wohlcharakterisierter Typen, nämlich der antitoxischen und der bakteriziden Antistoffe geführt. Zweifellos steht wenigstens die überwiegende Mehrzahl der deutschen Forscher auf dem Standpunkte, daß nur diese beiden Arten der Serumwirkung einwandfrei nachgewiesen und im großen und ganzen auch in ihren Einzelheiten klargelegt sind. Insbesondere hat sich im Laufe der zahlreichen Untersuchungen eine befriedigende Uebereinstimmung zwischen den Versuchen im Reagenzglas und den Vorgängen im Tierkörper ergeben: die Neutralisation von Gift und Antitoxin bei einem antitoxischen, die Auflösung der Bakterien durch die gemeinsame Einwirkung von Amboceptor plus Komplement bei einem bakteriziden Serum, diese Vorgänge verlaufen, wie wir heute nachzuweisen imstande sind, sowohl im Reagenzglas wie im Tierkörper durchaus nach denselben Gesetzen.

Nun findet man aber weiterhin vielfach die Anschauung vertreten, als ob mit den genannten beiden Typen alle Möglichkeiten einer spezifischen Serumwirkung überhaupt erschöpft seien, als ob jedes spezifisch wirksame Serum mit Notwendigkeit entweder dem einen oder dem andern Typus folgen müsse. Insbesondere finden wir mehrfach folgende Schlußfolgerung: Ein Autor untersucht ein Serum, welches im Tierversuch sich als hochwirksam erwiesen hat, und findet, daß dasselbe durchaus keine antitoxische Wirkung besitzt; hieraus schließt er, in der stillschweigenden Voraussetzung, daß es ein drittes nicht gäbe, daß sein Serum ein bakterizides sei, ohne daß er weder im Reagenzglas noch im Tierversuche eine Auflösung oder Abtötung der Bakterien durch das Serum nachgewiesen hat.

Unsere Untersuchungen haben uns zu dem Resultat geführt, daß ein derartiger Schluß nicht zulässig ist, daß es vielmehr noch eine dritte Art von spezifischer Serumwirkung gibt, welche weder dem Typus der antitoxischen noch dem der bakteriziden Sera folgt. Dieselbe steht zwar nach unserer Ansicht im Prinzip der bakteriziden nahe, aber sie bedarf im Gegensatz zu dieser einer direkten zellulären Mitwirkung, und unsere entscheidenden Experimente knüpfen an ältere Versuche an, die vollkommen unter dem Einfluß der Metschnikoffschen Phagozytentheorie entstanden sind.

Im Jahre 1895 veröffentlichten Denys und Leclef¹⁾ eine wertvolle Arbeit über den Mechanismus der Immunität gegen Streptokokken. Sie kamen dabei zu dem Schlusse, daß diese Immunität auf zwei Faktoren beruhe, nämlich einmal auf einer direkten bakteriziden Einwirkung des Serums, zweitens auf einer unter dem Einfluß des Serums hervorgerufenen Phagozytose. Beide Wirkungen des Serums glaubten die Autoren sowohl im Körper des Kaninchens (je nach der Stelle der Applikation) als auch im Reagenzglas beobachten zu können. Was die Versuche im Reagenzglas anlangt, so bezeichnen die Untersucher selbst die bakteriziden Serumwirkungen als relativ schwach und inkonstant, und eine nachträgliche Kritik muß noch hinzufügen, daß die beobachtete Keimverminderung auf den Platten mindestens zum großen Teil auf Agglutinationswirkung beruht, also nur eine scheinbare ist. Um die Phagozytose im Reagenzglas zur Anschauung zu bringen, stellten die Verfasser folgenden Versuch an: Sie brachten zunächst Leukozyten von normalen sowie solche von gegen Streptokokken immunisierten Kaninchen, beide in normalem Kaninchenserum aufgeschwemmt, mit Streptokokken zusammen: in beiden Fällen sahen sie keine, oder ganz geringfügige Phagozytose. Nunmehr machten sie denselben Versuch mit dem Serum eines immunisierten Kaninchens: jetzt trat eine sehr lebhafte Phagozytose und Abtötung der Streptokokken ein, gleichviel ob die Leukozyten von einem normalen oder einem immunisierten Tier herstammten. Denys und Leclef schließen hieraus: „Chez le lapin vacciné le leucocyte tient du sérum son pouvoir d'englober et de détruire le streptocoque.“

Bordet, der im übrigen auf Grund seiner Tierversuche die Streptokokkenimmunität ausschließlich auf Phagozytose zurückführt, hat dennoch den Reagenzglasversuch von Denys und Leclef nicht bestätigen können: er gibt an, keinen Unterschied zwischen normalem Serum und Immunserum bei dieser Versuchsanordnung gesehen zu haben.²⁾ Eine weitere Nachprüfung ist uns nicht bekannt geworden.

Unsere eigenen Versuche, deren Resultate hier vorläufig mitgeteilt werden sollen, während die ausführliche Veröffentlichung in der Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten erfolgen wird, bilden

Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.
(Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Koch.)

Ueber die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokken-Immunserums.

. Von Dr. F. Neufeld und Dr. W. Rimpau.

Die Untersuchungen des letzten Jahrzehnts über die Antikörper des Serums haben bekanntlich zur Aufstellung zweier

1) La cellule 1895. — 2) Annales Pasteur 1897, S. 201, Anmerkung.

die Fortsetzung der früheren Arbeiten des einen von uns über die Immunität gegen Streptokokken und Pneumokokken. Sie wurden mit dem Serum eines Kaninchens angestellt, welches nach der von Neufeld¹⁾ angegebenen Methode immunisiert war; zu den Versuchen diente wiederum der aus einer Phlegmone stammende, für Kaninchen und Mäuse hochvirulente Streptococcus F. Bereits nach der zweiten Injektion lieferte das Kaninchen ein Serum von solcher Stärke, daß 0,2 davon, nach der in der zitierten Arbeit angegebenen Methode geprüft, Mäuse fast ausnahmslos bis gegen 0,1, zuweilen auch bis 0,2, einer Bouillonkultur des Streptococcus F schützte, während 0,000 001 für Kontrollen tödlich war.

Dieses Serum nun ließ weder in frischem Zustande noch nach Zufügung frischen Serums als Komplement eine abtötende oder auflösende Wirkung auf Streptokokken erkennen. Fügten wir dagegen normale, gut erhaltene und bewegliche Kaninchenleukozyten (die wir durch Injektion von Aleuronat in die Brusthöhle erhielten) hinzu, so sahen wir in kurzer Zeit, oft schon nach einer halben Stunde, eine außerordentlich lebhaft Phagozytose eintreten: in vielen Fällen wurde beinahe die gesamte Menge der reichlich zugefügten Streptokokken von den Leukozyten aufgenommen und fiel im Innern der Zellen einer allmählichen Degeneration anheim, welche vielfach bis zur vollständigen Auflösung der inkorporierten Bakterien fortschritt. In gewissen Stadien des Prozesses fanden wir regelmäßig die überwiegende Mehrzahl aller Zellen förmlich vollgestopft mit Bakterien. Im Gegensatz hierzu trat in den mit normalem Serum angestellten Kontrollen keine Phagozytose ein, sondern die Streptokokken vermehrten sich von Anfang an lebhaft, ohne daß die Leukozyten sich ihnen auch nur näherten; in einigen Fällen findet man wohl bei längerem Suchen ausnahmsweise einen vereinzelt Diplococcus oder eine kleine Kette im Innern einer Zelle. Dabei tritt in den Kontrollversuchen unter dem Einfluß der schnell wuchernden Streptokokken alsbald eine deutliche Schädigung der Leukozyten — Einbuße der Beweglichkeit und beginnender Zerfall — ein.

Was die Technik der Versuche anlangt, so mischten wir in einer Reihe von Fällen im Reagenzrohr etwa 0,1–0,2 einer 24stündigen Bouillonkultur unseres virulenten Streptococcus mit derselben oder einer größeren Menge des spezifischen, respektive des Kontrollserums und etwa 0,5 der aus dem Exsudat abzentrifugierten und in normalem Kaninchenserum aufgeschwemmten Leukozyten; die Röhrchen wurden bei 37° gehalten und von Zeit zu Zeit Präparate zur Untersuchung im hängenden Tropfen und zur Färbung entnommen. In anderen Fällen mischten wir einfach im hängenden Tropfen je eine Oese des Serums, der Kultur und der Leukozyten. Später überzeugten wir uns, daß weit geringere Mengen unseres Serums genügten, um die lebhafteste Phagozytose auszulösen; näheres über die quantitativen Verhältnisse und den Vergleich mit dem Titer desselben Serums im Tierversuch werden wir später mitteilen.

Die Hauptfrage, die wir uns nunmehr vorlegten, war folgende: Wirkt das Serum, wie von Metschnikoff selbst und zahlreichen seiner Anhänger angenommen worden ist, „stimulierend“ auf die Zellen ein, oder wirkt es direkt auf die Bakterien?

Der Absorptionsversuch nach Ehrlich-Morgenroth gab uns eine unzweideutige Antwort auf diese Frage. Versetzten wir das spezifische Serum mit den Leukozyten, ließen es 20 Minuten bei 37° stehen, zentrifugierten die Leukozyten ab, brachten sie in normales Serum und setzten ihnen Streptokokken zu, so trat keine Phagozytose ein. Ließen wir umgekehrt die Streptokokken mit dem Immunserum stehen, zentrifugierten wiederum, wuschen nochmals mit Kochsalzlösung und versetzten die abzentrifugierten Bakterien mit normalem Serum und Leukozyten, so trat die lebhafteste Phagozytose ein. Das spezifische Serum wirkt also nicht „stimulierend“ auf die Leukozyten, sondern es wirkt direkt verändernd auf die Bakterien ein, welche nunmehr sekundär von den Zellen aufgenommen werden. Wir brauchen kaum zu betonen, daß diese Lösung der Frage vollkommen im Sinne der Ehrlichschen Anschauungen erfolgt ist; denn hiernach können wir durch Immunisierung eines Tieres mit Bakterien als Reaktionsprodukte nur Stoffe erwarten, die wiederum auf diese Bakterien einwirken.

Welcher Art aber ist die Veränderung, welche die Bakterien durch das Serum erfahren? Wir haben zunächst gefragt, ob dabei Stoffe aus dem Serum in Betracht kommen, die den Komplementen entsprechen. Änderten wir den Versuch in der Weise, daß wir das spezifische Serum durch ein halbstündiges Erhitzen auf 59° inaktivierten und die Leukozyten entweder in inaktiviertem normalem Serum oder, was sich als ebensogut erwies, in Kochsalzlösung aufschwemmten, so ging die Phagozytose ungehindert vonstatten, ebenso wenn wir bei dem Bindungsversuch das

Immunserum inaktivierten und statt des normalen Serums zur Suspension der Leukozyten Kochsalzlösung anwandten. Hieraus ergibt sich, daß die Bakterien dem Serum kein Komplement, sondern ausschließlich einen relativ hitzebeständigen Stoff entnehmen, den wir wohl mit den Pfeifferschen Immunkörpern in Analogie setzen dürfen.

Ferner spricht dieser Versuch dagegen, daß die Bakterien etwa bereits abgetötet sein könnten, wenn sie von den Zellen aufgenommen werden. Wir haben aber auch untersucht, ob denn unter den gegebenen Versuchsbedingungen überhaupt abgetötete Bakterien so ohne weiteres von den Leukozyten aufgenommen werden. Dies ist durchaus nicht der Fall. Töteten wir unsere Streptokokken vorsichtig durch Hitze ab und brachten sie in normalem Serum oder Kochsalzlösung mit Leukozyten zusammen, so sahen wir keine Phagozytose; diese trat auch hier erst ein, wenn spezifisches Serum zugefügt wurde. Hieraus geht hervor, daß eine Schädigung irgendwelcher Art nicht genügt, um unter den von uns gewählten Bedingungen das Phänomen der Phagozytose auszulösen, sondern daß hierzu das Bacterium in einer ganz spezifischen Weise, eben durch Bindung des „Immunkörpers“ beeinflusst sein muß.

Wir haben nun in derselben Weise wie abgetötete auch avirulente Bakterien untersucht. Es ist uns jedoch bisher nicht geglückt, unsere Kulturen, wie das bei Streptokokken und Pneumokokken bisweilen gelingt, völlig ihrer Virulenz zu berauben. Immerhin erhielten wir relativ wenig virulente Stämme: wenn wir diese jedoch mit normalem Serum und Leukozyten zusammenbrachten, so trat keine Phagozytose ein.

Wir haben also bisher die spezifische Anziehung, welche den ersten Akt des geschilderten Phänomens darstellt, nur konstatieren können zwischen den amboceptorbeladenen Bakterien und den Leukozyten; in den letzteren dürfen wir aber wohl das Vorhandensein eines zu dem Amboceptor passenden Komplementes annehmen, durch welches der zweite Akt des Phänomens, nämlich die Verdauung der aufgenommenen Bakterien, vermittelt wird. Allerdings ist diese Auffassung, welche uns am nächsten zu liegen scheint, bisher nur eine Vermutung; möglicherweise bedürfen die Leukozyten zur Verdauung der einmal aufgenommenen Bakterien nicht mehr der Vermittlung eines von außen stammenden Amboceptors, und die Rolle des spezifischen Serumbestandteiles beschränkt sich darauf, die Aufnahme der Bakterien in die Zellen zu vermitteln. Die Entscheidung hierüber würde leicht sein, sobald es gelingt, die wirksamen Stoffe aus den Leukozyten zu extrahieren; unsere hierauf bezüglichen Versuche sind aber noch nicht abgeschlossen.

Unsere Versuche im Tierkörper ergaben eine befriedigende Uebereinstimmung mit den Beobachtungen im Reagenzglase. Denys und Leclef geben an, im Körper des Kaninchens, ebenso wie im Reagenzglase, sowohl direkt bakterizide Wirkungen als auch Phagozytose beobachtet zu haben. Die Phagozytose beobachteten sie bei Erysipelen des Ohres, die unter dem Einfluß des Serums in Heilung ausgingen, die direkte Wirkung des Serums aber bei Infektion von der Pleurahöhle aus. Hierbei ist jedoch zu bemerken, daß die Autoren niemals eine direkte Bakteriolyse gesehen haben, sie sahen nur die Kokken schnell aus der Pleurahöhle verschwinden, ohne ihr weiteres Schicksal verfolgen zu können. Bordet¹⁾ (und andere nach ihm) hat dann in ausgedehnten Versuchen, auf deren Details wir hier nicht eingehen wollen, ebenfalls im Körper immunisierter Kaninchen phagozytäre Vorgänge beobachtet.

Unsere Beobachtungen machten wir an dem Peritonealexsudat von Mäusen, die 0,1 bis 0,3 der hochvirulenten Kultur intraperitoneal erhielten, nachdem ihnen das Serum tags zuvor subkutan im Rücken injiziert war; in anderen Fällen wurde Serum und Kultur gemischt injiziert. Während nun bei den in derselben Weise infizierten Kontrollen die Streptokokken sich von Anfang an in enormer Weise vermehrten, von den Leukozyten aber gar nicht oder höchstens in ganz vereinzelt Exemplaren aufgenommen wurden, zeigten sich bei den Serummäusen sehr ähnliche Vorgänge wie im Reagenzglase. Schon nach etwa einer halben bis dreiviertel Stunden waren eine große Zahl der Kokken von Phagozyten aufgenommen, andere zeigten wenigstens eine deutliche Annäherung, wie sie bei den Kontrollen vermißt wurde, indem häufig große Mengen von Kokken auf einzelnen Leukozyten oder auf Gruppen derselben auflagen. Weiterhin, nach zwei bis vier Stunden, war weitaus die größte Zahl der Kokken von Zellen auf-

1) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 44, S. 167 f.

1) Annales Pasteur 1897.

genommen und boten zum Teil schon deutliche Zeichen von Degeneration dar. Aber auch die Phagozyten werden hierbei geschädigt, und viele von ihnen gehen augenscheinlich dabei zugrunde. Besonders fiel uns auf, daß solche Leukozyten, die ganz voll von zum Teil schon verdauten Kokken waren, häufig in größeren Haufen zusammenkleben. Nach 24 Stunden, wenn die Kontrollen bereits eingegangen waren, fanden sich im Peritoneum der Serumtiere kaum noch freie Kokken, auch innerhalb der Zellen nur noch verhältnismäßig wenige, und zwar fast stets in den letzten Stadien der Auflösung. Zugleich waren aber auch von den Leukozyten nur noch wenige gut erhalten, fast alle zeigten die Erscheinungen der Auflösung und Degeneration. Eine Auflösung der Bakterien in dem freien Exsudat der Bauchhöhle haben wir im hängenden Tropfen und bei Anwendung der gewöhnlichen Färbungen nicht mit Sicherheit beobachten können.

Betreffs der Untersuchungen von Pneumokokken¹⁾ können wir uns hier ganz kurz fassen. Auch hier befolgten wir die von dem einen von uns²⁾ früher angegebene Methode der Immunisierung und erhielten von einem Kaninchen, welches nur eine einzige Injektion lebender Kokken erhalten hatte, ein hochwirksames Serum, von dem 0,2 ccm Mäuse in der Regel bis gegen 0,1, zuweilen auch noch gegen 0,2 einer Kultur schützte, von der 0,000 001 für Kontrollen tödlich war. Wir machten hier im Reagenzglase völlig analoge Beobachtungen wie an dem Streptokokkenserum: bei normalem Serum blieb die Phagozytose aus, bei spezifischem, sei es aktivem oder inaktivem Serum, fanden sich die Leukozyten vollgestopft von Pneumokokken. Nur verlief das Phänomen hier entschieden etwas langsamer, so daß erst nach zwei bis drei Stunden die Phagozytose ihren Höhepunkt erreicht hatte.

An Mäusen stellten wir ebenfalls die gleichen Versuche wie mit Streptokokken an und erhielten dabei durchaus ähnliche Resultate. Es liegt sehr nahe anzunehmen, daß auch bei der Immunität gegenüber anderen Krankheiten, insbesondere bei solchen, die unter dem Bilde der Septicämie verlaufen, die gleichen oder ähnliche Vorgänge, wie wir sie bei Streptokokken und Pneumokokken beobachtet haben, eine wichtige Rolle spielen. Wir behalten uns vor, über analoge Versuche mit anderen Mikroorganismen zu berichten.

1) Mennes (Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 25) hat auf Veranlassung von Denys in dessen Laboratorium die Phagozytose im Reagenzglase beim Antipneumokokkenserum nach Analogie des Versuchs von Denys und Leclef untersucht und das gleiche Resultat wie bei Streptokokken erhalten.

2) Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. 40, S. 68 ff.