

[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten.]

Untersuchungen über das Cholera Gift.

Von

Dr. R. Pfeiffer,

Vorsteher der wissenschaftlichen Abtheilung des Institutes für Infectionskrankheiten.

Vor zwei Jahren hatte ich über die Beziehungen des *Vibrio Metschnikowi* zur Cholera asiatica gearbeitet und dabei in den durch Kochen sterilisirten Bouillonculturen dieses *Vibrio* ein Gift kennen gelernt, das bei intraperitonealer Injection Meerschweinchen in der relativ geringen Dosis von 2^{cem} unter sehr charakteristischen Erscheinungen zu tödten vermochte. Ich ging an die genauere Untersuchung dieser Giftsubstanzen in der ausgesprochenen Absicht, Analogien aufzufinden, die mir für ein späteres Studium der Giftwirkung der Cholera bacterien den Weg ebneten sollten.

Diese Erwartungen haben sich vollauf bestätigt. Der Verlauf meiner Untersuchungen führte mich zu Resultaten, die, wie es scheint, eines gewissen Interesses für die Cholera ätiologie nicht entbehren.

I.

Culturen des *Vibrio Metschnikowi*, die seit länger als zwei Jahren auf Agar fortgezüchtet worden waren, wurden zunächst auf ihre Virulenz geprüft. Sie tödteten bei intermusculärer Impfung Tauben in der normalen Zeit von 18 Stunden mit sehr starken localen Veränderungen in der Umgegend der Impfstelle, während das Herzblut auffällig arm an Vibrionen war. Erst nach mehrfachen Uebertragungen von Taube zu Taube traten die Vibrionen wieder im Herzblut auf in Mengen, wie ich sie von früheren Untersuchungen noch in lebhafter Erinnerung hatte. Es wurden nun aus dem Taubenblut Reinculturen angelegt, welche zur

Infection einer Anzahl Literkolben mit schwach alkalischer Fleischwasser-peptonbouillon dienten.¹

Bei meiner ersten Versuchsreihe mit dem *Vibrio Metschnikowi* hatte ich ausschliesslich mit Culturen gearbeitet, welche durch Kochen sterilisirt waren. Da der Verdacht nahe lag, dass die Temperatur von 100° für die in Frage kommenden Giftkörper nicht ganz gleichgültig sein möchte, so ging ich zunächst an eine Vergleichung der gekochten und der mit Hülfe des Chamberland'schen Filters keimfrei filtrirten Culturflüssigkeiten. Der Versuch wurde in folgender Weise angestellt: Eine 14 Tage alte, auf ihre Reinheit geprüfte Bouilloncultur des *Vibrio M.* wurde in zwei Portionen, A und B, getheilt. A wurde $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampfkochtopf der Temperatur des strömenden Dampfes ausgesetzt, B durch Porzellanfilter gejagt.

Tabelle I giebt eine Übersicht der Thierversuche.

A. Versuche mit gekochter Bouilloncultur des *Vibrio Metschnikowi*.

Nr.	Gewicht	Dosis	Resultat	Bemerkungen
1	Meerschw. 320 g ^{mm}	4 ccm intraperiton.	+	Temperatur sinkt rapide, Tod im Laufe der Nacht.
2	270 „	2 ccm	+	Wie Versuch 1.
3	325 „	2 „	+	Dito.
4	260 „	1 „	Thier bleibt am Leben	

B. Versuche mit keimfrei durch Porzellan filtrirter Culturflüssigkeit.

5	260 g ^{mm}	4 ccm	+	Deutliche Giftwirkungen. Die Temp. sinkt langsam. Tod im Laufe der Nacht.
6	245 „	4 „	Thier bleibt gesund	Sehr geringe, rasch vorübergehende Giftwirkung.
7	300 „	2 „	dito	Kaum Spur von Giftwirkung.
8	300 „	2 „	dito	

¹ Diese Bouillonculturen gaben zu meiner Ueberraschung bei Zusatz von Schwefelsäure eine sehr schwache und undeutliche Cholerarothfärbung, während letztere Reaction vor zwei Jahren an den frisch aus Paris bezogenen Culturen ausserordentlich stark gewesen war. Ich lernte bald darauf eine Choleracultur kennen, welche gleichfalls die Cholerarothreaction zwar deutlich, aber auffällig schwach gab. Es scheint als ob grade in der Gruppe der Vibrionen rasche Aenderungen im morphologischen und biologischen Verhalten häufiger vorkommen, da ich in der Lage bin, noch über ein drittes hierher gehöriges Beispiel zu berichten. Der Deneke'sche *Vibrio*, welcher seit Jahren im hygienischen Institut auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet wird, hat im Laufe der Zeit völlig die Fähigkeit eingebüsst bei Brutttemperatur zu wachsen, während er bei Zimmertemperatur noch üppige Entwicklung zeigt.

Die durch Kochen sterilisirte Cultur ist also mindestens doppelt so giftig wie das keimfreie Filtrat der unerhitzten Bouilloncultur. Im ersteren Falle sind 2^{cem} bei mittleren Meerschweinchen die tödtliche Dosis, während von den filtrirten Culturen die doppelte Quantität (vergl. Vers. 6) noch eben vertragen wird. Wie war dies immerhin auffällige Resultat zu erklären? Es lagen da verschiedene Möglichkeiten vor, die einzeln geprüft werden mussten.

Zunächst war es denkbar, dass die fraglichen Giftstoffe erst durch den Process des Erhitzens gebildet wurden. In diesem Falle musste es gelingen durch Kochen dem keimfreien Filtrate eine erhöhte Giftwirkung beizulegen.

Tabelle II.

Versuche mit keimfreiem Filtrat, das nachträglich 1/2 Stunde im Dampfkochtopf erhitzt worden war.

Nr.	Gewicht	Dosis	Resultat	Bemerkungen
9	245 ^{grm}	4 ^{cem} intraperiton.	Thier bleibt gesund	Geringes Sinken der Temperatur bis auf 36·0. Thier erholt sich vollständig.
10	260 ..	2 ^{cem}	keine Wirkung	

Man sieht, das Thierexperiment entscheidet gegen diese Annahme.

Die Giftstoffe sind also schon in der ursprünglichen Culturflüssigkeit vorhanden. Wenn sie trotzdem nicht in das Filtrat übertraten, so kann dies nur zwei Gründe haben:

entweder lässt sie die Substanz des Filters nicht passiren,

oder sie sind in der Culturflüssigkeit unlöslich und bilden corpusculäre Massen, die im Filtrerrückstande zurückbleiben.

Wir wissen nun von den Toxinen der Diphtherie und des Tetanus, dass sie ohne weiteres im Filtrat auftreten, wenn vielleicht auch Bruchtheile der wirksamen Körper in der Filtersubstanz gebunden werden. Sollte sich dies bei dem Vibrio Metschnikowi so ganz anders verhalten? Die folgenden Versuche bringen als Experimentum crasis die Entscheidung. Wenn man nämlich die Metschnikoff-Bouillonculturen erst kocht und dann durch das Chamberland'sche Filter schiebt, so erhält man sehr viel wirksamere Filtrate, deren toxische Eigenschaften sehr nahe herantreten an die der gekochten unfiltrirten Bouilloncultur.

Tabelle III.

Versuche mit durch Kochen sterilisirter und dann durch Porzellan filtrirter Bouilloncultur des *Vibrio Metschnikowi*.

Nr.	Gewicht	Dosis	Resultat	Bemerkungen
11	Meerschw. 220 ^{grm}	3 ^{ccm} intraperiton.	+	Injection 10 Uhr. Temp. 38·5, um 12 Uhr Temper. 35·5, um 2 Uhr 34·3, gegen Abend †.
12	230 „	2 ^{ccm}	starke Gift- wirkg. Thier erholt sich	3 Stunden nach der Injection Temper- Abfall von 2°.
13	235 „	1 „	starke Gift- wirkung	Temperatur fällt 3 Stunden nach der In- jection 3·3° unter die Norm. Thier erholt sich wieder.

Für den Ausfall dieser Versuche giebt es nur eine Erklärung. Es müssen Giftstoffe, die vorher unlöslich waren, durch die Kochhitze gleichsam aufgeschlossen und in einen löslichen Zustand übergeführt worden sein, in welchem sie mit grosser Leichtigkeit durch das Porzellanfilter hindurch zu gehen vermögen.

Was sind das nun für corpusculäre Elemente, die wir in der ungekochten Culturflüssigkeit als Träger der toxischen Eigenschaften supponiren müssen, sind es einfache Niederschläge, oder sind es vielleicht die Bacterien selbst? Nichts ist leichter als die Entscheidung dieser Frage, die doch für unsere Auffassung von der Natur der Bacterientoxine von allerhöchster principieller Bedeutung ist. Man kann sich ja Bacterienkörper in beliebiger Menge und in grosser Reinheit beschaffen, wenn man möglichst frische Agaroberflächenculturen abstreift und man erhält so ein Material, mit welchem sich sehr bequem experimentiren lässt.

Soweit war ich in meinen Untersuchungen gelangt, als das Institut für Infectionskrankheiten durch die Liebenswürdigkeit des Dr. Pasquale, dem ich dadurch zu hohem Dank verpflichtet bin, aus Massaua eine Cholera-cultur erhielt, die erst $\frac{3}{4}$ Jahre auf künstlichen Nährböden fortgepflanzt war und die einen sehr hohen Grad von Giftigkeit entfaltetete. Mit dieser Cultur sind die folgenden Thierversuche angestellt worden.

II.

Als wichtigstes Resultat schicke ich die Thatsache voraus, dass Meer-schweinchen mit verschwindend geringen Mengen lebender Cholera-bacterien bei intraperitonealer Injection getödtet werden können. Schon Nicati und Rietsch hätten vom Unterhautzellgewebe aus Meer-schweinchen mit lebenden Cholera-vibriolen zu vergiften vermocht und Hüppe war es

gelingen, noch viel sinnfälligere Effecte durch Einführung von Cholera-culturen in die Bauchhöhle zu erzielen. Leider wurde Hüppe an der richtigen Deutung seiner Versuche durch die falsche Annahme gehindert, dass die Cholera-bakterien durchaus in den Darm gelangen müssen, um dort anaërobiotische Spaltungen auszulösen und so erst secundär die toxischen Substanzen zu bilden, während sie in Wahrheit, wie ich in aller Strenge beweisen werde, das Toxin in oder an ihrer Leibessubstanz schon mit sich führen.

Es galt nun zunächst die Höhe der tödtlichen Dosis zu ermitteln. Um vergleichbare Resultate zu haben, und um dem Einwurfe zu begegnen, dass die Giftwirkung durch den Bacterien beigemengte Stoffwechselproducte im früheren Sinne hervorgebracht werde, wurden ausschliesslich ganz frische, höchstens 18 Stunden alte Agaroberflächen-culturen verwendet, die bei Bruttemperatur gewachsen waren.

Mit Hülfe eines Spatels lassen sich derartige Culturen mit Leichtigkeit fast quantitativ genau abstreifen. Der mittlere Ertrag eines Agar-röhrchens betrug unter diesen Umständen etwa 30^{mg} Culturmasse. Da es zu umständlich erschien, jedesmal die zum Versuch nöthige Menge abzuwiegen und da bei den äusserst geringen Quantitäten, um die es sich hier handelte, die Fehlerquellen durch Ungenauigkeiten des Wiegens und durch Wasserverlust während des Verweilens auf der Waage, an sich sehr erheblich waren, so wurde ein anderes Verfahren zum Bestimmen der Culturmenge verwendet, welches zwar nur annähernd vergleichbare Resultate gab, sich aber doch recht gut bewährt hat. Ich verfertigte mir eine kleine Platinöse, die ich während der ganzen Versuchsreihe ausschliesslich in Anwendung zog und ermittelte durch Wägung das Gewicht der Culturmenge, die ich damit von der Agaroberfläche abstreifen konnte, so dass die Höhlung grade gleichmässig gefüllt war. Ich erhielt im Durchschnitt 1.5^{mg}, also den 20. Theil einer mittleren Agaroberflächen-cultur. Ich werde im weiteren Verlaufe dieser Abhandlung mit Agar-culturen oder deren Bruchtheilen und mit Platinösen rechnen; wobei ein für allemal eine Agar-cultur = 30^{mg} und = 20 Platinösen zu setzen ist.

Tabelle IV.

Versuche mit intraperitonealer Injection lebender Cholera-culturen.¹

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
14	440 ^{gmm}	1½ Oese intra-periton.	+	Starke Temperaturerniedrigung, † in der Nacht.

¹ Zur Injection wurde die Culturmasse mit möglichst geringen Mengen, ½ bis 1^{ccm}, steriler Bouillon aufgeschwemmt.

(Fortsetzung.)

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
15	370 ^{gmm}	$\frac{1}{2}$ Oese intraperiton.	+	Starke Temperaturerniedrigung, † in der Nacht.
16	400 „	$\frac{1}{4}$ Oese intraperiton.	starke Gift- wirkg. Thier erholt sich	Temperaturabfall 4 Stunden nach der Injection bis 35·4. Sehr langsames Ansteigen der Körperwärme. Thier erholt sich völlig.
17	200 „	1 Oese subcutan	geringe Gift- wirkung	Vorübergehende Temperatursteigerung. 3 Stunden nach der Injection von 38·3 bis 40·0, Thier völlig munter.

Aus diesen Versuchen, denen ich noch eine ganze Reihe anderer, die sämtlich positiv ausfielen, hinzufügen könnte, ist zu schliessen, dass die tödtliche Dosis lebender Choleraeultur für Meerschweinchen von ca. 400^{gmm} Gewicht bei intraperitonealer Injection etwa 1 Oese beträgt, während ausnahmsweise auch geringere Mengen bis zu $\frac{1}{2}$ Oese hinab den letalen Ausgang herbeiführen können. Bei subcutaner Injection ist der toxische Effect der Choleraeulturen erheblich geringer und dem entsprechend die letale Dosis mindestens um das 5 bis 10 fache höher zu setzen.

Das Krankheitsbild der so erzeugten Cholerae Vergiftung zeigt beim Meerschweinchen sehr charakteristische Züge. Die ersten Vergiftungssymptome treten frühestens $1\frac{1}{2}$ bis 2 Stunden nach der Injection auf. Die Thiere werden auffällig ruhig und fühlen sich schlaff an, auch macht sich sehr frühzeitig eine gewisse Muskelschwäche bemerkbar. Jetzt beginnt auch die Körperwärme rapide zu sinken, die Abnahme der Rectaltemperatur beträgt öfters 2—3° Cels. im Laufe einer Stunde. Gleichzeitig steigt die Prostration des Thieres. Dasselbe liegt platt auf dem Bauch, oder auf der Seite, unfähig sich wieder aufzurichten. Die Hinterextremitäten sind wie gelähmt, von Zeit zu Zeit durchschauern fibrilläre Zuckungen die Musculatur. Jetzt fühlt das Thier sich ganz kalt an und in der That kann seine Rectaltemperatur unter 30° Cels. gefunden werden. Der Tod erfolgt meistens 12—16 Stunden nach der Vergiftung, gelegentlich aber sieht man, wie Thiere mit einer Körpertemperatur unter 32° sich 24 Stunden und länger hinschleppen, um dann doch endlich zu Grunde zu gehen.

Ist die toxische Dosis nicht ausreichend das Thier zu tödten, so kann es sich auch bei sehr schweren Vergiftungserscheinungen wieder erholen. Die Temperatur, welche vielleicht schon auf 34° Cels. gesunken war, beginnt langsam zu steigen, das Thier wird wieder munterer und 24 Stunden später ist das so alarmirende Krankheitsbild verschwunden, ohne Folgen zu hinterlassen.

Ist die Dosis absichtlich sehr gering gewählt worden, so kann man besonders bei subcutaner Injection statt der Temperaturerniedrigung eine mehr oder weniger ausgesprochene Temperaturerhöhung bis zu 40.2° beobachten. Die Thiere sind dabei anscheinend gar nicht krank. Innerhalb weniger Stunden verschwindet das Fieber und jedes sonstige Krankheitssymptom. Das Thermometer ist also ein sehr feines Reagens, welches beim Meerschweinchen wenigstens sehr genauen Aufschluss giebt über die Intensität der Erkrankung. Ein rasches Sinken der Körperwärme ist von übelster Bedeutung.

Das ganze hier geschilderte Krankheitsbild zeigt eine so auffällige Uebereinstimmung mit dem Stadium algidum der menschlichen Cholera, dass kaum an der Identität des die Krankheitssymptome veranlassenden Giftstoffes gezweifelt werden kann. Besonders möchte ich aufmerksam machen auf die so auffällige Muskelschwäche und die Muskelkrämpfe, die auch dem Bilde der menschlichen Cholera so charakteristische Züge aufdrücken. Die Körpertemperatur verhält sich beim Menschen im Stadium algidum bekanntlich sehr verschieden, sie kann fieberhaft erhöht, normal oder subnormal sein. Ich möchte, wenn es gestattet ist, aus Meerschweinchenversuchen auf den Menschen zu schliessen, glauben, dass auch hier die Temperaturmessung prognostische Bedeutung besitzt und dass Temperaturerniedrigung auf schwerste Intoxication hinweist.

Der Sectionsbefund von Meerschweinchen, die durch intraperitoneale Injection lebender Choleraeulturen getödtet sind, bietet wenig bemerkenswerthes. Das Bauchfell ist manchmal geröthet und enthält gewöhnlich geringe Mengen einer hellgelben serösen Flüssigkeit. Die Darmschlingen können hellroth erscheinen, oft aber zeigen sie die gewöhnliche blassgraue Farbe. Leber und Milz sind schlaff, die Lungen blutreich, das Herz prall mit Blut gefüllt.

Was wird aus den injicirten Choleravibrionen?

Ich habe zur Entscheidung dieser Frage regelmässig den Peritonealinhalt, das Blut und den Darminhalt bacteriologisch untersucht und in verschiedenen Fällen sofort post mortem meine Untersuchungen vorgenommen. Das Resultat ist kurz folgendes:

Im Darminhalt habe ich niemals Cholerabakterien gefunden. Der Peritonealinhalt und das Blut wurden mehrfach, auch wenn die Section sofort post mortem stattgefunden hatte, steril gefunden. In der Mehrzahl der Fälle wuchsen aus dem Peritonealexsudat noch vereinzelt Choleravibrionencolonien, während das Blut auch dann frei davon war. In 2—3 Fällen enthielt das Peritoneum zahlreiche lebensfähige Cholerakeime, sodass aus einer Oese des Transsudates etwa 100 Colonien auf-

gingen, und auch im Herzblut waren unter diesen Umständen Cholera-vibrionen in geringer Anzahl nachweisbar. Man darf hieraus den Schluss ziehen, dass die in das Peritoneum injicirten Cholera-vibrionen für gewöhnlich rasch abgetödtet werden, was an sich nicht so wunderbar ist, seit wir wissen, dass das Serum der verschiedensten Thierspecies gerade die Cholera-bakterien sehr energisch vernichtet. Wenn die Thiere trotzdem an den Koch'schen Vibrionen zu Grunde gehen, so kann man nicht mehr von Infection reden, sondern muss den Krankheitsprocess als Intoxication auffassen. Was ist nun das vergiftende Princip? Sind es im Peritoneum gebildete Stoffwechselproducte, oder ist es die Bacillensubstanz selbst? Die Entscheidung beruht auf leicht anzustellenden Versuchen. Ist nämlich die letztere Annahme richtig, so muss es gelingen, dieselben Vergiftungssymptome auch mit todtten Cholera-bakterien anzustellen, und es muss die letale Dosis der todtten Bacillenleiber eine Grösse von derselben Ordnung sein, wie die der lebenden Vibrionen. Sie braucht nicht gleich zu sein, eine derartige Forderung würde vielmehr über das Ziel hinaus-schiessen. Injicirt man nämlich die lebenden Cholera-mikroorganismen in der von mir geübten Weise mit geringen Mengen von Bouillon in die Bauchhöhle, so muss zunächst eine rapide Vermehrung der Bacterien eintreten, die so lange dauert, bis die Beimischung des transsudirenden Serums gross genug wird, um entwicklungshemmend und dann abtödtend zu wirken.¹

Es galt nun Mittel zu finden, welche auf die Koch'schen Vibrionen sicher desinficirend wirken, ohne die Giftsubstanz zu zerstören. Wie später gezeigt werden wird, ist das gar keine so einfache Sache. Schliesslich fand ich in Chloroform und Thymol geeignete Desinficientien. Wahrscheinlich würde die Zahl der verwendbaren chemischen Körper sich erheblich vermehren lassen. Doch kam es mir nur darauf an, meine theoretischen Voraussetzungen zu prüfen, so dass ich nicht weiter darnach gesucht habe.

Ich verfuhr in folgender Weise: Wie gewöhnlich wurde eine bestimmte Zahl von Platinösen der frischen Cholera-agarcultur mit etwas Bouillon verrieben. Nun fügte ich einen Tropfen Chloroform hinzu, schüttelte eine Minute, liess das Chloroform absetzen und goss die überstehende Bouillon vorsichtig ab in ein offenes steriles Schälchen, in welchem innerhalb weniger Minuten der letzte Rest des Chloroforms verdunstete. Bei den Thymolexperimenten war die Bouillon vor dem Hinzufügen der Cholera-cultur mit Thymol gesättigt worden. Mit dieser Thymolbouillon wurde

¹ Diese anfängliche Vermehrung der lebend eingeführten Cholera-bacillen fällt natürlich weg wenn abgetödtete Culturen zur Verwendung kommen. Man muss sie aber in der Bemessung der Dosis berücksichtigen.

die Cholera-cultur aufgeschwemmt und eine Stunde bei Zimmertemperatur gehalten. Controlplatten ergaben in jedem Falle, dass die so erhaltene Desinfection der Cholera-bakterien durch Chloroform oder Thymol eine vollständige war. Das Thymol konnte nun aus der Bouillon nachträglich nicht so einfach beseitigt werden, wie das Chloroform. Ich habe mich daher durch ein Controlexperiment versichert, dass derartige Thymolbouillon in Mengen, wie sie bei meinen Versuchen in Frage kamen, für Meerschweinchen völlig indifferent ist.

Die Wichtigkeit der folgenden Thierversuche wird eine etwas breitere Darstellung entschuldigen.

Tabelle V.
Versuche mit durch Chloroform abgetödteten Cholera-culturen.

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
18	Meerschw. 370 ^{grm}	3 Oesen intra- peritoneal	+	Injection Mittags 2 Uhr 30 T. 38·6 4 „ 36·7! 6 „ 36·0 7 „ 35·2 † in der Nacht. Sectionsbefund negativ. Peritoneum u. Herzblut vollständ. steril.
19	180 „	2 Oesen intraperiton.	+	Injection Vormitt. 11 Uhr 30 T. 38·6 2 „ 37·0 4 „ 35·5 6 „ 34·0! 9 „ 33·5 † in der Nacht. Peritoneum und Blut steril.
20	300 „	2 Oesen	deutliche, aber nicht letale Gift- wirkung	Injection 11 Uhr T. 38·7 1 „ 37·7 3 „ 37·0 5 „ 36·4 } Thier 6 „ 35·9 } sehr 7 „ 36·2 } krank. Am andern Tage T. 39·0. Thier wieder ganz munter.
21	240 „	2 Oesen	ganz leichte Intoxication	Injection Vormitt. 10 Uhr 20 T. 38·9 12 „ 40·8! 2 „ 40·3 5 „ 40·1 8 „ 39·2 Am andern Tage hat das Thier sich ganz erholt.

Tabelle VI.

Versuche mit durch Thymol abgetödteten Cholerculturen.

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
22	280 ^{grm}	2 Oesen in 1 ^{cem} Thymol- bouillon intra- peritoneal	+	Injection Mittags 1 Uhr 30 T. 38·9 3 34·6 4 31·5 6 30·0 † in der Nacht. Peritoneum und Blut frei von Cholerculturen.
23	300 „	2 Oesen mit 2 ^{cem} Thymol- bouillon intra- peritoneal	schwere Vergiftung	Injection 11 Uhr 30 T. 38·9 2 „ 35·6 } Thier 4 „ 35·5 } sehr 6 „ 35·8 } krank 8 „ 38·2 } Am anderen Tage Thier wieder munter.
Controlthier.				
24	395 „	4 ^{cem} Thymol- bouillon intra- peritoneal	keine Spur von Gift- wirkung	Injection Nachm. 3 Uhr T. 33·1 4 „ 37·7 6 „ 37·9 Am andern Morgen T. 33·0. Thier ganz munter.

Ich glaube man kann Tabelle V und VI für sich selbst sprechen lassen. Die tödtliche Dosis der durch Chloroform oder Thymol abgetödteten Cholerculturen liegt nach diesen Versuchen zwischen 2 und 3 Oesen für ein mittleres Meerschweinchen von 300 ^{grm} Gewicht, sie ist also etwa 3 mal höher als die der lebend injicirten Cholerculturen, was den theoretischen Erwägungen sehr schön sich anpasst. Für ein Kilo Thier ergibt eine einfache Rechnung $\frac{1000}{300} \times 3 \times 1.5 \text{mg} = 15 \text{mg}$ der abgetödteten Cultur als sichere letale Dosis; wahrscheinlich aber ist diese Zahl eher noch etwas zu hoch gegriffen. Rechnen wir den Gehalt an Trockensubstanz zu durchschnittlich 16%, so ergibt sich das Gewicht der wasserfreien Cholerculturen, welche ein Kilogramm Meerschweinchen tödtet, zu 2.5 mg. Hiervon sind aber noch die Aschenbestandtheile in Abzug zu bringen, so dass die letale Dosis, auch unter der Voraussetzung, dass die ganze übrig bleibende Trockensubstanz aus Giftstoff besteht, eine Voraussetzung, die schwerlich zutreffend sein wird, als ganz unerwartet minimal sich darstellt.

In der Hoffnung, dass es nach den bekannten und vielfach geübten Methoden der Toxalbumindarstellung gelingen würde, auch das Cholerculturen gift reiner zu erhalten, versuchte ich zunächst die Wirkung der am meisten verwendeten Chemikalien auf diese Giftkörper zu prüfen. Das Thierexperiment gab mir ja ein bequemes Mittel in die Hand jeden chemischen Eingriff zu controliren und festzustellen, ob dadurch eine Con-

densation oder im Gegentheil eine Zerstörung der toxischen Principien verursacht wird. Der Chemiker ist geneigt, den Alkohol für ein relativ indifferentes Fällungsmittel zu halten. Indessen haben schon Brieger, Proskauer und Wassermann für das Diphtheriegift und Kitasato für das Toxin des Tetanus bewiesen, dass Alkohol diese Giftkörper wenigstens theilweise zu zersetzen vermag. Wie verhält sich dies bei der Cholera?

Ich nahm frische Choleraagarculturen und verrieb sie mit einem Ueberschuss von Alcohol absolutus. Nach längstens einer halben Stunde wurde der Alkohol abgegossen, der feinpulverige Bodensatz durch freiwillige Verdunstung von Alkohol befreit und dann mit ein wenig Bouillon verrieben zur Injection benutzt.

Tabelle VII.

Versuche mit durch Alcohol absolutus abgetödteten Cholera-culturen.

Nr.	Gewicht	Dosis	Resultat	Bemerkungen
25	400 ^{grm}	3 ganze Agar-culturen intraperiton.	+	Injection Vormitt. 11 Uhr T. 38·4 11 .. 30 34·7! 12 .. 32·9 4 .. unter 32·0 7 .. 32·0 † am Abend.
26	400 ..	1 ganze Agarcultur intraperiton.	schwere Vergiftung. Thier erholt sich.	Injection 2 Uhr 40 T. 38·7 4 .. 34·6! 7 .. 34·0 } schwer krank Tag darauf 8 Uhr Morgens T. 37·3 3 .. Mittags 39·3 Thier gesund geblieben.
27	440 ..	1/3 Agarcultur intraperiton.	Vergiftung mittleren Grades	Injection 1 Uhr T. 38·7 2 .. 30 39·0 4 .. 30 36·4 } deutlich krank. 7 .. 35·8 } Am andern Morgen hat sich das Thier ganz erholt.
28	400 ..	2 ganze Agarculturen subcutan	schwere Vergiftung	Injection 12 Uhr T. 38·8 2 .. 35·2 4 .. 35·1 7 .. 34·5 Tags darauf Morgens 37·9 Mittags 38·1 Thier hat sich ganz erholt. Stirbt 7 Tage später an einem durch Staphylokokken verursachten Abscess an der Impfstelle.
29	450 ..	1 ganze Cultur	leichte Vergiftung	Injection 10 Uhr T. 38·1 12 .. 40·1 } Thier bleibt 2 .. 39·4 } gesund. 4 .. 38·5 }

Die Giftigkeit der durch Alkohol abgetödteten Choleraculturen ist demnach sehr viel geringer als die der lebenden oder mit Chloroform behandelten Culturen, denn es bedarf, um den Tod oder schwere Vergiftungssymptome herbeizuführen der 10 bis 20 fachen Dosis. Also hat der Alkohol den Giftstoff entweder zum grössten Theil zerstört oder ihn in eine weniger wirksame Modification übergeführt. Das sehr schnelle Auftreten der Vergiftungserscheinungen in Versuch 25 und 26 beweist, dass diese Modification in den Körpersäften gut löslich ist. Es erscheint mithin der Alkohol als ein sehr wenig geeignetes Mittel zur Reindarstellung des Choleragiftes.

Vielleicht aber boten die concentrirten Lösungen der Neutralsalze günstigere Chancen. Ich verrieb grössere Quantitäten der frischen Agarculturen mit etwas Bouillon und tropfte die Aufschwemmung in einen grossen Ueberschuss einer concentrirten wässrigen Lösung des schwefelsauren Ammons. Es entstand eine Trübung, die sich nach 24 Stunden in zarten Flocken absetzte. Dieser Niederschlag wurde abfiltrirt, durch Absaugen mittelst Filterpapiers nach Möglichkeit von dem anhaftenden Ammonsalz gereinigt und dann in wenig steriler Bouillon vertheilt. Diese Aufschwemmung, welche sich als steril erwies, hatte eine auffällig schleimige Beschaffenheit, die auf tiefgreifende chemische Zersetzungen der Bacterien-substanz hinwies. Dementsprechend fand sich auch die Giftwirkung alterirt.

Tabelle VIII.

Versuche mit Choleraculturen, die 24 Stunden mit concentrirter Lösung von schwefelsaurem Ammon behandelt waren.

Nr.	Gewicht	Dosis	Resultat	Bemerkungen				
30	480 ^{grm}	eine ganze Agarcultur intraperiton.	geringe Giftwirkung	Injection 11 Uhr 30 T. 38·1				
				2 „ 30·3				
				3 „ 37·9				
				5 „ 37·8				
				7 „ 38·2				
				9 „ 38·1				
				Thier bleibt gesund.				
				31	270 „	desgl.	+	Injection 11 Uhr 30 T. 38·4
								1 „ 35·4
2 „ 33·4								
5 „ 32·0								
7 „ 31·5								
9 „ 29·5								
† in der Nacht. Im Peritoneum und im Blut keine Cholerabacterien.								
32	200 „	desgl.	schwere Vergiftung	Injection 11 Uhr 30 T. 39·4				
				1 „ 15 36·6				
				4 „ 35·9				
				8 „ 34·0!				
				Thier schwer krank. Am anderen Morgen ist das Thier wieder ganz munter.				

Also auch die Salzlösungen sind nicht indifferent, sondern schwächen die Giftwirkung ganz ebenso wie der Alkohol. Offenbar handelt es sich hier um Körper von sehr grosser Labilität, und es war angezeigt, ihr Verhalten weiteren Reagentien gegenüber zu prüfen.

Koch hatte gezeigt, dass die Cholera-bakterien durch Eintrocknen sehr rasch und sicher getödtet werden können. A priori musste gerade dieser Modus der Abtödtung sehr schonend erscheinen, da so hoch complicirte Molecüle wie das lebende Protoplasma der meisten Bacterien und mancher Infusorien dadurch gar nicht tangirt wird. Zu diesem Behufe wurden frische Cholera-agar-culturen in dünner Schicht auf sterilen Glasschalen ausgebreitet und dann 24 Stunden bei 37° C. im Finstern getrocknet. Controlversuche ergaben nach dieser Frist Sterilität der getrockneten Massen. Letztere wurden nur zur Injection mit wenig Bouillon aufgeschwemmt.

Tabelle IX.
Versuche mit getrockneten Cholera-culturen.

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
33	380 g ^{cm}	$\frac{3}{4}$ Agar-cultur intraperiton.	+	Injection 10 Uhr 30 T. 38·6
				12 „ 30 34·7
				3 „ 32·0
				6 „ 31·5
				8 „ 30·5
				† in der Nacht. Peritoneum und Blut frei von Cholera-bacillen.
34	290 „	$\frac{1}{3}$ Agar-cultur intraperiton.	+	Injection 11 Uhr 30 T. 38·5
				12 „ 30 36·2
				2 „ 33·4
				3 „ 31·5
				6 „ 33·0
				Tags darauf 8 „ 31·0
				10 „ 32·0
Mittags 3 „ 28·5				
† 28 Stunden nach der Injection. Sofort post mortem Obduction. Peritoneum, Blut Darminhalt frei von Cholera-bacterien.				
35	375 „	$\frac{1}{4}$ Agar-cultur	+	Injection 11 Uhr 30 T. 38·2
				2 „ 39·5
				3 „ 39·6
				4 „ 38·2
				6 „ 37·9
				8 „ 36·5
† im Laufe der Nacht.				
36	250 „	eine Oese	leichte Vergiftung	Injection 11 Uhr T. 38·3
				1 „ 39·2
				2 „ 40·1
				4 „ 39·8
				7 „ 38·8
				Normal.

Durch Trocknen sterilisirte Culturen haben demnach einen beträchtlichen Grad von Wirksamkeit bewahrt und stehen darin den mit Chloroform behandelten Culturen am nächsten. Die tödtliche Dosis für ein Meerschweinchen von 300^{grm} Gewicht liegt etwas unterhalb $\frac{1}{4}$ Agarcultur und dürfte 4—5 Oesen betragen.

Tabelle X.
Versuche mit durch Hitze sterilisirten Choleraeulturen.

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
37	200 ^{grm}	eine ganze Agarcultur eine Stunde auf 60° C. erwärmt, intraperiton.	sehr schwere Vergiftung. Thier kommt davon.	Injection 11 Uhr T. 38·6
				1 .. 37·2
				3 .. 36·0
				5 .. 34·0
				7 .. 33·0
				Tags darauf 9 .. 33·0
				1 .. 32·0
				7 .. 34·0
				Am 3. Tage hat sich das Thier wieder erholt.
38	195 ..	eine ganze Agarcultur einmal aufgeköcht intraperiton.	schwere Vergiftung. Das Thier erliegt einer Secundärinfection.	Injection 9 Uhr 30 T. 38·4
				1 .. 38·0
				2 .. 37·1
				3 .. 35·6
				4 .. 34·0
				8 .. 34·0
				Tags darauf 9 .. 36·3
				1 .. 36·0
5 .. 35·5				
				† in der Nacht. Im Herzblut grosse Mengen von kapseltragenden, ziemlich plumpen Bacillen.
39	375 ..	eine ganze Agarcultur 2 Stunden im Dampfkochtopf erhitzt.	schwere Intoxication mit gutem Ausgang	Injection 1 Uhr 30 T. 38·5
				3 .. 38·8
				5 .. 36·5
				6 .. 35·7
				Tags darauf 9 .. Morgens 34·5
				1 .. Mittags 33·8

Die Hitze vernichtet nach vorstehenden Versuchen sofort den grössten Theil der Choleragiftwirkung. Diese Abschwächung der Toxicität findet schon statt bei 60° nach einer Stunde, sie tritt augenblicklich ein nach einmaligem Aufkochen und wird auch nach zweistündigem Verweilen im Dampfkochtopf nicht deutlicher merklich. Es hat also ganz den Anschein, als ob das in den Cholera-vibrionen enthaltene primäre Toxin durch die Hitze fast momentan in eine secundäre Modification übergeführt wird,

die dann aber bei weiterem Erhitzen sehr stabil sich verhält. Es ist dies wahrscheinlich ein ganz ähnlicher Giftkörper, wie derjenige, der in den durch Kochen sterilisirten Metschnikoff-Culturen enthalten ist. Auch Alkohol und concentrirte Salzlösungen verwandeln, wie früher gezeigt wurde, das primäre Toxin in weniger wirksame secundäre Producte. Ob diese secundären Cholera gifte alle identisch sind, lässt sich schwer entscheiden. Ein Umstand spricht gegen die Identität. Die gekochten Cholera culturen erzeugen nämlich Krankheitserscheinungen von auffällig protahirtem über 48 Stunden sich hinziehendem Verlauf, wie solche sonst nur ganz ausnahmsweise zu beobachten waren. Aber nur sehr eingehende Untersuchungen könnten diese Frage völlig klar stellen.

Wie verhalten sich die Cholera gifte in Bouillon culturen? Eine 20 Tage alte bei 37° in 4procentiger Glycerinbouillon gezüchtete Cholera cultur wurde durch das Chamberland'sche Filter gejagt. Das Filtrat war in Dosen von 4^{cem} bei intraperitonealer Injection so gut wie ungiftig.

Tabelle XI.

Versuche mit keimfreiem Filtrat einer 20 Tage alten Cholera cultur in 4 Procent Glycerinbouillon.

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen
40	400 ^{grm}	3 ^{cem} intraperiton.	geringe Vergiftung	Inject. 1 Uhr T. 38·3
				3 „ 39·8
				4 „ 40·7! Thier ganz munter
				5 „ 40·2
				8 „ 39·2 gesund geblieben.
41	370 „	4 ^{cem} intraperiton.	geringer Effect	Inject. 10 Uhr T. 39·0
				12 „ 37·5
				3 „ 37·6 Thier kaum krank
				5 „ 37·8
				8 „ 38·0

Die Giftsubstanz geht also grade wie bei dem Vibrio Metschnikowi nicht in das Filtrat über.

Vielleicht aber ist sie, wie manche Fermente, in concentrirtem Glycerin löslich. Ich nahm 12 ganze, sehr üppige, frische Agarculturen, kratzte sie ab und verrieb sie mit 4^{cem} Glycerin. Diese Emulsion verblieb 24 Stunden im Brütschrank, wurde dann mit 6^{cem} Bouillon vermenget und durch Porzellan filtrirt.

Tabelle XII.

Versuche mit keimfrei filtrirtem Glycerinextract frischer Choleraeulturen.

Nr.	Gewicht	Dosis	Resultat	Bemerkungen
42	285 ^{grm}	0·1 Extract intraperiton.	keine Wirkung	—
43	340 „	0·2 dito.	keine Wirkung	—
44	290 „	1·0! Extract	Glycerin- vergiftung	Inject. 2 Uhr T. 38·8 4 „ 38·7 Thier recht krank 6 „ 38·4 8 „ 38·0 Thier erholt sich, gesund geblieben.

Glycerin ist also nicht im Stande; aus lebenden Choleraeulturen giftige Stoffe zu extrahiren, denn selbst in Versuch 44, wo 1 ^{cem} Extract, in welchem die in Glycerin löslichen Antheile einer ganzen Choleraeultur enthalten waren, injicirt wurde, trat keine Herabsetzung der Temperatur auf, sodass die beobachtete Hinfälligkeit des Thieres wahrscheinlich auf die hohe Glycerindosis zu schieben ist.

Alle bisher aufgeführten Versuche waren mit der aus Massaua erhaltenen Choleraeultur angestellt worden. Ich musste mir die Frage vorlegen, ob die auffälligen, von mir beobachteten Giftwirkungen eine spezifische Eigenthümlichkeit dieser Cultur waren, oder ob auch mit Choleraeulturen anderer Herkunft ähnliche Resultate erzielt werden konnten.

Tabelle XIII.

Vergleichende Versuche über die Giftwirkung lebend injicirter älterer, seit Jahren fortgezüchteter Choleraeulturen und des Finkler'schen Vibrio.

Nr.	Gewicht	Dosis	Erfolg	Bemerkungen	
45	170 ^{grm}	3 Oesen alter Choleraeultur intraperiton.	+	Injection 10 Uhr 20 T. 38·6	
				12 „ 38·6	
				2 „ 38·0	
				4 „ 34·5	
				6 „ 30·0	
	8 „ 25·5!				
					† in der Nacht.
	170 „	5 Oesen Vibrio Finkler intraperiton.	+	Injection 10 Uhr 20 T. 38·7	
				12 „ 38·6	
				1 „ 34·0	
2 „ 28·0					
4 „ 27·5					
6 „ 25·5					
				† 7 Uhr Abends.	

Es fand sich also, dass die seit Jahren im hygienischen Institut fortgezüchtete Cholera, die wir uns gewöhnt hatten, als ganz harmlos anzu-

sehen, doch sehr unangenehme Vergiftungserscheinungen hervorzubringen vermochte, und Aehnliches galt auch von den Finkler'schen Vibrionen. Es scheint, als ob die Vibrionen eine sehr nahe zusammengehörige Gruppe bilden, die sich nur durch untergeordnete Merkmale, stärkere oder geringere Wachstums-Intensität, Bildung grösserer oder geringerer Mengen Gelatine-verflüssigender Fermente unterscheiden.

Zu welcher Classe von chemischen Körpern gehört das primäre Cholera-gift? So viel lässt sich mit Bestimmtheit behaupten, dass es eine hochcomplicirte und sehr labile Substanz sein muss, die in engen Beziehungen steht zu dem Bacterienprotoplasma, vielleicht dieses selbst ist. Wir nennen derartige Stoffe Eiweisskörper. Somit wäre es ein giftiger Eiweisskörper, ein Toxalbumin. Gegen diese Ausführungen lässt sich kaum ein stichhaltiger Einwand erheben, nur muss man sich klar machen, dass der Name Toxalbumine in dem hier gebrauchten Sinne etwas anderes bedeutet, als was sonst unter dieser Bezeichnung in der Bacteriologie gebräuchlich ist. Der Chemiker will definirbare Körper haben, die bestimmte chemische Reactionen geben und daran stets wieder erkannt werden können. Wo sie ihm nicht von selbst entgegentreten, da stellt er sie sich dar. So zerlegt er das Blutserum in Albumine und Globuline, so hat er auch versucht, die sonst unfassbaren Bacteriengifte in eine chemisch definirbare Form zu bringen. Ich glaube aber nicht, dass man im Stande ist, durch Auflösen und Mischen der einmal gefällten Globuline und Serumalbumine das ursprüngliche Serum mit all' seinen Eigenschaften zu restituiren. So können auch die giftigen Niederschläge, die aus Bacterienculturen herstellbar sind, unter Umständen durch die Fällungsmittel eine gewisse Modification erleiden. Ich halte es für wichtig, an dem Cholera-gift von neuem den Beweis geführt zu haben, dass bei diesen meist sehr zersetzlichen Stoffen auch die schonendsten Manipulationen unter Umständen versagen, und dass dabei die Giftsubstanz uns unter den Händen zerrinnen kann. Das soll keine Entmuthigung für den physiologischen Chemiker sein, sondern eine Aufforderung, neue Methoden zu ersinnen. Ich glaube, dass diese giftigen Eiweisskörper hier sehr nützlich werden können, indem gerade ihre toxischen Eigenschaften uns befähigen, bei jedem Schritte vorwärts den Thierversuch zu Rathe zu ziehen. Die Pasteur'sche Schule liebt es, die Bacteriengifte als Enzyme aufzufassen. Das ist reine Geschmacksache, denn chemisch definirbar sind die Enzyme bis jetzt ebensowenig wie das, was ich unter dem Begriff Eiweisskörper verstanden wissen will. Uebrigens möchte ich hier erwähnen, dass junge Cholera-culturen in besonders hohem Grade mit Guajak und Wasserstoffsperoxyd Blaufärbung zeigen, eine Reaction, die als Ferment- Reaction bekannt ist, die übrigens in irgend einem Grade allen Bacterienspecies zuzukommen scheint.

Es ist hier der Ort, einen kurzen Rückblick zu werfen auf die Vorstellungen, welche die Bacteriologen sich von den Bacteriengiften gemacht haben. Alles, was sich hier sagen lässt, liegt in dem einen oft gehörten Wort „Stoffwechselproducte“. Man dachte sich die Thätigkeit der Bacterien ähnlich wie die der Hefezellen, nur dass die ersteren Gifte aus gewissen Bestandtheilen ihres Nährbodens, die letzteren Alkohol aus Zucker abspalten. Auch die Cholera-bacterien bilden Stoffwechselproducte in diesem Sinne, aber ihre specifischen Giftstoffe stehen doch in zu engem Connex zu ihrer Körpersubstanz, als dass ich sie zu den Stoffwechselproducten, die doch mehr oder weniger Excretionsstoffe darstellen, rechnen möchte: Ich behalte es mir vor, diese Fragen an anderen pathogenen Bacterien weiter zu verfolgen.

Das primäre Cholera-gift ist bisher als solches unbekannt und unstudirt geblieben. Dagegen ist die durch Kochen entstehende secundäre Giftsubstanz von Petri genauer untersucht worden. Seine Resultate sind sehr lehrreich. Sie zeigen, dass unsere bisherigen chemischen Methoden nicht einmal zur Darstellung eines Körpers genügen, der mehrstündiges Kochen unzersetzt aushält. Petri selbst muss zugeben, dass sein „Toxo-pepton“, dessen letale Dosis zwischen 0.36 und 1.87^{grm} pro Kilo Meer-schweinchen schwankt, viel weniger wirksam ist als das Ausgangsmaterial. Damit ist aber dem Toxo-pepton das Urtheil gesprochen.

Die Angaben von Brieger und Fränkel über Cholera-gift sind etwas knapp, so dass man sich von der Natur ihrer Giftkörper nur unbestimmte Vorstellungen bilden kann; sie scheinen secundäre Giftstoffe in den Händen gehabt zu haben.

Eine gewisse Berücksichtigung verdient noch der Hüppe'sche Standpunkt. Hüppe legt das Hauptgewicht auf die anaerobe Lebensweise, welche die Cholera-bacterien im Darmcanal führen und durch welche sie erst zur Abspaltung hochgiftiger Stoffwechselproducte befähigt werden sollen. Schade nur, dass die positiven Beweise dieser blendenden Hypothese in so geringem Grade zur Seite stehen. Scholl hat nach Hüppe's Vorgang Cholera-bacterien in Eiern gezüchtet. Nach 18 Tagen wurden die Eier geöffnet, rochen stark nach Schwefelwasserstoff und tödteten Meerschweinchen bei intraperitonealer Injection in wenigen Minuten. Nun riechen Eier, die mit im hygienischen Institut fortgezüchteter Cholera besät sind, niemals nach Schwefelwasserstoff, sondern zeigen höchstens einen eigenthümlich aromatischen Geruch, was Petri gefunden und Dr. Mueshold, welcher diese Frage auf meine Veranlassung untersuchte, lediglich bestätigt hatte. Doch giebt uns der Schwefelwasserstoffgeruch vielleicht den Schlüssel für die sonderbaren Giftwirkungen, die Scholl beobachtet hatte. Man kann nämlich ganz das gleiche Vergiftungsbild jeden Moment erzielen, wenn man Meerschweinchen ganz geringe Mengen, 2 bis 3^{mg}

Schwefelammon in die Bauchhöhle spritzt. Ich kann daher die Scholl'schen Versuche zunächst nicht als einwandfrei betrachten.

Aber die Anaërobie der Choleraerkrankung hat doch etwas mit der Entstehung der Choleraerkrankung zu thun.

Choleraerkrankungen, die anaërob üppig wachsen, werden natürlich am ehesten geeignet sein, im Darmcanal abundant zu wuchern und dadurch grosse Mengen ihrer specifischen Giftstoffe zu bilden. Es scheint, als ob man künstlich die Koch'schen Vibrionen an eine anaërobie Existenz gewöhnen kann. Jedenfalls können Experimente, die ich vor länger als zwei Jahren angestellt habe, sehr wohl in diesem Sinne gedeutet werden. Wenn ich nämlich Meerschweinchen nach der Koch'schen Methode vom Darmcanal aus mit Cholera inficirte und den vibrionenhaltigen Darminhalt immer von Thier zu Thier übertrug, so genügten bei jeder neuen Passage geringere Mengen des Darminhaltes, um die Krankheit zu übertragen. Gleichzeitig änderte sich aber das Wachstum der reingezüchteten Choleraerkrankungen in Bouillonröhrchen. Während die Ausgangscultur auf der Bouillon bei 37° nach 2 Stunden ein dichtes Häutchen bildete, das auf der sonst völlig klaren Flüssigkeit schwamm, trübte schon nach der fünften Passage sich das ganze Röhrchen, aber das Oberflächenhäutchen war noch vorhanden. Nach der zehnten Passage war unter gleichen Umständen von Häutchenbildung nichts mehr zu sehen, dagegen fand sich eine gleichmässige und intensive Trübung der Bouillon. Da die Häutchenbildung doch wohl so zu Stande kommt, dass die betreffenden Bacterien den Luftsauerstoff gierig aufsuchen, so bedeutet ein Ausbleiben des Oberflächenwachstums ein geringeres Sauerstoffbedürfniss und eine Gewöhnung an anaërobie Wachstum.

Kurze Zusammenfassung der Ergebnisse.

In ganz jungen, aërob gezüchteten Choleraerkrankungen ist ein specifischer Giftstoff enthalten, welcher ausserordentlich intensive toxische Effecte entfaltet. Dieses primäre Choleraerkrankungsgift steht in sehr enger Zusammengehörigkeit zu den Bacterienleibern und ist vielleicht ein integrierender Bestandtheil derselben. Durch Chloroform, Thymol und durch Trocknen können die Choleraerkrankungsvibrionen abgetödtet werden, ohne dass dieser Giftstoff anscheinend verändert wird.

Alcohol absolutus, concentrirte Lösungen der Neutralsalze, Siedehitze zersetzen ihn und lassen secundäre Giftkörper zurück, die eine ähnliche physiologische Wirkung haben, aber erst in der 10 bis 20fachen Dosis den gleichen toxischen Effect erzielen.

Auch die anderen Mitglieder der Vibrionenfamilie, der *Vibrio Metschnikowi* und der Finkler'sche *Kommabacillus* enthalten nahe verwandte Giftstoffe.

Nachtrag.

Während der Drucklegung dieser Arbeit erschien in Nr. 53 der *Deutschen medicinischen Wochenschrift*, Jahrgang 1891, ein Aufsatz von Hüppe: Aetiologie und Toxicologie der Cholera asiatica. Hüppe verfiicht darin von neuem seinen Standpunkt, dass erst die Anaërobiose die Cholera-bakterien befähigt, im Darmcanal giftige „Spaltungsproducte“ zu bilden. Sie bedürfen, um unter Luftabschluss wachsen zu können, eines ganz besonderen Nährbodens, der vor allem reich an genuinen Eiweisskörpern sein muss, und nach Hüppe's Ansicht sind demnach rohe Eier ein besonders geeignetes Material für das Studium der Giftwirkung der Koch'schen Vibrionen. Es entstehen unter diesen Umständen Giftkörper, die sich chemisch wie Peptone verhalten, und die in der Dosis von 0.2 grm pro Kilo Thier Meerschweinchen innerhalb weniger Minuten unter Lähmungs- und Krampf-Erscheinungen zu tödten vermögen. — Leider muss ich bekennen, dass meine Untersuchungen mich auf einen Standpunkt geführt haben, welcher dem Hüppe'schen diametral entgegengesetzt ist. Meiner Auffassung nach hat die Anaërobiose mit der Giftwirkung der Cholera-bacillen direct nicht das Mindeste zu thun. Es handelt sich eben gar nicht um Spaltungsproducte, die unter dem Einfluss der Cholera-bacillen aus den complicirteren Molekeln des Nährmaterials abgeschieden werden, sondern um toxische Stoffe, die wahrscheinlich als integrirende Bestandtheile zum Zellenleibe der Cholera-vibrionen gehören und die deshalb unter allen Verhältnissen, wo diese Mikroorganismen wachsen, aërob oder anaërob gebildet werden können. Auch das genuine Eiweiss ist überflüssig. Das gewöhnliche Pepton, Nähragar und Peptonbouillon genügen den Cholera-bakterien, um ihre giftige Leibessubstanz zu bilden. Die Beschreibung, die Hüppe von dem toxischen Effect seiner anaërobiotischen Spaltungsproducte liefert, ist nichts weniger als klar; aber soviel geht daraus hervor, dass ihre Wirksamkeit wenigstens 100 mal geringer ist, als die der aërob gewachsenen Bacillenleiber, sei es, dass diese lebend, oder durch Chloroform abgetödtet injicirt werden. Ich möchte glauben, dass diese Thatsache genügt, um darzuthun, dass Hüppe mit seiner Hypothese recht weit vom richtigen Wege abgeirrt ist und dass trotz Hüppe's Deductionen die Koch'schen Anschauungen über das Wesen des Cholera-processes noch jetzt völlig zu Recht bestehen und auch durch meine eigenen Untersuchungen lediglich bestätigt werden.