraeultur mit ihrer Fähigkeit, ein baktericides Serum zu erzeugen in Zusammenhang?

3. Treten in einem Serum, das durch einmalige Injection einer kleinen Choleraemenge hergestellt ist, Titerunterschiede bei Auswerthung gegen heterologe Choleraeulturen zu Tage?

Friedberger¹ hatte angegeben und andere Autoren haben sich dem zum Theil angeschlossen, dass in der Regel eine einmalige intravenöse Injection von $\frac{1}{100}$ Oese bei 60° abgetödteter Choleraeultur genügt, um ein baktericides Serum vom Titer 1:1000 und noch höher zu erlangen.

Wir immunisirten zunächst zwei gleichschwere Kaninchen in dieser Weise mit dem Stamme 74 mit dem Resultat, dass das Serum des einen nur einen baktericiden Titer von 1:400 erhielt. Das Serum des anderen Thieres schützte noch gerade in der Verdünnung 1:1000 gegen 1 Oese virulenter Cholera 74. Es gelingt also thatsächlich in einigen Fällen mit ganz kleinen Choleraeulturen ein baktericides Choleraserum vom Titer 1:1000 beim Kaninchen zu erhalten. Aber der Versuch versagt in einer verhältnissmässig grossen Anzahl der Fälle, wie die folgenden Versuche lehren.

Es wurden mehrere Kaninchen mit verschiedenen Choleraeulturen immunisirt und zwar erhielt jedes Thier $\frac{1}{10}$ Oese 1 Stunde bei 60° abgetödteter Choleraeultur intravenös. Wir wählten diese höhere Dosis in der Erwartung, nun bessere Titer zu bekommen. Einen Theil unserer Versuchsprotokolle bringt Tabelle XXII.

Tabelle XXII.
Immunisirungsversuche.

1.	Kaninchen immunisirt durch Injection von $\frac{1}{10}$ Oese	S III abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1 : 500.
2.	„ „ „ „ „ „ $\frac{1}{10}$ „	74 abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1 : 2000.
3.	„ „ „ „ „ „ $\frac{1}{10}$ „	B I abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1 : 200.
4.	„ „ „ „ „ „ $\frac{1}{10}$ „	Pfeiffer abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1 : 1000.
5.	„ „ „ „ „ „ $\frac{1}{100}$ „	74 abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1 : 400.
6.	„ „ „ „ „ „ $\frac{1}{100}$ „	74 abgetödtet intravenös: Baktericider Titer 1 : 1000.

Die Tabelle zeigt, dass auch mit $\frac{1}{10}$ Oese nur in etwa der Hälfte der Fälle ein brauchbares Serum erzeugt wird. Derartige Unterschiede im Serumtiter wie die hier beobachteten, haben wir bei Kaninchen, die

¹ Leyden's *Festschrift*.

Friedberger und Moreschi heben neuerdings in einer während der Drucklegung dieser Arbeit erschienenen Veröffentlichung die Bedeutung der kleinen Immunisationsdosen für die Differenzirung der Immunisationsfähigkeit verschiedener Cholera- und Typhusculturen hervor. (*Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXIX.)

eine einmalige grosse Choleradosis ($\frac{1}{2}$ bis 1 Cultur 1 Stunde bei 60° abgetödtet intraperitoneal) erhielten, nie gesehen. Es kommt bei der Immunisirung mit kleinen Dosen anscheinend ausserordentlich viel auf die Individualität des Serum spendenden Thieres an.

Wenn unsere Versuche auch nicht sehr zahlreich sind, so kann jedenfalls das mit Sicherheit daraus geschlossen werden, dass die Virulenz einer Choleracultur mit der Serum erzeugenden Kraft nichts zu thun hat. Denn ein mit dem avirulenten alten Laboratoriumsstamm „Pfeiffer“ hergestelltes Serum hatte einen höheren Titer als die mit dem homologen hochvirulenten Passagestamm B I erzeugten. Wir kommen also bei Choleravibrionen zu denselben Resultaten wie Wassermann¹ bei Typhusbacillen. Eine Arbeit von Petterson² aus dem Pfeiffer'schen Institut über die Bindungsverhältnisse und Immunität auslösende Kraft von fünf Typhusstämmen ergiebt übrigens in den mitgetheilten Versuchsergebnissen ähnliche Verhältnisse wie bei unseren Choleraseris. Der Titer der von Petterson mit kleinen Dosen hergestellten Sera ist sehr niedrig. Mit zwei avirulenten Stämmen konnte er bei dieser Vorbehandlung überhaupt keinen nennenswerthen Titer erhalten, mit einem der virulenten Stämme aber auch nicht. Also auch seine Versuche bestätigen die Unsicherheit der Methode, ob er gleich diesen Schluss selbst nicht zieht.

Da nach unseren Versuchen ein Parallelismus zwischen Virulenz, Bindungsvermögen und Serum erzeugender Kraft bei Choleravibrionen nicht besteht, erledigen sich die zahlreichen theoretischen Erklärungsversuche anderer Autoren über diesen Gegenstand von selbst.

Unsere Versuche gestatten weiterhin folgende Schlüsse:

1. Choleraculturen, die nur einen mit einseitigen Affinitäten ausgestatteten Receptorenapparat besitzen, liefern kein schwächeres Serum, als solche, die mehr avide Gruppen in ihrem Receptorenapparat aufweisen. So haben zwar zwei Sera, die mit B I hergestellt waren, nur den Titer 1:200, dagegen wirkte ein mit S III hergestelltes noch in der Verdünnung 1:500, und eins mit dem Stamme 74 noch bei 1:2000. Andererseits aber haben wir mit der Cultur Pfeiffer, die B I homolog ist, ein Serum vom Titer 1:1000 erzeugt. Also auch hier sind die Resultate ausserordentlich schwankend und gestatten keine ganz eindeutigen Schlussfolgerungen.

2. Ein Serum, das mit einer Cultur von einseitiger Affinität hergestellt ist, wirkt ebenso auf verschiedene (s. Tabelle) heterologe Choleraculturen, wie ein mit einem viele starke Affinitäten besitzenden Stamme erzeugtes, wie aus der Tabelle hervorgeht.

¹ Koch's *Festschrift*.

² *Centralblatt für Bakteriologie*. 1905.

Tabelle XXIII.

Kaninchenserum 71, hergestellt durch intravenöse Injection von $\frac{1}{10}$ Oese Cultur Pfeiffer abgetödtet, ausgewerthet gegen die heterologen Stämme 74 und S III.

	1:200	1:500	1:1000	1:2000
74	lebt	lebt	lebt	†
S III	„	„	„	†

3. Ein Titerunterschied beim Auswerthen gegen homologe und heterologe Culturen wurde bei den mit kleinen Dosen hergestellten Seris nur in einem Falle beobachtet. Der Titer war aber für die homologen Stämme nur um's Doppelte höher, als für die heterologen.

Tabelle XXIV.

Kaninchenserum 41, hergestellt durch einmalige intravenöse Injection von $\frac{1}{10}$ Oese Cultur 74 v abgetödtet, ausgewerthet gegen B I v, 74 v, S III v.

	1:500	1:1000	1:2000	1:4000
B I	lebt	lebt	†	†
74	„	„	lebt	†
S III	„	„	„	†

Soweit die mit kleinen Dosen erzielten baktericiden Sera auch agglutinirend wirkten, wurden sie zu entsprechenden Agglutinationsversuchen mit demselben Resultat verwandt.

Die Versuche mit der Immunisirung mit kleinen Dosen ergeben, dass die Höhe des Serumtiters je nach der Individualität des Thieres unter sonst gleichen Versuchsbedingungen starken Schwankungen ausgesetzt ist. Sera, die ausgesprochene Gruppenwirkung unter den Cholera-culturen zeigten, konnten mit dieser Methode nicht erzielt werden.

C. Theoretischer Theil.

Mit den im letzten Abschnitt mitgetheilten Immunisirungsversuchen sind wir am Ende unserer experimentellen Untersuchungen angelangt. Die Resultate sind kurz folgende:

1. Cholera-vibrionen werden von agglutinirendem und baktericidem Choleraserum sämmtlich nahezu gleichmässig hoch beeinflusst. Die Unterschiede im Grade der Beeinflussbarkeit sind stets äusserst geringe, wie das Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz¹ zuerst nachgewiesen haben.

¹ A. a. O.

2. Choleraserum wirkt auf choleraähnliche Vibrionen entweder gar nicht oder nur in ganz starken Concentrationen (1:20 bis 1:50) ein und umgekehrt. Auch diese Thatsache ist eine volle Bestätigung der Angaben der genannten Autoren.

3. Bei Bindungsversuchen absorbiren sämtliche Cholera-culturen aus verschiedenen Cholerasera für sich selbst unter gleichen Versuchsbedingungen annähernd gleiche Mengen Antikörper. Dies Versuchsergebniss steht ebenfalls im besten Einklang mit der Einheitlichkeit des Receptorenapparates der Cholera-vibrionen, wie sie von den citirten Autoren proclamirt ist.

4. Bindungsversuche, die mit choleraähnlichen Vibrionen und Choleraserum angestellt wurden, ergaben in Bestätigung der Versuche von Hetsch und Lentz¹, dass choleraähnliche Vibrionen nicht im Stande sind, einem Choleraserum die für Cholera-vibrionen specifischen Agglutinine bezw. Amboceptoren zu entziehen.

5. Wird ein beliebiges, agglutinirendes Choleraserum mit einer bestimmten Cholera-cultur abgesättigt, so ist es nach erfolgter Absorption für den zur Absättigung benutzten Stamm und für eine Reihe anderer Cholera-culturen nahezu wirkungslos geworden, agglutinirt aber andere, ebenfalls einwandfrei echte Cholera-culturen fast bis zur ursprünglichen Titergrenze weiter.

6. Bindungsversuche mit baktericidem Choleraserum geben ganz analoge Resultate. Auch hier bleiben nach der Absättigung mit einer bestimmten Cholera-cultur die baktericiden Amboceptoren für eine Anzahl anderer echter Cholera-culturen im Serum zurück, während sie für den zur Absättigung benutzten Stamm und ihm homologe fast vollständig herausgenommen sind.

7. Vermag eine Cholera-cultur A aus einem agglutinirenden Choleraserum die Agglutinine für eine Cholera-cultur B nicht zu binden, so absorbirt sie auch aus einem baktericidem Serum nicht die Amboceptoren für Stamm B. Die Individualität einer bestimmten Cholera-cultur tritt also nach beiden Richtungen (Agglutination und Baktericidie) gleichmässig zu Tage.

8. Es giebt Cholera-culturen, die aus einem beliebigen Choleraserum die Antikörper für alle anderen Stämme unserer Sammlung zu binden vermögen. Andererseits bleiben für sie selbst nach der Absättigung mit anderen Stämmen die Agglutinine und Amboceptoren im Serum erhalten.

¹ A. a. O.

9. Andere Cholera-culturen nehmen nur für sich selbst und eine Minderzahl anderer Stämme die specifischen Antistoffe aus einem Serum heraus. Sie selbst aber werden von Serumproben, die der Absättigung mit anderen Culturen ausgesetzt waren, meist nicht mehr beeinflusst.

10. Einige Stämme geben bei Bindungsversuchen das zunächst paradox erscheinende Resultat, dass sie die Antikörper für eine andere Cholera-cultur nicht zu binden vermögen, z. B. BI nicht diejenigen für S VI, und dass umgekehrt S VI nicht im Stande ist, den Titer des Serums für BI in nennenswerther Weise herabzusetzen.

11. In anscheinend scharfem Gegensatz zu dieser Beobachtung steht die Thatsache, dass ein künstlich mit dem Cholera-stamm BI hergestelltes Serum auch Cultur S VI fast bis zur Titergrenze beeinflusst.

12. Auch andere Culturen, die bei Bindungsversuchen grosse Differenzen zeigen, liefern Sera, die gegen derartige differente Stämme ebenso oder nahezu ebenso wirksam sind als gegen die eigenen.

13. Stets sind die Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der verschiedenen Cholera-stämme durch hochwerthige Sera, wie schon unter 1. vermerkt ist, wenn sie überhaupt vorhanden sind, gering.

14. Mit der von Friedberger¹ empfohlenen Methode, Kaninchen mit ganz kleinen Dosen Cholera-cultur zu immunisiren, gelingt es nicht, Sera zu erzeugen, welche die bei den Bindungsversuchen erhobenen Unterschiede zwischen den einzelnen Cholera-culturen im Titer gegen die verschiedenen Stämme zum Ausdruck bringen.

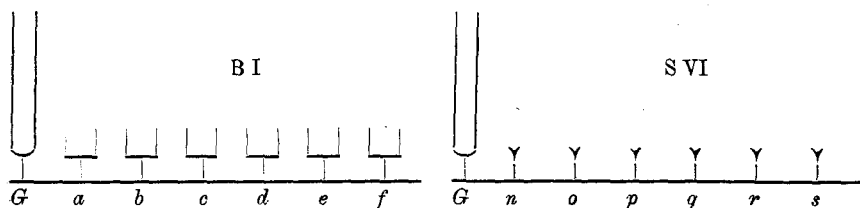
Es besteht also ein scharfer Gegensatz zwischen dem Ausfall der Bindungsversuche einerseits und dem Resultat der künstlichen Immunisirung und der Auswerthung der einzelnen Cholera-stämme mit den verschiedensten Serumproben andererseits. Hier: grosse Einheitlichkeit in der Beeinflussbarkeit der Cholera-stämme und in der Zusammensetzung der mit ihnen erzeugten Serumproben — dort: grosse Differenzen in der bindenden Kraft.

Bei dem Versuch, diesen Contrast zu erklären, stellen wir uns auf den Boden der Ehrlich'schen Theorie mit ihrer Annahme von Receptoren und auf sie specifisch einpassenden Antikörpern. Der Uebersichtlichkeit halber berücksichtigen wir im Folgenden hauptsächlich die Verhältnisse bei den Agglutininen. Die Versuche mit baktericiden Antikörpern haben, wie oben ausführlich dargethan, vollkommen congruente Resultate ergeben. Alles für die Agglutinine Gesagte gilt daher ohne Weiteres auch für die Bakteriolyse. Als Hauptbeispiel wählen wir die gegenseitigen Beziehungen der Cholera-culturen BI und S VI. Denn diese Culturen

¹ A. a. O.

stehen sich nach dem Ausfall der Bindungsversuche am schroffsten gegenüber. Gelingt es für die anscheinend so paradoxen Verhältnisse bei diesen Stämmen eine ausreichende Erklärung zu finden, so ist damit zugleich das Problem bei den anderen Culturen, die sich nach dem Resultat der Bindungsversuche nicht so fernstehen, der Lösung zugeführt.

Wie bereits an anderer Stelle erwähnt wurde, suchten wir die Unterschiede, welche sich zwischen den einzelnen Cholera-culturen unserer Sammlung bei Absättigungsversuchen ergaben, auf Differenzen in ihrem Receptorenapparat zurückzuführen. Diese Differenzen dachten wir uns in Uebereinstimmung mit den Vorstellungen, die sich andere Autoren, wie z. B. Wassermann¹ für die einschlägigen Verhältnisse bei anderen Bakterienarten gebildet hatten, zunächst in der Weise, dass alle Cholera-culturen zwar einen gemeinsamen „Grundreceptor“ besäßen, daneben aber eine Anzahl differenter „Partialreceptoren“ ausgebildet hätten. Der Receptorenapparat der Culturen BI und S VI würde sich dann etwa so darstellen lassen:



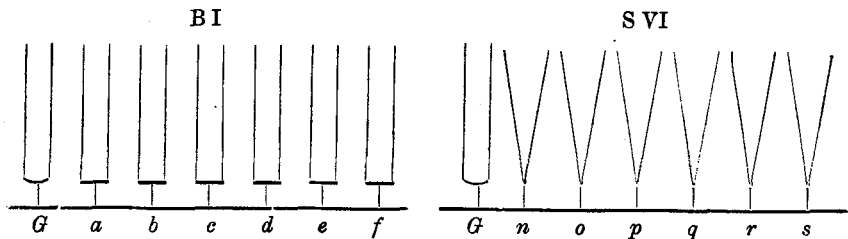
G wäre dann der gemeinschaftliche Grundreceptor, a bis f die Partialreceptoren von BI und n bis s die von S VI.

Mit dieser Annahme steht die Beobachtung im Einklang, dass aus einem beliebigen Choleraserum, das auf die Receptoren a bis s einpassende Agglutinine enthält, Cultur BI wohl im Stande ist, alle Agglutinine für sich selbst zu binden, aber nur sehr wenig für S VI und umgekehrt. Auffallend aber ist bereits bei dieser Auffassung vom Bau des Receptorensapparates der Choleravibrionen, daß der Grundreceptor bei den Bindungsversuchen eine so ausserordentlich geringe Rolle spielt. In dem Wort „Grundreceptor“ liegt ja doch die Vorstellung ausgedrückt, dass er den wesentlichsten Theil des Receptorenapparates ausmacht und die Partialreceptoren nur eine untergeordnete Rolle spielen, etwa so wie es obenstehende Zeichnung veranschaulicht.

Bei derartigen Verhältnissen, wie sie das Schema wiedergibt, wäre aber zu erwarten, dass bei Bindungsversuchen wohl Unterschiede zwischen

¹ A. a. O.

den Culturen BI und SVI zu Tage träten, dass sie aber bei Weitem nicht so bedeutend wären, wie wir sie bei unseren Absättigungsversuchen beobachtet haben. Denn die Vorstellung eines Grundreceptors und verschiedener Partialreceptoren ist untrennbar von der Annahme, dass der Grundreceptor der dominanteste unter den Receptoren ist. Ein Bindungsversuch, der diese Theorie von Grundreceptor und Partialreceptor stützen könnte, müsste vielmehr ungefähr so ausfallen: Aus einem Choleraserum vom Titer 1:10000 würde BI für sich selbst alle Agglutinine bis zur Verdünnung 1:500 herab absorbiren, der Titer des mit BI abgesättigten Serums für SVI aber würde mindestens etwa bis zur Verdünnung 1:1000 sinken. In Wirklichkeit aber bleiben so viel Agglutinine für den heterologen Stamm SVI in dem mit BI abgesättigten Serum zurück, dass noch die Verdünnung 1:5000 die deutliche makroskopisch sichtbare Agglutination auslöst. Das diesen Bindungsversuchen entsprechende Bild des Receptorenapparates kann bei der Annahme verschiedenartiger Partialreceptoren nur folgendes sein:

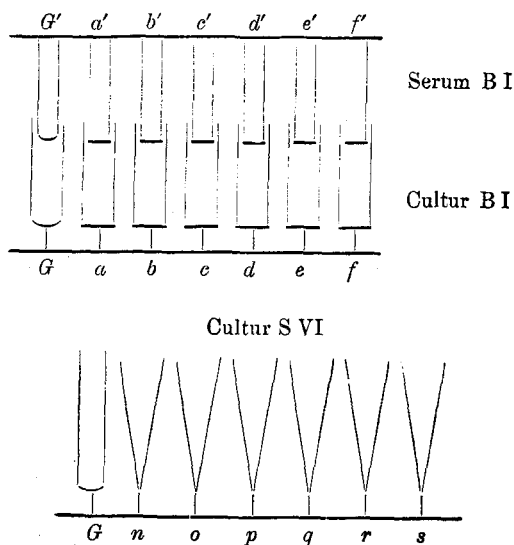


Nur so wäre es verständlich, dass BI aus einem Serum, das für alle gezeichneten Receptoren (*a* bis *s*) passende Agglutinine enthält, für sich selbst fast alle bindet, für SVI aber nahezu nichts herausnimmt und umgekehrt.

Wie aber ist mit diesem Bilde, das dem Resultat unserer Bindungsversuche entsprechen würde, die so ausserordentlich gleichmässige Beeinflussbarkeit der verschiedensten Cholera-culturen durch beliebige Cholerasera zu erklären? Die umfassenden Versuchsreihen von Kolle, Gottschlich, Hetsch, Otto und Lentz¹ haben unzweideutig dargethan, dass Cholera-vibrionen von jedem Serum, ganz einerlei mit welchem Cholera-stamm das Thier vorbehandelt war, annähernd gleichmässig beeinflusst werden. Die beobachteten Unterschiede in der Titerhöhe eines Choleraserums gegenüber verschiedenen Stämmen sind stets gering. Wir haben unter unseren zahlreichen Auswerthungen der verschiedensten Cholera-culturen mit agglutinirenden und baktericiden Cholerasera verschiedenster

¹ A. a. O.

Provenienz keinen einzigen Versuch zu verzeichnen, der mit den Beobachtungen der genannten Autoren im Widerspruch stände. Vielmehr wurden auch bei unseren Untersuchungen, denen ausser den Culturen obiger Autoren auch 18 frische Cholera-culturen verschiedenster Provenienz (Baku, Saratow, El Tor) unterworfen wurden, alle Cholera-stämme, ganz gleichgültig wie sie sich bei Bindungsversuchen verhielten, von jedem der benutzten Sera in annähernd gleicher Weise beeinflusst.



War das Bild richtig, das wir uns — einen Grundreceptor und differente Partialreceptoren vorausgesetzt — nach dem Ausfall unserer Bindungsversuche von dem Bau des Receptorenapparates der Cholera-vibrien machen mussten, so blieb es unverständlich, wie ein z. B. mit BI erzeugtes Serum Cultur S VI nahezu bis zur Titergrenze zu agglutinieren vermochte. Man hätte da viel grössere Unterschiede in der Titerhöhe erwarten müssen. Ein mit dem Stamm BI hergestelltes Serum hätte etwa obenstehende Zusammensetzung aufweisen müssen. Das Serum hätte aber, da es nur eine auf S VI passende Agglutinierungsgruppe G' besass, für Cultur BI dagegen viele, Cultur S VI nur etwa bis zur Verdünnung 1:200 agglutinieren dürfen, niemals aber bis annähernd zur Titergrenze (1:5000), wie es der Versuch lehrte.

Immerhin war noch die Möglichkeit vorhanden, dass diese paradoxe Erscheinung an der Art der Vorbehandlung des Serum spendenden Thieres lag. Nach den im Institut bei der Herstellung des zur bakteriologischen Cholera-diagnose dienenden Serums (vgl. Anleitung für die bakteriologische

Choleradiagnose, Minist.-Erl. vom November 1902) gewonnenen Erfahrungen ist es am zweckmässigsten, um gute Cholerasera zu erzielen, die Versuchsthiere längere Zeit mit grossen Dosen abgetödteter Agarcultur vorzubehandeln. In dieser Weise haben wir, wie oben angegeben, unser B I-Pferdeserum gewonnen. Friedberger¹ hat nun mehrfach betont und auch Strong² hat sich dem angeschlossen, dass man bei der Vorbehandlung mit ganz kleinen Dosen am ehesten Differenzen im Serum erwarten kann, die genau dem individuellen Bau des zur Immunisirung benutzten Stammes entsprechen.

Unsere in dieser Richtung angestellten Versuche sind, wie oben mitgetheilt, gescheitert. Sera, die in der Friedberger'schen Weise gewonnen waren, beeinflussten auch die mit ganz differenten Partialreceptoren ausgestatteten Culturen (immer unter der Voraussetzung, dass die Annahme derartiger Partialreceptoren zu Recht besteht) im Pfeiffer'schen Versuch bis zur Titergrenze.

Eine weitere Schwierigkeit erhob sich, wenn man choleraähnliche Vibrionen zum Vergleich heranzog. Hier gaben Bindungsversuche dasselbe Resultat wie solche mit den Stämmen B I und S VI. Das heisst: ebensowenig wie B I es vermag, aus Choleraserum Agglutinine für S VI in nennenswerther Weise zu binden, vermögen dies die verschiedensten choleraähnlichen Vibrionen. Da sie aber zum Theil in geringem Grade von Choleraserum mitagglutinirt werden, ist im Sinne der Ehrlich'schen Auffassung anzunehmen, dass sie wenigstens einen Receptor mit echten Cholerculturen gemeinsam haben, wie es das Schema zeigt:

Cholercultur: *a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.*

Choleraähnlicher Vibrio: *s, t, u, v, w, x, y, z.*

Daneben haben sie eine grosse Zahl anderer von denen der Cholera ganz differenter Receptoren ausgebildet. Mit dieser Annahme stehen, unsere Immunisirungsversuche mit echten Cholera-vibrionen einerseits, choleraähnlichen andererseits im besten Einklang. Wir verweisen hier wiederum auf die mehrfach citirten, im Institut ausgeführten Untersuchungen, die später von Meinicke³ bestätigt und erweitert werden konnten. Niemals agglutinirt ein mit einem choleraähnlichen Vibrio hergestelltes Serum echte Koch'sche Vibrionen in nennenswerther Weise. Umgekehrt werden choleraähnliche Vibrionen von Cholerasera, wenn überhaupt, stets nur in ganz geringem Grade mitagglutinirt. Baktericide Versuche geben analoge Resultate. Wir sehen also hier, dass das Bild, das wir uns vom Receptorenapparat der Cholera-vibrionen einerseits, der choleraähnlichen

¹ A. a. O. ² A. a. O.

³ Diese Zeitschrift. Bd. L.

andererseits gemacht haben, mit keiner beobachteten Thatsache im Widerspruch steht, vielmehr alle zwanglos erklärt. Für die Beziehungen der Cholera-vibrionen zu den choleraähnlichen besteht die Hypothese eines gemeinschaftlichen und verschiedener differenten Receptoren zu Recht.

Die Annahme dagegen, dass die Unterschiede, die bei wechselseitigen Bindungsversuchen mit verschiedenen echten Cholera-culturen zu Tage treten, ebenfalls auf differenten Partialreceptoren beruhte, liess sich nicht mit allen beobachteten Thatsachen in Einklang bringen, stiess vielmehr überall auf Widersprüche. Wir liessen daher diese Hypothese vollkommen fallen und stellten eine andere Theorie auf.

Den Weg dazu zeigten uns Beobachtungen, die der eine von uns (Meinicke) bei Untersuchungen über Typhusbacillen, die in Kürze von Kutscher, Lentz und Meinicke mitgetheilt werden, machte. Die betreffenden Versuche seien hier in den Grundzügen skizzirt.

Ein mit dem Typhusstamm 151 hergestelltes agglutinirendes Pferdeserum vom Titer 1:10000 agglutinirt den Typhusstamm 126 ebenfalls bis zur Titergrenze. Bei Bindungsversuchen nimmt Cultur 151 unter geeigneten Bedingungen für sich selbst soviel Agglutinine aus dem Serum heraus, dass das abcentrifugirte Serum nur noch in der Verdünnung 1:50 wirksam ist. Unter denselben Versuchsbedingungen lässt Cultur 126 für sich selbst noch Agglutinine in der Menge in dem decantirten Serum zurück, dass bei der nachträglichen Auswerthung gegen 126 noch in der Verdünnung 1:5000 positive Agglutination eintritt.

Im Sinne der Ehrlich'schen Theorie ist anzunehmen, dass in dem mit Cultur 151 hergestellten Serum sicher nicht mehr, höchstens ebensoviel, wenn nicht gar weniger Agglutinine für Cultur 126 enthalten sind als für 151 selbst. Die auffallende Thatsache, dass Cultur 126 aber unter sonst gleichen Bedingungen weit mehr Agglutinine für sich selbst in dem der Absättigung unterworfenen Serum zurücklässt, als 151 dies für sich thut, lässt daher nur den Schluss zu, dass ihre bindende Kraft für die Agglutinine dieses Serums geringer ist, als die des Stammes 151. Das könnte einfach an quantitativen Verhältnissen liegen. Cultur 126 könnte weniger Receptoren haben als 151, es wären daher entsprechend grössere Bakterienmengen nöthig, um ebensoviel Agglutinine zu binden, wie bei den Versuchen mit 151. Thatsächlich gelingt es, wenn man die Bakterienmenge beim Bindungsversuche im Verhältniss zur Serumconcentration etwa fünf Mal so gross nimmt wie beim entsprechenden Versuch mit 151, die Agglutinine für 126 soweit aus dem Serum zu entfernen, dass nur noch die Verdünnung 1:50 bezw. 1:100 gegen den eigenen Stamm (126) die positive Reaction giebt.

Dass die Verhältnisse aber nicht so einfach liegen, wie hier angenommen ist, zeigt eine weitere Beobachtung: Sättigt man das Serum mit Cultur 151 ab, so lassen sich die agglutinierten Bakterien mit Leichtigkeit abcentrifugiren; die Flüssigkeit wird, so lange noch geringe Mengen freien, ungebundenen Agglutinins in ihr enthalten sind, völlig klar. Erst wenn man Cultur im Ueberschuss zugiebt, bleibt die Flüssigkeit auch nach dem Centrifugiren noch trübe, da nun nicht mehr alle Bakterien agglutinirt werden und ausgeschleudert werden konnten. Jetzt enthält die decantirte getrübe Flüssigkeit aber auch keine Agglutinine für Cultur 151 mehr. Ganz anders liegen die Verhältnisse beim Stamm 126! Hier bleibt das centrifugirte Serum schon unter den Bedingungen, bei denen der Versuch mit 151 eine ganz klare bakterienfreie überstehende Flüssigkeit ergibt, trübe. Mikroskopirt man dies getrübe abgesättigte Serum, so sieht man neben bewegungslosen auch noch bewegliche Typhusbacillen.

Werthet man dies getrübe Serum gegen die Cultur 126 aus, so findet man, dass sein Titer z. B. noch bis 1 : 5000 geht. Es bestehen also neben einander in dem Serum freie Agglutinine, anscheinend nicht mit Agglutinin beladene (bewegliche) und beladene (unbewegliche) Bakterien. Analoge Verhältnisse haben wir in der Chemie bei der Verbindung von Körpern mit schwachen Affinitäten. Auch hier bleiben neben dem Endproduct der Reaction (z. B. dem Salz) noch grössere Mengen der Reagentien (Säure und Base) frei in Lösung; es besteht zwischen Reagentien und Endproduct ein Gleichgewichtszustand. Eine Uebertragung dieser chemischen Anschauungen auf die Bindungsverhältnisse der Cultur 126 führt zu der Annahme, dass der Typhusstamm 126 eine verhältnissmässig sehr geringe Affinität zu den Agglutininen des untersuchten Typhusserums hat. Weitere Beobachtungen, die demnächst von Kutscher, Lentz und Meinicke zur Veröffentlichung gelangen werden, sind geeignet, diese Annahme verschiedener Affinitätsverhältnisse der einzelnen Typhusculturen zu den Agglutininen eines Typhusserums zu stützen.¹

¹ Während der Correctur dieser Arbeit erhielten wir Kenntniss von Versuchen, über die E. Friedberger in Salkowski's *Festschrift* schon früher berichtet hat. Er fand bei Agglutinationsbindungsversuchen mit zwei Typhusstämmen Unterschiede in der bindenden Kraft dieser beiden Culturen, die ihn zu der Annahme führten, dass die beiden Typhusstämme zum Theil qualitativ verschiedene Receptorentypen besässen. Daneben liess er die Möglichkeit offen, dass bei einem schlecht bindenden Stamm die Receptoren „in eine Modification umgewandelt sind, in der zwar ihre Affinität zu den Agglutininen vollständig geschwunden ist, in der sie aber zur Bildung von Agglutinin im Thierkörper noch befähigt sind.“ Neuere Untersuchungen, die Friedberger in Gemeinschaft mit Moreschi in der *Berliner klin. Wochenschrift* 1905 mitgetheilt hat, haben ihn zu einer neuen Auffassung der einschlägigen Verhältnisse geführt. Er nimmt nun an, dass die Differenzen, welche zwischen der

Bei Cholera-vibrionen sind derartige Unterschiede in der Affinität der einzelnen Culturen zu den Agglutininen spezifischer Sera nicht zu constatiren, wenn man das abgesättigte Serum gegen den zur Bindung benutzten Stamm selbst auswerthet. Da verhalten sich alle Cholera-culturen wie der Typhusstamm 151, das heisst: sie absorbiren für sich selbst prompt alle Agglutinine. Unsere Bindungsversuche mit Cholera-culturen hatten aber ergeben, dass deutliche Unterschiede in der bindenden Kraft der einzelnen Culturen zu Tage treten, wenn man das mit einem bestimmten Cholera-stamm abgesättigte Serum gegen andere Cholera-stämme auswerthet. Für die Erklärung dieser auffallenden Thatsache glauben wir jetzt Affinitätsunterschiede heranziehen zu dürfen, um so mehr als das Beispiel unserer Typhus-cultur 126 uns gezeigt hat, dass paradox erscheinende Bindungsergebnisse hier nur in der Annahme schwacher Affinitäten zu den Agglutininen des Serums eine zureichende Erklärung finden. Bei den Versuchen mit dem Typhusstamm 126 ist nämlich die Erklärung der schwachen Bindungskraft durch die Hypothese von einem Grundreceptor und Partialreceptoren ausgeschlossen; denn das abgesättigte Serum wurde ja gegen den zur Bindung benutzten Stamm selbst ausgewerthet, der sich selbst natürlich in seinem Receptorenapparat völlig gleich ist. Hier konnten Unterschiede im Sinne differenter Partialreceptoren absolut keine Rolle spielen. Vielmehr hat der zur Bindung benutzte Stamm ganz genau dieselben Receptoren wie der, gegen den das abgesättigte Serum nachher ausgewerthet wurde. Denn es ist einfach dieselbe Cultur.

Die Versuchsreihen von Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz¹, die mit den unsrigen, trotzdem die Culturen zum Theil mehrere Jahre lang fortgezüchtet und obgleich wir ganz andere Sera benutzten, sich deckten, hatten dargethan, dass alle Cholera-culturen von Cholera-

agglutininbindenden und der im Thierkörper agglutininbildenden Fähigkeit der Typhusbacillen bestehen, nicht durch verschiedene Affinität an sich gleichartiger Receptoren bedingt sind, sondern dass agglutininbindende und -bildende Receptoren ganz verschiedene Dinge sind. Unsere eigenen Untersuchungen an Cholera-vibrionen, die unabhängig von den Friedberger'schen Versuchen mit Typhusbacillen angestellt wurden, scheinen uns zu beweisen, dass die Annahme verschiedener Aviditätsverhältnisse an sich gleichartiger Receptoren vollkommen zur Erklärung der bei Bindungsversuchen beobachteten grossen Differenzen ausreicht. In Kürze hat bereits der eine von uns (Meinicke) in der Cholera-nummer der *Zeitschrift für ärztl. Fortbildung*, October 1905, über unsere Versuche und die daraus abgeleiteten Theorien referirt. Die bereits citirten Untersuchungen von Friedberger und Moreschi, welche erst nach diesem Referat veröffentlicht sind, scheinen nicht gegen die Richtigkeit unserer Annahmen zu sprechen.

¹ A. a. O.

serum verschiedenster Provenienz annähernd gleichmässig beeinflusst wurden. Die genannten Autoren hatten daraus den Schluss gezogen, dass der Receptorenapparat der Cholera-vibrionen ausserordentlich einheitlich gebaut sei. Unter dieser Voraussetzung würden z. B. die Culturen B I und S VI im Wesentlichen dieselben Receptoren haben, wie das die folgende Zeichnung veranschaulicht:

BI: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

S VI: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

(Die unterstrichenen Receptoren sollen starke Avidität besitzen.)

Aber diese Receptoren haben, wie unsere Bindungsversuche lehren, nicht alle dieselbe Affinität zu den einpassenden Agglutininen. Wir stellen uns vor, dass z. B. bei Cultur B I die Receptoren *a* bis *g* eine starke, *h* bis *s* dagegen nur eine sehr schwache Avidität zu den Agglutininen der untersuchten Sera haben. Umgekehrt sind die Receptoren *n* bis *s* des Stammes S VI mit starken Affinitäten ausgestattet, *a* bis *m* dagegen nicht.

Wie sich die anderen Culturen unserer Sammlung in diesem Sinne gruppieren lassen, ist bereits oben dargethan. Wir setzen der Uebersichtlichkeit halber die Schemata der Culturen 55 und 74 noch einmal hierher:

74: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

55: a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.

Unter der Voraussetzung, dass in den Serumproben, welche wir zu unseren Bindungsversuchen verwandten, Agglutinine für alle Receptoren (*a* bis *s*) der Cholera-vibrionen vorhanden sind und dass bei den verschiedenen Cholera-culturen die Affinität der einzelnen Receptorengruppen zu den Agglutininen des Serums verschieden ist, erklären sich nun zwanglos die Resultate unserer Bindungsversuche: Es ist ohne Weiteres einleuchtend, warum Cultur B I nur wenig Agglutinin für S VI zu binden vermag und umgekehrt. Es erscheint nun aber auch die Thatsache verständlicher, dass trotz der grossen Verschiedenheiten, die sich bei Bindungsversuchen zwischen den Stämmen B I und S VI ergeben, doch beide Culturen von dem betreffenden Choleraserum in gleicher Weise beeinflusst werden. Cultur B I wird im Wesentlichen durch Besetzung seiner Gruppen *a* bis *g* agglutiniert, während die Receptoren *h* bis *s* nur wenig Agglutinin an sich zu fesseln vermögen. Umgekehrt verdankt S VI die prompte Agglutination seinen Receptoren *n* bis *s*, während die mit schwacher Avidität ausgestatteten *a* bis *m* nur wenig zur Agglutination beitragen.

Die Annahme gleicher Receptoren für alle Cholera-vibrionen, aber verschiedener Affinitätsverhältnisse der einzelnen Cul-

turen grenzt nun auch die Cholera-vibrionen scharf von den cholera-ähnlichen Vibrionen ab. Wir hatten oben gesehen, dass bei den cholera-ähnlichen Vibrionen das Bild eines mit den echten Koch'schen Vibrionen gemeinsamen und zahlreicher differenter Receptoren mit allen Versuchsergebnissen im Einklang steht. Es seien zum Vergleich zwei Cholera-stämme (BI und SVI) und ein cholera-ähnlicher Vibrio (77) hier skizzirt:

Cholera-	{	B I:	<u>a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.</u>
stämme		S VI:	<u>a, b, c, d, e, f, g, h, i, k, l, m, n, o, p, q, r, s.</u>
Vibrio 77:			<u>s, t, u, v, w, x, y, z.</u>

Aus dem Schema wird ohne Weiteres klar, warum der cholera-ähnliche Vibrio aus Choleraserum Agglutinine für Cholera-vibrionen nicht in nennenswerther Weise zu binden vermag. Es scheint ferner verständlich, warum ein mit den Receptoren *a* bis *s* hergestelltes Choleraserum den cholera-ähnlichen Vibrio nur ganz minimal mitagglutinirt, und umgekehrt ein mit dem cholera-ähnlichen Vibrio (Receptor *s* bis *z*) erzeugtes Serum echte Cholera-vibrionen, wenn überhaupt, so stets nur in den stärksten Concentrationen beeinflusst. Es fehlen eben einem derartigen Serum die auf die Cholera-receptoren *a* bis *r* einpassenden Agglutinine.

Vor Allem aber wird der grosse Contrast, der zwischen den Resultaten wechselseitiger Bindungsversuche mit Cholera-vibrionen einerseits, den Ergebnissen der Auswerthung gegenüber verschiedenen Choleraseren und der Immunisirungsversuche andererseits besteht, einer Erklärung zugeführt. Besitzen alle Cholera-vibrionen im Wesentlichen die gleichen Receptoren, wie wir jetzt annehmen, so müssen auch alle Choleraseren, ganz einerlei, mit welchem Stamm sie hergestellt sind, ungefähr die gleiche innere Zusammensetzung zeigen. Und das ist thatsächlich, wie unsere ausführlich mitgetheilten Versuche beweisen, der Fall.

Immerhin können wir uns nicht verhehlen, dass auch bei der Annahme gleichartiger aber mit verschiedenen Affinitäten ausgestatteter Receptoren bei den Cholera-vibrionen die Erklärung unserer Versuchsergebnisse auf eine gewisse Schwierigkeit stösst. Im Sinne der Ehrlich'schen Theorie wäre nämlich zu erwarten, dass der mit starker Avidität begabte Receptor im Thierkörper mehr oder auch wieder avidere Antikörper auslöste, als die mit schwachen Affinitäten versehenen Receptoren. Mit anderen Worten: dass doch ein Serum, das z. B. mit Cultur 74 hergestellt ist, Stamm 74 selbst in messbar stärkerem Grade beeinflusst wie z. B. Cultur B I. Derartige theoretisch zu erwartende Unterschiede kommen thatsächlich vor, wie wir oben an dem Serum 89 ausführlich nachgewiesen haben. Aber die Differenzen im Titer gegenüber Stämmen, die andere Affinitäten besitzen, erreichen nur niedrige Werthe. Auch

mit der von Friedberger empfohlenen Methode der Immunisirung mit ganz kleinen Dosen konnten wir keine deutlichen Unterschiede im Titer der Sera gegenüber den verschiedenen Stämmen erzielen.

Für die Thatsache, dass die Aviditätsunterschiede der Cholerareceptoren in dem betreffenden Serum nur so unvollkommen zum Ausdruck gelangen, sollen im Folgenden noch einige Erklärungsversuche mitgeteilt werden.

Zunächst ist daran zu erinnern, dass wir nicht berechtigt sind, ohne Weiteres von Reagensglasversuchen Schlüsse auf die Verhältnisse im Thierkörper zu ziehen. Mit der Feststellung, dass gewisse Receptorengruppen einer Choleracultur im Reagensglas nur wenig Antikörper zu binden vermögen, ist noch nicht gesagt, dass diese Gruppen nun auch zu den Antikörper liefernden Bestandtheilen des Thierkörpers eine sehr schwache Affinität besitzen müssten und dementsprechend nur zur Bildung von wenig Antikörpern für diese Receptorengruppen anregen würden.

Es ist ferner nicht zu vergessen, dass Bindungskraft und Agglutinabilität bezw. Beeinflussung im Pfeiffer'schen Versuch doch keineswegs identische Begriffe sind. Man kann daher nicht erwarten, dass Bindungsversuche in absoluter Congruenz mit den Resultaten der Auswerthung gegen agglutinirende und baktericide Sera stehen müssen. Wohl stellen wir uns gestützt auf die Ehrlich'sche Theorie zur Zeit vor, dass spezifische Beeinflussung ohne Bindung nicht eintritt; im Uebrigen sind aber beide Vorgänge doch ziemlich unabhängig von einander.

Durch die Untersuchungen von Eisenberg und Volk¹ wissen wir, dass die agglutinable Substanz eine haptophore und eine agglutinophore Gruppe besitzt. Die haptophore Gruppe ist im Allgemeinen stabiler als die agglutinophore. So kann man durch Erhitzen, Ansäuern, Salzzziehung und anderes mehr die agglutinophore Gruppe zerstören; es tritt daher keine Agglutination mehr ein. Trotzdem haben die Bakterien ihre bindende Fähigkeit erhalten: sie absorbieren aus dem Serum die Antikörper. Schon verhältnissmässig geringfügige Umstände, wie Unterschiede in der Beschaffenheit des Nährbodens, beeinflussen die Agglutinirbarkeit von Bakterien, z. B. von Typhusbacillen nicht selten, während die bindende Kraft dieselbe bleibt. Ausführliche Untersuchungen über diesen Gegenstand hat Kirstein² angestellt. Analoge Beobachtungen hat wohl Jeder, der Gelegenheit hatte, zahlreiche Agglutinationsversuche auszuführen, gemacht.

Alle die skizzirten Fälle haben das Gemeinsame, dass trotz erhaltener Bindungskraft die Agglutinabilität mehr oder minder gehemmt ist, dass also trotz reichlicher Absorption von Agglutininen keine Agglutination eintritt. Für unseren Fall haben aber gerade entgegengesetzte Beobachtungen

¹ A. a. O.

² *Diese Zeitschrift.* Bd. XLVI.

Interesse. Denn der Vergleich unserer Bindungsversuche mit den Agglutinationsresultaten und den Ergebnissen der Pfeiffer'schen Versuche nöthigt zu der Annahme, dass Cholera-vibrionen, auch wenn sie nur verhältnismässig wenig avide Receptoren besitzen und dementsprechend auch nur geringe Mengen Antistoffe zu binden vermögen, doch die deutliche spezifische Reaction geben.

Hierher gehört ein Versuch, den Scheller¹ beschrieben hat. Er erhitze Typhusbacillen auf 60° und machte mit diesen und zur Controle mit lebenden, nicht erhitzten Typhusbacillen, Agglutinations- und Bindungsversuche. Es ergab sich, dass die lebenden Typhusbacillen unter gleichen Versuchsbedingungen weniger Agglutinin zu binden vermochten als die bei 60° abgetödteten. Andererseits aber wurden die erhitzten Bakterien weit schlechter agglutinirt. Die lebenden Typhusbacillen zeigen also die sichtbare Reaction (Agglutination) viel deutlicher als die erhitzten, haben aber weniger Agglutinin gebunden. Es tritt also ein ähnliches Missverhältniss zwischen Agglutinabilität und gebundener Agglutininmenge zu Tage, wie in unseren Versuchen mit Cholera-vibrionen. Einen Hauptgrund für dieses Missverhältniss erblicken wir in der ausserordentlich leichten Beeinflussbarkeit der Cholera-vibrionen durch spezifische Sera, einer Beeinflussbarkeit, wie sie anderen Bakterienarten z. B. Typhusbacillen nicht eigen ist.

Die leichte Reaction auf spezifische Antistoffe findet nicht nur in der guten Agglutinabilität, sondern auch in der ebenso prompt eintretenden Bakteriolyse ihren Ausdruck. Zum Vergleich soll im Folgenden immer der Typhusbacillus herangezogen werden, weil bei ihm die entsprechenden Verhältnisse am genauesten studirt sind.

Zunächst ist es eine wohl allen Bakteriologen geläufige Thatsache, dass die Agglutinabilität der Cholera-vibrionen weit weniger von äusseren Umständen, wie Schwankungen im Nährboden u. s. w., beeinflusst wird, als die der Typhusbacillen. Die Agglutination der Cholera-vibrionen verläuft also gleichmässiger; sie verläuft aber unter sonst gleichen Bedingungen auch schneller und deutlicher als die der Typhusbacillen. In den höheren Verdünnungen giebt die Agglutination der Typhusbacillen nicht mehr so klare Bilder wie die der Cholera-vibrionen. Auch ist die der Serumconcentration entsprechende Scala im Grade der Agglutination dort nicht so schön ausgeprägt. Eine Beobachtung von Eisenberg und Volk², die nachher mehrfach, so in neuester Zeit von Porges³ bestätigt wurde, lässt sich im nämlichen Sinne verwerthen. Setzt man Typhusbacillen der

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XXXVI.

² A. a. O.

³ *Zeitschrift für experim. Pathologie und Therapie*. I. 3.

Erhitzung auf verschiedene Temperaturen aus, so verlieren sie verhältnissmässig schnell ihre Agglutinabilität; die Agglutinabilität der Cholera-vibrionen bleibt dagegen unter denselben Bedingungen noch gut erhalten. Auch die Bakteriolyse verläuft bei den Cholera-vibrionen prompter als bei den Typhusbacillen. Hier ist das Phänomen in der Meerschweinchenbauchhöhle manchmal erst in einigen Stunden abgelaufen, beim Cholera-vibrio dagegen ist das Zerfallen in Granula meist schon nach einer halben Stunde ausgeprägt und im Verlaufe einer Stunde beendet. Dass schon geringe Mengen Immunkörper genügen, die Bakteriolyse bei Cholera einzuleiten, zeigen ferner die Versuche von Pfeiffer und Friedberger.¹ Sie beluden Cholera-vibrionen mit geringen Mengen Amboceptoren und spritzen die sorgfältig gewaschenen Bakterien zugleich mit 1 Oese virulenter Cultur in die Bauchhöhle eines Meerschweinchens ein. Die dort frei werdenden Bakteriolyse genügten, um die Infection zu paralysiren. Frische rohe Kuhmilch, die unter aseptischen Cautelen aufgefangen worden ist, wirkt baktericid auf Cholera-vibrionen, nicht aber auf Typhus- und Colibacillen und andere Bakterien dieser Gruppe, wie Kolle, Friedel, Kutscher und Meinicke² im Gegensatz zu v. Behring³ feststellen konnten.

Besondere Beachtung verdienen in diesem Zusammenhange Versuche von Bail⁴, die schon zum Theil Bekanntes bestätigen, zum Theil Neues bringen. Bail unterzieht in seiner neuesten Publication die Bedeutung der Bakteriolyse für die Immunität einer ausserordentlich scharfen Kritik: „Die keimtödtende Eigenschaft der Körperflüssigkeiten ist im Grunde werthlos für Erklärungsversuche der Immunität.“ Man wird bei diesem Standpunkt erwarten können, dass er alles Material, was irgendwie gegen die Bakteriolyse sprechen kann, anführt. Aber auch er kann sich der Thatsache nicht verschliessen, dass die Cholera-vibrionen dem Einfluss der baktericiden Körpersäfte im Organismus ausserordentlich zugänglich sind. „Diese (gemeint sind die keimtödtenden Eigenschaften der Körperflüssigkeiten) finden hier das Gebiet ihrer Wirksamkeit, zugleich aber auch die Grenze dieses Gebietes (S. 310).“

Es seien hier einige seiner Versuche angeführt, da sie gerade den scharfen Gegensatz im Verhalten der Cholera-vibrionen zum Typhusbacillus gut illustriren.

1. Spritzt man einem normalen Kaninchen Typhusbacillen in die Blutbahn, so verschwinden sie zwar schnell aus dem Blut, halten sich

¹ *Deutsche med. Wochenschrift.* 1901.

² *Klin. Jahrbuch.* Bd. XIII.

³ *Therapie der Gegenwart.* 1904. — *Beiträge zur experim. Therapie.* Hft. 8.

⁴ *Archiv für Hygiene.* Bd. I.II.

aber sehr lange in den Organen; in einem specifisch vorbehandelten Thiere halten sie sich ebenso lange wie im normalen — Cholera-vibrionen dagegen verschwinden, auch wenn sie in massiven Dosen eingespritzt werden, schnell aus dem Organismus, und zwar schneller aus einem gegen Cholera immunisirten als aus einem normalen.

2. Zusatz von Körperzellen hemmt im Reagensglas die Bakteriolyse der Typhusbacillen durch specifisches Serum stark, nicht aber die der Cholera-vibrionen.

3. Erzeugt man im Meerschweinchenperitoneum durch Aleuronat ein zellreiches Exsudat und spritzt dann Typhusbacillen ein, so wird der grösste Theil der Bakterien von Zellen aufgenommen und dort zerstört, während die Granulabildung in der freien Flüssigkeit ganz zurücktritt. Bei Cholera-vibrionen bleibt die Bakteriolyse bei gleicher Versuchsanordnung ausserhalb der Zellen beträchtlich.

4. Sogenannte Exsudatbakterien sind inagglutinabel und der Bakteriolyse unzugänglich. Das gilt aber nur für Typhusbacillen, nicht für Cholera-vibrionen.

5. Aggressinzusatz hebt bei Typhusbacillen den Einfluss des specifischen baktericiden Immunserums auf, bei Cholera-vibrionen nicht.

Aus den mitgetheilten Versuchen Bails¹, die um so mehr Beachtung verdienen, als sie von einem Gegner der Bakteriolyse ausgehen, geht unzweideutig hervor, dass Cholera-vibrionen dem Einfluss baktericider Substanzen in viel höherem Grade zugänglich sind als z. B. Typhusbacillen.

Mit dieser höheren, sagen wir Affinität zu Agglutinin und Bakteriolysin stimmt im Sinne der Ehrlich'schen Theorie die Thatsache überein, dass man mit Cholera-vibrionen leichter hochwerthige Immunsera an Versuchsthiere herstellen kann als mit Typhusbacillen. Es mag so auch verständlich erscheinen, dass Unterschiede in der Avidität der Receptoren bei den verschiedenen Cholera-culturen in dem betreffenden Serum nicht scharf zum Ausdruck kommen. Auch die mit schwachen Affinitäten versehenen Receptoren regen starke Antikörperbildung an, so dass das Serum, einerlei mit welcher Cultur es hergestellt ist, eine ziemlich gleichmässige Zusammensetzung hat.

Aus dem Zusammenwirken der beiden Factoren: reichliche Bildung von Antikörpern gegen die mit verschiedenster Avidität ausgestatteten Receptoren der Cholera-vibrionen einerseits — leichte Beeinflussbarkeit durch geringe Antikörpermengen andererseits, erklären wir uns die geringen Unterschiede, die bei der Agglutination und bei baktericiden Versuchen mit Cholera-vibrionen zwischen den einzelnen Stämmen und Serumproben im Gegensatz zum Resultat der Bindungsversuche zu Tage treten. Die

¹ A. a. O.

Unterschiede im Receptorenapparat von Cholera-vibrionen, wie sie durch Bindungsversuche aufgedeckt werden konnten, bleiben bei der Auswerthung durch agglutinirende oder baktericide Cholerasera aus den angeführten Gründen oft verborgen.

Dass sie nicht in allen Fällen verdeckt bleiben, wurde schon erwähnt. Auch bei Cholera-vibrionen wurden ja schon geringe Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der einzelnen Stämme beobachtet. Wir erinnern nur an die Arbeiten von Gruber und Durham¹, Kolle, Gotschlich, Hetsch, Otto und Lentz², Pfeiffer³ und unsere eigenen oben mitgetheilten Versuche. In unseren Fällen konnten die Unterschiede auf Differenzen in den Affinitätsverhältnissen der einzelnen Culturen zurückgeführt werden. Immer aber sind die Unterschiede im Grade der Beeinflussbarkeit sehr gering.

Im Gegensatz dazu verhalten sich verschiedene Typhusculturen zum Theil recht different gegenüber agglutinirenden und baktericiden Typhuseris. Die Unterschiede im Receptorenapparat treten hier schon bei der Auswerthung gegen spezifische Sera deutlich zu Tage und werden durch die Bindungsversuche lediglich bestätigt, wie das die Untersuchungen von Wassermann⁴, Cole⁵, Walker⁶, Falta und Noeggerath⁷ darthun. Die von diesen Autoren gemachten Beobachtungen stehen mit der schwereren Beeinflussbarkeit der Typhusbacillen durch Immunsera in vollem Einklang.

Noch weniger leicht wie die Typhusbacillen sind Coli- und Dysenteriebakterien der Agglutination und Bakteriolyse zugänglich. Dementsprechend treten die Unterschiede im Receptorenapparat dieser Bakterienarten bei der Agglutination und im Pfeiffer'schen Versuche noch markanter hervor, wie beim Typhusbacillus. Beim *Bacterium coli* haben Wassermann⁴, Totsuka⁸, Rothberger⁹ und Radcziewsky¹⁰, bei Dysenteriebakterien Shiga¹¹, Eisenberg¹² und Hiss¹³ diese Verhältnisse studirt.

¹ A. a. O. ² A. a. O. ³ A. a. O.

⁴ Koch's *Festschrift*. — *Centralblatt für Bakteriologie*. Ref.

⁵ *Diese Zeitschrift*. Bd. XLVI.

⁶ *Journal of Pathol. and Bacteriol.* Ref. *Centralblatt f. Bakteriolog.* Bd. XXXI.

⁷ *Deutsches Archiv für klin. Medicin.* 1905.

⁸ *Diese Zeitschrift*. Bd. XLV.

⁹ *Ebenda*. Bd. XXXIV.

¹⁰ *Ebenda*. Bd. XXXIV.

¹¹ *Ebenda*. Bd. XLI.

¹² *Wiener klin. Wochenschrift*. 1904.

¹³ *The Journ. of Med. Research*. Vol. XIII. 1.

Aus den Versuchen aller der genannten Autoren ergibt sich, dass bei Typhus-, Coli- und Dysenteriebacillen die Differenzen im Receptorenapparat der einzelnen Culturen schon bei der Auswerthung gegen specifische agglutinirende und baktericide Sera deutlich in Erscheinung treten. Bindungsversuche soweit sie gemacht wurden, bestätigten hier lediglich diesen Befund. Bei Choleravibrionen dagegen bleiben die Differenzen im Bau der einzelnen Stämme bei der Agglutination und bei baktericiden Versuchen im Allgemeinen verdeckt und treten erst bei Bindungsversuchen zu Tage.

Wir sind am Ende unserer theoretischen Erörterungen angelangt. Sie sollten zeigen, dass die Ansicht, welche wir uns vom Receptorenapparat der Choleravibrionen gebildet haben, mit allen Beobachtungen, die bisher über die Immunitätsreactionen der Koch'schen Vibrionen gemacht wurden, im Einklang steht. Die Annahme gleichartiger aber mit verschiedenen Aviditäten ausgestatteter Receptoren für alle Choleraulturen erscheint daher nach dem heutigen Stande des Wissens am besten fundirt. Wir glaubten etwas ausführlich werden zu müssen, da einer zureichenden Erklärung für die von uns gemachten Beobachtungen mancherlei Schwierigkeiten entgegenstanden und andererseits die bei Choleravibrionen aufgedeckten Verhältnisse bis zu einem gewissen Grade eine Uebertragung auf andere Bakterienarten gestatten. Veranlasst wurden die eingehenden Betrachtungen durch den schroffen Gegensatz, in den sich die Resultate von Bindungsversuchen mit Choleravibrionen zu dem bisher beobachteten ausserordentlich einheitlichen Verlauf ihrer Immunitätsreactionen stellten. Es seien daher noch einige Bemerkungen über den Werth von Bindungsversuchen für die Bakteriendifferenzirung, speciell für die Choleradiagnose, angefügt.

Im Allgemeinen wird man Bindungsversuche bei der Choleradiagnose ganz entbehren können. Die Immunitätsreactionen verlaufen bei Choleravibrionen so streng specifisch, dass eine Abtrennung der echten Koch'schen von choleraähnlichen Vibrionen bisher stets mit Leichtigkeit gelungen ist. Wir verweisen in diesem Sinne nur auf die umfassenden Untersuchungen, die Kolle und Gotschlich¹ bei der ägyptischen Epidemie im Jahre 1902 angestellt haben. Sie haben unzweideutig dargethan, dass im Besonderen der Agglutinationsprobe mit hochwerthigem Serum eine ausschlaggebende Bedeutung für die Choleradiagnose zukommt. Will man aber bei fraglichen oder aus einem bestimmten Grunde besonders interessanten Culturen Bindungsversuche mit in den Kreis der Untersuchungen ziehen, so ist bei der Beurtheilung der Resultate grösste

¹ A. a. O.

Vorsicht geboten. Vor Allem darf man aus einem negativ ausgefallenen Bindungsversuch — wenn also das mit der fraglichen Cultur abgesättigte Serum nicht an Titer gegenüber echten Cholera-culturen eingebüsst hat — niemals den Schluss ziehen, die fragliche Cultur sei keine Cholera-cultur. Möglich ist es natürlich, dass es sich in diesem Falle um einen cholera-ähnlichen *Vibrio* handelt. Ebenso gut aber besteht die Möglichkeit, dass man es mit einem echten Cholera-vibrio zu thun hat, der nur zufällig andere Affinitätsverhältnisse aufweist als die Contro-cultur. Wie sehr man Täuschungen bei Bindungsversuchen ausgesetzt sein kann, möge folgendes Beispiel lehren: Die Cultur Hahn ist entschieden etwas weniger leicht agglutinabel als die anderen Culturen unserer Sammlung; man könnte sie daher als eine fragliche Cholera-cultur bezeichnen. Zur Sicherstellung der Diagnose macht man nun Bindungsversuche und werthet das abgesättigte Serum nicht nur gegen einen, sondern, um ganz sicher zu gehen, gegen zwanzig echte Cholera-culturen aus. Nimmt man zu diesen Versuchen nun zufällig Culturen aus den Gruppen 19, 74 oder 55, so wird man niemals eine Abnahme des Titers durch die Bindung mit der fraglichen Cultur constatiren können. Man könnte daher leicht versucht sein, den Stamm Hahn nicht für eine echte Cholera-cultur zu halten und würde damit eine Fehldiagnose stellen. Wir halten es für ungleich sicherer, mit einer fraglichen Cultur (derartige Culturen sind übrigens grosse Seltenheiten) ein künstliches Immunserum herzustellen und dies gegen echte Cholera-vibrionen auszuwerthen. In unserem Beispiel würde dadurch Cultur Hahn sofort als echte Cholera-cultur unzweideutig identificirt sein.

Ob bei anderen Bakterienarten Bindungsversuche uns in der Präcision der Diagnose weiter bringen als Agglutinations- und baktericide Versuche, wie dies Wassermann¹ angiebt, darüber fehlen uns zur Zeit noch ausgedehntere Erfahrungen. Nach dem oben skizzirten Versuch mit den beiden Typhusculturen 126 und 151 scheinen aber wenigstens bei Typhusbacillen die Verhältnisse noch complicirter zu liegen als bei Cholera-vibrionen. Auch dem Castellani'schen Versuch wird man mit Rücksicht auf die bei Cholera-vibrionen erhobenen Befunde nicht mehr volle Beweiskraft zuerkennen können.

¹ A. a. O.

Schlussätze.

1. Macht man Bindungsversuche mit Cholera-vibrionen und werthet das mit ihnen abgesättigte Choleraserum in Agglutinations- oder baktericiden Versuchen gegen verschiedene Cholera-stämme aus, so zeigen sich zwischen den einzelnen Culturen deutliche Differenzen.

2. Sämmtliche Cholera-culturen werden von den nicht abgesättigten hochwerthigen bactericiden und agglutinirenden Cholerasera annähernd gleich hoch beeinflusst. Dem Verhalten bei den Bindungsversuchen entsprechende Unterschiede in der Beeinflussbarkeit der einzelnen Stämme werden hier nicht deutlich beobachtet. Verschiedene Sera, auch solche die mit Culturen hergestellt sind, die sich im Bindungsversuch sehr different verhalten haben, zeigen beim Austitriren gegen die einzelnen Stämme keine deutlichen Unterschiede.

3. Die Annahme eines allen Cholera-culturen gemeinschaftlichen Grundreceptors und verschiedener differenter Partialreceptoren vermag diesen Contrast zwischen dem Resultat der Bindungsversuche einerseits und dem Ausfall der Serumauswerthung andererseits nicht zu erklären.

4. Die Theorie dagegen, dass alle Cholera-culturen dieselben Receptoren in ungefähr gleichem Verhältniss besitzen, dass aber die Avidität der einzelnen Receptoren zu den Antistoffen des Choleraserums bei den verschiedenen Culturen verschieden ist, steht mit allen Versuchsergebnissen im Einklang und erklärt sie zwanglos.

5. Cholera-ähnliche Vibrionen werden von baktericiden und agglutinirenden Cholerasera, wenn überhaupt, nur in ganz geringem Grade beeinflusst und umgekehrt.

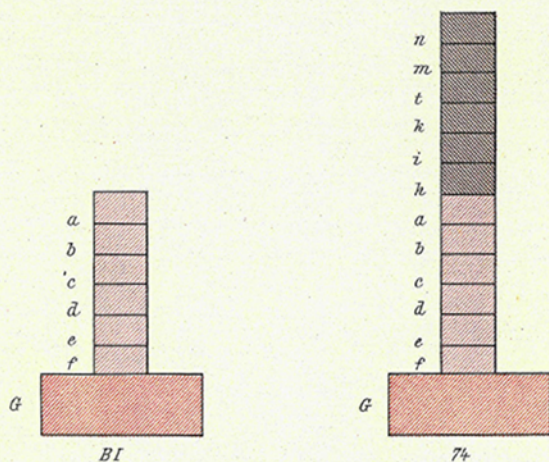
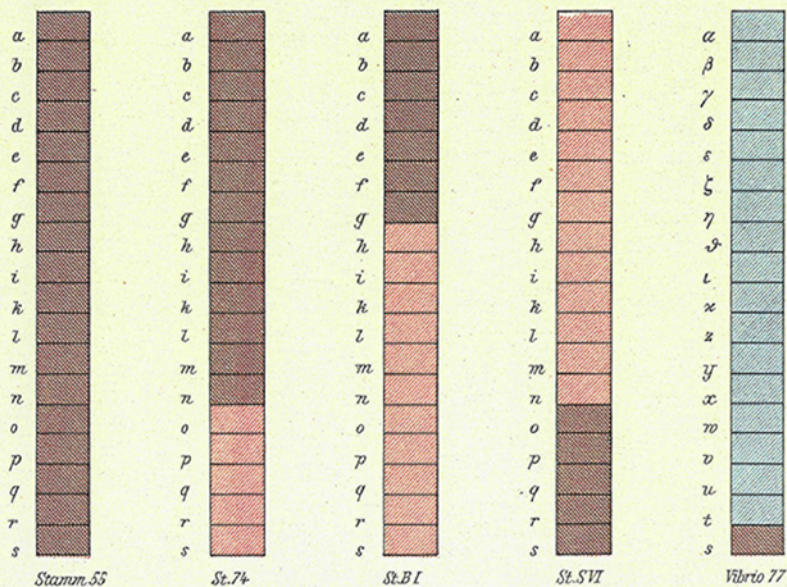
6. Cholera-ähnliche Vibrionen sind nicht im Stande, aus beliebigem Choleraserum die für echte Koch'sche Vibrionen spezifischen Antikörper zu binden.

7. Die Receptoren cholera-ähnlicher Vibrionen sind von denen echter Cholera-vibrionen ganz verschieden. Cholera-ähnliche Vibrionen haben, wenn überhaupt, nur einige wenige Receptoren mit Cholera-vibrionen gemeinsam.

8. Der Receptorenapparat der Cholera-vibrionen ist bei allen Culturen gleichartig und gegenüber cholera-ähnlichen Vibrionen streng specifisch gebaut.

9. Virulenz einerseits, bindende und immunisirende Kraft andererseits stehen bei Cholera-culturen in keinerlei Zusammenhang.

10. Für die praktische Choleradiagnose ist die Auswerthung verdächtiger Culturen mit hochwerthigen Choleraimmunsera das wichtigste Differenzirungsmittel. Im Besonderen kommt hier die Agglutinationsprobe in Betracht. Bindungsversuche sind für die praktische Choleradiagnose werthlos. Vielmehr ist es bei der Identificirung unsicherer Culturen rationell, mit ihnen künstliche Immunsera herzustellen und diese gegen verschiedene echte Cholera-culturen auszuwerthen.



Erläuterung der Zeichnungen.

1. Kleine rote Felder-Cholera-Receptoren.
2. Kleine rote Felder, schwarz schraffiert mit starker Avidität begabte Cholera-Receptoren.
3. Kleine blaue Felder-Receptoren Cholera-ähnlicher Vibrionen.
4. Grosse rote Felder (G)-Cholera-Grundreceptor.
5. Kleine Felder violett und violett, schwarz schraffiert Cholera partialreceptoren verschiedener Art.