II. Weitere Untersuchungen über Streptococcen.³⁾

Von Dr. Hans Aronson in Charlottenburg.

In einer früheren Arbeit⁴⁾ hatte ich mir die Aufgabe gestellt, durch Immunisierungs- und Agglutinationsversuche festzustellen, ob typische Unterschiede zwischen den bei verschiedenen menschlichen Affektionen gefundenen Streptococcen bestehen. Bekanntlich hatten sich die von den ersten Untersuchern gefundenen Differenzen in den Formen und den Wachstumserscheinungen nicht als durchgreifend erwiesen. Die Veranlassung, diese für die menschliche Pathologie so ausserordentlich bedeutsame Frage durch die modernen bakteriologischen Untersuchungsmethoden einer Entscheidung näher zu bringen, gab speziell der von vielen Autoren, zuletzt von Baginsky und Sommerfeld, mit grosser Constanz erhobene Streptococcenbefund beim Scharlach. Das Resultat meiner Versuche war, dass sich ein durch Immunisierung von Pferden mit Scharlachstreptococcen gewonnenes Serum bei Thieren auch wirksam erwies gegenüber einer Infektion mit andersartigen Streptococcenstämmen (Erysipel, Diphtherie, Sepsis, Angina, Gelenkrheumatismus). Ebenso schützte das Serum eines Pferdes, das mit Sepsisstreptococcen immunisiert war, gegen die anderen Arten. Neuere Versuche haben gelehrt, dass dasselbe auch für das Serum eines Pferdes gilt, welches mit einem aus phthisischem Sputum gezüchteten Streptococcenstamm vorbehandelt wurde.

Zu demselben Ergebniss führte die Agglutinationsprüfung. Mit einem bestimmten Antistreptococcenserum konnten auch differente Kulturen in gleicher Weise agglutiniert werden. Durch diese umfangreichen Versuche wurde eine ausserordentlich nahe Verwandtschaft aller Streptococcen bewiesen. Die zunächst zur Lösung theoretischer Fragen unternommenen Immunisierungsversuche haben weiterhin zur Herstellung eines hochwerthigen Serums geführt, das nicht allein schützende, sondern auch hervorragend heilende Eigenschaften bei Thieren entfaltet und in dieser Hinsicht — wie zahlreiche Nachprüfungen⁵⁾ bestätigt haben — alle übrigen bisher gewonnenen Antistreptococcenserum weitaus übertrifft. Was den Mechanismus der Wirkung des Antistreptococcenserums anlangt, so hatte ich schon darauf hingewiesen, dass auch das hochwerthigste, frischgewonnene Serum keine direkte Einwirkung auf die Coccen selbst hat. Ich sagte,⁶⁾ „dass im Organismus etwas hinzukommen muss — seien es nun ausserhalb des Thierkörpers leicht zu Grunde gehende Complemente oder direkt celluläre Einflüsse — was unser Serum zu einem immunisierenden und heilenden macht“. Die neuen schönen Versuche von Meyer und Michaelis⁷⁾ haben gezeigt, dass der letztere Faktor — d. h. ein phagocytärer Vorgang — dafür verantwortlich zu machen ist.

Während die Streptococcenuntersuchungen so einen vorläufigen Abschluss erhalten zu haben schienen, kam der Vortrag Moser's auf der Naturforscherversammlung in Karlsbad, welcher — ganz abgesehen von klinischen Erfahrungen — auf Grund von

Agglutinationsversuchen, die er in Gemeinschaft mit v. Pirquet ausgeführt hatte, sich dahin äusserte: „Es besteht kein Zweifel, dass die Scarlatinastreptococcen sich von anderen, bei Erkrankungen des Menschen, z. B. Erysipel, Phlegmone etc. gefundenen unterscheiden.“¹⁾ Später veröffentlichte Fritz Meyer²⁾ die Ergebnisse von Agglutinationsversuchen, die er mit dem Serum eines Pferdes angestellt hatte, welches gegen einen aus dem Rachen eines Gelenkrheumatismuskranken isolierten Streptococcus immunisiert war. Seine zur Behandlung des Pferdes dienenden Kulturen waren ohne Thierpassage weitergezüchtet. Meyer gewann ein Serum, das seinen Gelenkrheumatismus-Streptococcus in hervorragender Weise agglutinierte, einen Scharlachstamm wenig, und einen von einem septischen Prozess herrührenden Streptococcus fast gar nicht beeinflusste. Er schloss daraus, dass mittelst des Agglutinationsphänomens sich bei den menschlichen Streptococcen absolute Artunterschiede herausstellen. Schon früher hatte Meyer³⁾ versucht, durch Thierexperimente die Sonderstellung der bei Gelenkrheumatismus gefundenen Streptococcen zu beweisen.

Diese neuen Arbeiten veranlassten mich, die Untersuchung der Streptococcen noch einmal zu beginnen unter ausschliesslicher Benutzung von Kulturen, welche direkt vom Menschen stammten unter Vermeidung jeglicher Thierpassage. Alle meine früheren, eingangs erwähnten Ergebnisse hatte ich durch das Studium der durch Mäuse- oder Kaninchenpassagen virulent gemachten Bakterien gewonnen. Meyer hatte speziell darauf aufmerksam gemacht, dass sich mein Serum bei der Agglutinationsprüfung ganz anders verhielt, wie das von ihm durch Immunisierung mit einem Menschenstamm gewonnene. Zu diesen neuen Experimenten sind 27 verschiedene Streptococcenkulturen benutzt worden und zwar: 11 Scharlachstämmen zum grössten Theil aus dem Blut verstorbener Patienten, wenige aus Belägen bei schwerer Scharlachangina gezüchtet, 3 Kulturen aus dem Rachen von typischen Gelenkrheumatismusfällen (einer mit Peliosis rheumatica), 4 aus dem Blute bei puerperaler Sepsis gewonnen, 2 waren aus Eiter kultiviert, 1 bei einem Kinde gefunden, das einem vom Nabel ausgehenden septischen Prozess erlegen war, 1 bei einem Patienten, der im Anschluss an eine Verletzung bei einer Sektion eine schwere Sepsis acquirirt hatte, 1 bei Otitis gefundenen, schliesslich kommen hierzu noch 4 von einer Infektionskrankheit der Pferde, der Druse, stammende Streptococcenstämmen.

Diese verschiedenen Stämme wurden in der früher beschriebenen, 0,1 % Traubenzucker enthaltenden Bouillon fortgepflanzt und wuchsen darin zum grössten Theil in conglomerirter Form; nur wenige — verschiedenen Krankheitsgruppen angehörig — bewirkten eine diffuse Trübung des Nährmediums. Die ersten zeigten bei mikroskopischer Betrachtung lange, oft verschlungene Ketten, die letzteren waren in kleineren Verbänden angeordnet. Auffallend ist es, dass die Ketten nie so kurz sind, wie bei den durch Thierpassage hochvirulent gemachten Streptococcen, welche häufig die Diplococcenform zeigen.

Auf die Verschiedenheit der Thiervirulenz verschiedener Streptococcenarten ist von mehreren Beobachtern jüngst Werth gelegt worden. Moser⁴⁾ betont, dass die Scharlachstreptococcen selten pathogen für Kaninchen sind und dann nur in sehr grossen Dosen; dasselbe sagt Meyer⁵⁾ von den bei Gelenkrheumatismus gefundenen Coccen und meint, die bekannten Methoden der Virulenzsteigerung seien bei Kaninchen erfolglos; später ist es diesem Autor⁶⁾ nach den von mir gebrauchten Methoden auch gelungen, diese Streptococcen sehr thierpathogen zu machen. — Meine eigenen Versuche zeigten, dass die verschiedenen Krankheitsgruppen des Menschen angehörigen Coccen durchgehends eine geringe Virulenz für die gebräuchlichen Thierarten hatten; die von schweren septischen Prozessen herrührenden verhielten sich hierin durchaus nicht anders, wie die von Scharlach- und Gelenkrheumatismusfällen kultivierten. — Zur Tödtung von Mäusen ist meist die intraabdominale Injektion von 1 ccm der eintägigen Bouillonkultur

¹⁾ C. Neuberg, Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. XXXIV.

²⁾ Wohlgemuth, ebenda Bd. XXXVI.

³⁾ Vortrag, gehalten im Verein für innere Medizin in Berlin, am 23. März 1903.

⁴⁾ Berliner klinische Wochenschrift 1902, No. 42 und 43. Vortrag in der Berliner medizinischen Gesellschaft, gehalten am 16. Juli 1902.

⁵⁾ F. Meyer, Ueber Antistreptococcenserum. Diese Wochenschrift 1903, Vereinsbeilage No. 16. — Sommerfeld, Vergleichende Untersuchungen über Antistreptococcenserum etc. Centralblatt für Bakteriologie Bd. XXXIII, No. 9.

⁶⁾ l. c.

⁷⁾ Vortrag, gehalten im Verein für innere Medizin in Berlin, am 16. März. Vergl. diese Wochenschrift 1903 (Vereinsbeilage 5).

¹⁾ Ueber die Behandlung des Scharlachs mit einem Scharlachstreptococcenserum. Berlin, Karger, 1903. S. 16.

²⁾ Diese Wochenschrift 1902, No. 42.

³⁾ Zur Einheit der Streptococcen. Berliner klinische Wochenschrift 1902, No. 40, und Zur Bakteriologie des akuten Gelenkrheumatismus. Zeitschrift für klinische Medizin 1902, Bd. XLVI, S. 311.

⁴⁾ l. c. S. 16.

⁵⁾ Zeitschrift für klinische Medizin, l. c.

⁶⁾ Berliner klinische Wochenschrift, l. c.

nothwendig; manches Mal genügt auch diese Menge nicht und man muss ebenso wie bei Kaninchen zur Injektion des an Streptococcen reicheren Bodensatzes der Bouillon greifen. Meerschweinchen sind noch unempfindlicher. Bei jungen Hunden bewirkt die Injektion grösserer Mengen von Coccen — gleichgültig welcher Gruppe dieselben angehören — lokale Abszesse. Ich möchte an dieser Stelle nachträglich betonen, dass bei diesen beiden letzteren Thiergattungen Streptococcen, welche durch Mäusepassagen den höchsten Grad der Virulenz für Mäuse erlangt haben, sehr wenig wirksam sind, während sich dieselben, wie ich früher gezeigt habe, für Kaninchen und Pferde gleichfalls ausserordentlich virulent erwiesen. Bekanntlich wissen wir durch Petruschky's¹⁾ Versuche, dass für Kaninchen hochvirulente Streptococcen beim Menschen fast gar keine Reaktionen verursachen.

Anders wie die vom Menschen stammenden Streptococcen verhalten sich die von der Pferdedrüse herrührenden. Diese Erkrankung, welche meist jüngere Thiere befällt, verläuft unter dem Bilde eines fieberhaften Katarrhs der oberen Luftwege; häufig tritt dabei eine Vereiterung der Submaxillardrüsen, sehr selten eine allgemeine Sepsis auf. Die vier geprüften Kulturen waren von mir aus dem bei der Inzision der erweichten Drüsen gewonnenen Eiter gezüchtet. Alle vier Stämme zeigten sofort eine hervorragende Virulenz für Mäuse; die intraabdominale Injektion von 0,01 ccm der eintägigen Bouillonkultur tödtete Mäuse stets in 24—48 Stunden, ja meist genügte schon 0,001 ccm, um den Tod herbeizuführen, falls eine geeignete Bouillon zur Kultur verwandt wurde. Es muss dies als ein typischer Unterschied zwischen den Drüse- und den direkt vom Menschen stammenden Streptococcen betrachtet werden. Wir finden also auch hier, dass Virulenz für Pferde und für Mäuse Hand in Hand geht.

Eng im Zusammenhang mit diesen Versuchen, welche sich mit der Prüfung der Virulenz befassen, steht die Untersuchung des Krankheitsbildes, welches die verschiedenen menschlichen Affektionen angehörigen Streptococcen bei Thieren erzeugen. Meyer hat besonders betont, dass speziell die aus Gelenkrheumatis-musfällen gezüchteten Mikroorganismen bei Thieren Gelenk- und Herzerkrankungen verursachen. Die Untersuchung der Krankheitssymptome ist naturgemäss viel leichter und eindeutiger bei grossen Thieren. In meiner früheren Mittheilung habe ich erwähnt, dass virulente Scharlachstreptococcen bei Pferden typische Gelenk- und Herzaaffektionen (Endocarditis verrucosa) erzeugen können. Meine neuen Beobachtungen an Pferden, welche mit direkt vom Menschen gezüchteten Coccen behandelt worden sind, zeigen, dass auch hier bei Gelenkerkrankungen durchaus im Vordergrund des klinischen Bildes stehen, ganz gleichgültig, ob die Streptococcen von Gelenkrheumatismus, von puerperaler Sepsis, oder von Scharlach stammen.

Prüfung der Virulenz und der Krankheitssymptome bei Thieren lassen also keine Verschiedenheit erkennen zwischen den einzelnen — direkt von verschiedenen menschlichen Erkrankungen herrührenden Streptococcengruppen. — Gehen wir nun über zu den Agglutinationsversuchen, welche sich in zahlreichen Fällen als viel feiner und zweckentsprechender erwiesen haben, wenn es sich darum handelt, kulturell und mikroskopisch sich gleichende Bakterienarten auseinanderzuhalten. Wie ich schon früher²⁾ betont habe, müssen bei allen nicht beweglichen Bakterien makroskopische Versuche angestellt werden.

Speziell bei den an sich schon zur Verklumpung neigenden Streptococcen ist eine nur mikroskopische Untersuchung nicht zulässig. Ich kann also die Resultate Moser's und v. Pirquet's, die nur auf mikroskopischer Betrachtung basirt sind, nicht als beweiskräftig und überzeugend anerkennen. Es bleiben jedoch die in der Einleitung erwähnten Versuche Meyer's, welche für eine Sonderstellung gewisser Streptococcengruppen zu sprechen scheinen. — In gleichem Sinne waren auch mit dem Serum von Scharlachreconvaleszenten angestellte Prüfungen von Salge³⁾ verwertbar. —

Zur genauen Erforschung dieser Frage immunisirte ich eine

¹⁾ Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. XXII.

²⁾ Bemerkungen zu einem Aufsatz von Moser: Berliner klinische Wochenschrift 1903, S. 15. Ich will bei dieser Gelegenheit einen mir hier unterlaufenen Irrthum berichtigen. Die makroskopische Agglutination von Streptococcen durch Immunserum ist thatsächlich vor mir schon von v. d. Velde beobachtet worden. Sie ist beschrieben in einer Arbeit dieses Autors in den Archives de méd. expér. 1897, S. 874, auf welche ich erst durch Herrn v. Pirquet aufmerksam gemacht worden bin.

³⁾ Mitgetheilt auf der Naturforscherversammlung in Karlsbad 1902.

grössere Anzahl von Pferden mit bestimmten, direkt vom Menschen kultivirten Streptococcen und prüfte das gewonnene Serum sowohl den bei der Vorbehandlung benutzten Stämmen gegenüber, als auch anderen Gruppen angehörigen.

Bei der in gewöhnlicher Weise vorgenommenen Immunisirung der Pferde zeigte sich, dass die Menschenstämme durchgehends auch diesen Thieren gegenüber wenig wirksam sind und nur mässige Reaktionen auslösen. Zu den schweren Erscheinungen und chronischen Erkrankungen, deren Auftreten nach Injektion von mäusevirulenten Streptococcen ich in meiner ersten Arbeit beschrieben habe, kam es niemals. Die Immunisirung ist daher viel leichter und nicht mit Verlusten an kostbarem Material verknüpft, welche mir auch neuerdings bei der Behandlung mit hochvirulenten Streptococcen nicht erspart geblieben sind. Selbst wenn man von schweren septischen Affektionen herrührende Bakterien anwendet, treten nur lokale Schwellung, vorübergehendes Fieber und oft — wie schon oben erwähnt — leichtere Gelenkerkrankungen auf. Der Agglutinationsprüfung des nach längerer Behandlung gewonnenen Serums stellten sich nun grosse Schwierigkeiten entgegen, weil die grössere Anzahl der benutzten Kulturen schon an sich conglomerirt wuchs. Es hätte hier die dem Koch'schen Vorgehen nachgebildete Methode von Salge zur Verwendung kommen können, die, wie ich mich selbst überzeugt habe, in der Hand dieses Autors gute Resultate giebt. Salge centrifugirt die Bouillonkulturen, verreibt die Streptococcen mit einigen Tropfen verdünnter Natronlauge im Achatmörser und verdünnt die Emulsion mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu einer opalisirenden, gleichmässig getrübten Flüssigkeit. Diese Art des Vorgehens wäre aber, da weit mehr als 1000 einzelne Agglutinationsversuche von zahlreichen verschiedenen Kulturen auszuführen waren, zu komplizirt gewesen. Andere Methoden leisteten in einfacherer Weise dasselbe: Erstens gelang es, die verklumpt gewachsenen Kulturen zu einer für diese Versuche brauchbaren feineren Vertheilung zu bringen durch langes Schütteln mit gewaschenen und sterilisirten böhmischen Tarirgranaten (am besten in einem Schüttelapparat). Zweitens konnte man Agarkulturen zur Anwendung bringen. Für genaue quantitative Bestimmungen halte ich ein gleichmässiges Ausgangsmaterial, das man durch Abkratzen zahlreicher Agarröhrchen und Aufschwemmung in physiologischer Salzlösung schaffen kann, für geeigneter, als die neuerdings im Institut für Infektionskrankheiten bei anderen Bakterien (Pestbacillus, Staphylococcus) angewandte Methode¹⁾, eine Oese der auf Agar gewachsenen Kultur in verschiedenen Serumverdünnungen zu übertragen, da hierbei nie die genau gleiche Bakterienmenge zur Reaktion gelangt. — Eine dritte Methode führt am leichtesten zum Ziel und wurde daher zuletzt ausschliesslich angewendet: Ein — $\frac{1}{2}$ Liter gute Bouillon²⁾ enthaltender — Kolben wird Morgens beimpft und während des Aufenthaltes im Brutraum jede halbe Stunde energisch geschüttelt. Nach 6—7 stündigem Wachsthum wird die genügend entwickelte und dann diffus getrübte Kultur verwendet. Da die zur Prüfung dienenden Röhrchen mindestens sechs Stunden im Brutschrank verweilen müssen, versetze ich dieselben, um ein weiteres Wachsthum der Kultur zu verhindern, mit Formalin im Verhältnisse von 1 : 1000. Die Bouillon fülle ich dann mit einer 4,5 ccm enthaltenden Vollpipette in sterile Reagenzgläsern und füge 0,5 ccm der absteigenden Serumverdünnungen (in physiologischer ClNa-lösung) mit einer 0,5 Vollpipette hinzu; die Berechnung des Agglutinationswerthes ist dann ausserordentlich einfach. Die Proben wurden meist bis zum nächsten Tage im Brutraum belassen und als völlig agglutinirt bezeichnet, wenn die Bouillon absolut klar geworden war; den Uebergang bilden die halbagglutiniten Röhrchen, bei denen die Flüssigkeit zwar noch leicht getrübt, der grösste Theil der Coccen aber als dicke, bei leichtem Schütteln nicht mehr gleichmässig vertheilbare Brocken am Boden lagen.

Genauer geprüft wurde das Serum folgender Pferde:

1. mit 7 verschiedenen Scharlachstämmen immunisirt
2. „ Scharlachstamm No. 8 „
3. „ Puerperal-Sepsis-Streptococcen No. 1 immunisirt
4. „ „ „ „ „ 2 „

¹⁾ Kolle und Otto, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten Bd. XLI, S. 369. — Kolle und Martini, Deutsche medizinische Wochenschrift 1902, No. 3.

²⁾ Es wurde zu vergleichenden Prüfungen stets dieselbe Bouillonssorte verwendet.

5. mit Gelenkrheumatismus-Strepto-			
coccen No. 1		immunisirt	
6. „ „ „ „	No. 2	„	
7. „ Otitisstamm		„	
8. „ Drusestamm No. 1		„	
9. „ hoch mäusevirulenten Scharlach-			
Streptococcen		„	

Zur Agglutination verwendet wurden ausser diesen noch mehrere andere, zur Immunisirung nicht gebrauchte Streptococcenkulturen. — Ich will hier nur die wesentlichsten Resultate dieser sehr zahlreichen Versuche berichten: Ich kann zunächst die interessanten Angaben Meyer's bestätigen, dass sich die direkt vom Menschen stammenden Streptococcen wesentlich anders verhalten, wie die durch Thierpassagen veränderten, und dass ebenso ein mit diesen Coccen gewonnenes Serum in seinem Agglutinationsvermögen völlig abweichende Eigenschaften zeigt. Die unveränderten Menschenstreptococcen sind viel leichter agglutinierbar, wie die thiervirulenten. Man muss jedoch bei ihnen wieder zwei Klassen unterscheiden; die an sich gewöhnlich conglomerirt wachsenden Stämme sind wiederum leichter durch spezifisches Serum zu verklumpen, als die diffus wachsenden. — Wie ich früher berichtet habe, werden die virulent gemachten Streptococcen überhaupt nur durch hochwerthiges Serum agglutinirt, und dann nur, wenn Serum in einer Menge von 1:40 bis 1:50 zugesetzt wird. Bei den diffus wachsenden Menschenstämmen habe ich Agglutinationswerthe bis 1:3000, bei den unter gewöhnlichen Umständen conglomerirt wachsenden bis 1:20 000 beobachtet. Die mikroskopische Betrachtung der agglutinierten Massen, welche übrigens bei den thiervirulenten Coccen noch fester zusammenhaften, als bei den anderen, zeigt, dass bei den virulenten Kulturen die Bakterien in Staphylococcenform, bei den Menschenstreptococcen in Form verschlungener Knäuel angeordnet sind, welche sich nicht viel von den — bei den von selbst verklumpt wachsenden Coccen — vorkommenden unterscheiden. Die leichtere Agglutinirbarkeit bekundet sich auch darin, dass die Reaktion in kürzerer Zeit, meist schon nach $\frac{1}{2}$ —2 Stunden eintritt. Was lehren uns nun diese Agglutinationsversuche über den wichtigsten Punkt? Können wir mit ihrer Hilfe, wie Fritz Meyer meint, verschiedene Gruppen von Menschenstreptococcen unterscheiden? Diese Frage ist mit einem strikten Nein zu beantworten. Während ein durch Immunisirung mit Mäuse- und kaninchenvirulenten Streptococcen bereitetes Serum alle virulent gemachten Stämme in gleicher Weise beeinflusste, findet sich hier ein ganz merkwürdiges Verhalten; wir haben es weder mit einer für alle Streptococcen noch für einzelne Gruppen gültigen, sondern mit einer ganz hervorragend individuellen Reaktion zu thun, wie sie bis jetzt bei keiner anderen Bakterienart beschrieben ist. Eine gewisse Gemeinschaft der agglutinophoren Gruppen findet sich noch bei den an sich leicht zur Verklumpung neigenden Coccen, während die diffus wachsenden nur von einem für sie völlig passenden Agglutinin, das durch Immunisirung mit derselben Kultur entsteht, von anderen Serumsarten fast garnicht beeinflusst werden. Es ist dabei ganz gleichgültig, ob die zur Prüfung verwendeten Stämme demselben menschlichen Krankheitsprozess entstammen oder nicht. Ja, man findet sogar nicht selten, dass ein leicht agglutinirbarer Scharlachstamm von einem Sepsisserum mehr agglutinirt wird, wie von einem Scharlachserum. Ich will dies an einigen Beispielen erläutern: das Serum des mit 7 Scharlachstämmen immunisirten Pferdes agglutinierte diese 7 Kulturen, den gewöhnlich conglomerirt wachsenden Stamm No. 7 z. B. noch in einer Verdünnung von 1:20 000, Scharlachstamm No. 8 (diffus wachsend) nur bei einem Zusatz von 1:20 (nicht viel mehr als normales Serum), Scharlach No. 9 überhaupt nicht.

Das Serum des mit Scharlach No. 8 behandelten Pferdes zeigte derselben Kultur (diffus wachsend, daher schwerer agglutinierbar) gegenüber einen Werth von 1:400, der leicht zu verklumpenden Scharlachkultur No. 7 nur einen Werth von 1:50 (oben 1:20 000), während z. B. ein Sepsisserum diesen Scharlachstamm No. 7 bis 1:100 agglutinirt. Also ein Sepsisserum agglutinirt hier einen Scharlachstamm höher, als ein Scharlachserum. — Aehnliches ergab z. B. die Prüfung einer leicht agglutinirbaren Kultur von puerperaler Sepsis (No. 2). Diese wird durch das ihr entsprechende Serum bis 1:10—20 000 agglutinirt, von dem Scharlachserum No. I bis 1:2000, von einem anderen Sepsisserum (No. I) nur bis 1:1000.

Der diffus wachsende Sepsisstamm No. I wird von seinem Serum bis 1:3000 verklumpt, von dem Sepsisserum No. II da-

gegen überhaupt nicht. Während also die leicht agglutinirbaren Stämme auch von anderen Sera beeinflusst werden (jedoch höchstens bis zum zehnten Theil des Agglutinationswerthes ihres correlaten Serums), reagieren die diffus wachsenden Kulturen in irgendwie nennenswerthem Grade überhaupt nur mit dem durch sie selbst erzeugten Serum. So agglutinierte auch Gelenkrheumatisuserum No. I diesen Stamm bis 1:1000, den Stamm No. II garnicht, und ähnlich war es umgekehrt. Der diffus wachsende Otitisstamm konnte nur durch ein ihm entsprechendes Serum zur Verklumpung gebracht werden etc.

Das mit hochvirulenten Streptococcen behandelte Pferd agglutinierte diese Kulturen in Höhe von 1:40 (wie oben erwähnt), beeinflusste die Menschenstreptococcen nur mässig, meist nur bei einem Zusatz von 1:20 bis 1:30, manche Kulturen (z. B. den Otitisstamm) garnicht. Normales Pferdeserum zeigte auch den am leichtesten zur Verklumpung neigenden Coccen gegenüber niemals einen höheren Agglutinationswerth, als 1:10.

Wir sehen also, dass auf keinen Fall selbst die sorgfältigste Agglutinationsprüfung eine Differenzirung zwischen verschiedenen Streptococcengruppen erkennen lässt. Wenn Meyer das von ihm gewonnene Serum, das seine Gelenkrheumatismuskultur prompt, den Scharlachstamm weniger und die pyogenen Stämme fast garnicht agglutinierte, mehreren anderen Gelenkrheumatismusstämmen gegenüber geprüft hätte, so hätte er gleichfalls zu derselben Schlussfolgerung kommen müssen. Diese complicirten Verhältnisse können natürlich viel deutlicher und klarer übersehen werden, wenn man sich nicht darauf beschränkt, ein Serum gegenüber verschiedenen Streptococcenarten zu prüfen, sondern wenn man zur Prüfung, wie ich dies gethan habe, Sera von mehreren Pferden benutzt, die in systematischer Weise mit Kulturen immunisirt sind, die verschiedenen Streptococcengruppen angehören.

Ich komme nun zu der letzten Gruppe von Versuchen, bei welchen ich durch die Immunisirungsmethode etwaige Unterschiede zwischen differenten Streptococcenarten zu erkennen mich bemühte. Hier konnten Erfahrungen verwerthet werden, welche bei der aktiven Immunisirung zu machen waren und solche, die bei Schutzversuchen mit dem Serum der in verschiedener Weise vorbehandelten Pferde gewonnen werden konnten. Die aktiven Immunisirungsversuche beziehen sich nur auf Pferde. Die Fragestellung war eine einfache: Ist ein durch Vorbehandlung mit einer bestimmten Streptococcenart immunisirtes Pferd gegen andere Arten geschützt oder nicht? Die Beantwortung dieser Frage macht deshalb grosse Schwierigkeiten, weil die Pferde in sehr verschiedener Intensität selbst nach Injektion derselben Kulturen reagieren. Es scheint jedoch ein Schutz auch gegen andere Streptococcenarten nach Behandlung mit einer bestimmten Art zu entstehen. Das mit sieben Scharlachstämmen behandelte, oben erwähnte Pferd vertrug z. B. anstandslos die Injektion einer grossen Menge der Kultur von puerperaler Sepsis No. 1, welche in viel kleinerer Menge bei anderen nicht vorbehandelten Pferden ziemlich schwere Reaktionen hervorgerufen hatte. Sehr empfindliche Pferde andererseits, die längere Zeit mit einem bestimmten Sepsisstamme vorbehandelt waren, reagierten stark nach Injektion einer anderen Kultur, obwohl es sich gleichfalls um eine von Sepsis herrührende handelte, später weniger intensiv nach Scharlachkulturen. Pferde, welche seit vielen Monaten mit hochthiervirulenten Streptococcen immunisirt waren, zeigten stets auch eine auffallende Widerstandsfähigkeit gegen Menschenstreptococcen, immerhin traten doch nach grossen Dosen deutliche Reaktionen auf.

Schutzversuche mit dem Serum der Pferde sind von mir in grosser Zahl an Mäusen, Kaninchen und jungen Hunden ausgeführt worden; sie haben bisher keine ganz eindeutigen Resultate ergeben, weil meist zu grosse Mengen der direkt vom Menschen stammenden Kulturen nothwendig sind, um Thiere zu tödten. Wenn man z. B. einer Maus 1 ccm i. e. 5—7,5% des Gesamtkörpergewichtes in den Bauch injizieren muss, so darf man sich nicht wundern, wenn es durch kein Serum gelingt, diese Thiere zu retten, da die normalen Schutzapparate zu sehr unter diesem Eingriff leiden. Bei Kaninchen und Hunden sah ich die besten Wirkungen von einem Serum, das durch Immunisirung mit demselben Streptococcenindividuum gewonnen war, weniger gute, wenn das Serum durch Vorbehandlung mit anderen Menschenstämmen — selbst wenn sie derselben Krankheitsform angehörten — erzielt war. Dieses würde dem Resultat der Agglutinationsversuche entsprechen; jedoch auch bei diesen

Thieren müssen so grosse Streptococcenmengen zur Anwendung kommen, dass das Versuchsergebnis dadurch getrübt wird.

Es ist daher auch nicht möglich, durch Tierversuche einen Einblick zu bekommen in die Menge der bei der Immunisierung von Pferden mit Menschenstreptococcen gebildeten Schutzstoffe. Man kann nicht die Werthigkeit eines Serums in dieser Hinsicht bestimmen, was bei der Immunisierung mit thiervirulenten Streptococcen nach der von mir früher beschriebenen Methode so leicht gelingt. Viel besser sind wir daran bei der Werthbestimmung eines Druseserums, gewonnen durch unveränderte Drusekulturen; durch geringe Dosen solcher Kulturen kann man, wie ich oben erwähnt habe, Mäuse constant tödten. Es ist daher umsomehr verwunderlich, dass diese Prüfung bei dem neuerdings von Piorkowski und Jess hergestellten Serum nicht angewendet wird. Meine Versuche haben freilich zu dem Ergebniss geführt, dass diesem Serum ein irgendwie nennenswerther Schutzwert nicht zukommt. Es gelang mir niemals, auch bei Anwendung grosser Serummengen, Mäuse zu schützen, die später intraabdominal mit Drusekulturen injiziert wurden. — Wie ich früher berichtet habe, schützt mein Antistreptococcenserum auch gegen Drusestämmen, falls dieselben durch mehrfache Mäusepassagen noch virulenter gemacht waren. Gegen direkt von der Pferdedruse stammende Kulturen hat mein Serum einen geringeren Schutzwert, der jedoch immerhin noch den des Piorkowski-Jessschen Serums, das durch Immunisierung von Pferden mit unveränderten Drusestämmen gewonnen ist, übertrifft.

Ueberblicken wir noch einmal die eben mitgetheilten Versuche, so müssen wir zu dem Resultat kommen, dass wir selbst bei Anwendung der feinsten biologischen Untersuchungsmethoden verschiedene menschliche Streptococcenarten nicht trennen können. Selbst wenn die Kulturen durch Thierpassagen nicht verändert werden, ist es weder durch mikroskopische Untersuchung, noch durch verschiedene Kulturarten, noch durch Agglutinations-, noch durch Immunisierungsmethoden möglich, den Ursprung irgend einer Streptococcenkultur festzustellen. Nach meiner Ansicht können wir daher auch den Streptococcus nicht als den Erreger einer so typischen und eigenartigen Infektionskrankheit, wie des Scharlachs, auffassen, sondern müssen nur zugestehen, ja sogar mit aller Entschiedenheit darauf hinweisen, dass alle ernstesten Complicationen des Scharlachs durch diese Bakterien hervorgerufen werden. Für die praktische Anwendung eines wirksamen Antistreptococcenserums ist die Entscheidung dieser theoretisch interessanten Streitfrage völlig gleichgültig. Meine Versuche haben mich in Consequenz dieses Standpunktes zu der Entscheidung geführt, dass es ein spezifisches Scharlachserum nicht giebt.

Die neuen Beobachtungen haben mich veranlasst, für die Bereitung eines, alle nur entfernt möglichen Heilpotenzen berücksichtigenden Antistreptococcenserums neben der den thiervirulenten auch die direkt von Menschen stammenden Kulturen systematisch zu berücksichtigen. Ich halte die durch meine, früher allein und auch jetzt noch weiter angewendete Art der Immunisierung gewonnenen Immunkörper keineswegs für überflüssig. Weitere von mir und unabhängig von Dr. Sommerfeld im Laboratorium des Kaiser Friedrich-Kinderkrankenhauses vorgenommene Versuche¹⁾ haben gezeigt, dass mein Serum durchaus nicht allein und in besonders guter Weise gegen hochvirulente Streptococcen wirkt, sondern sogar noch besser (schon in kleineren Dosen) gegen Scharlach- und Gelenkrheumatismusstämmen, welche durch sehr wenige Thierpassagen nur soweit herangezüchtet worden sind, dass sie Mäuse in den relativ grossen Dosen von 0,05—0,1 ccm tödten. — Diese Quote des Antistreptococcenserums ist, wie ich in meiner ersten Arbeit gezeigt habe, in gleicher Weise gegen alle Streptococcenstämmen gerichtet; ihr Werth kann zahlenmässig bestimmt werden. Der zweite Theil der Antikörper, gewonnen durch Behandlung von Pferden mit direkt vom Menschen stammenden Kulturen kann bisher nicht gemessen werden. Für einen gleichen Wirkungsgrad kann nur garantirt werden durch eine möglichst hochgetriebene Immunisierung mit sehr vielen Streptococcenstämmen und durch Mischen der Sera verschiedener Pferde, da einzelne selbst in gleicher Weise vorbehandelte Pferde ein ganz verschiedenes wirksames Serum liefern können.

Maassgebend für die Heranziehung der Menschenstreptococcen

waren für mich weniger die Agglutinationsversuche — ich habe schon mehrfach darauf hingewiesen, dass man aus diesen keine Schlussfolgerungen auf das Verhalten der immunisirenden Substanzen ziehen kann — als die oben kurz mitgetheilte Beobachtung, dass selbst mit den wirksamsten thiervirulenten Kulturen aufs Beste immunisirte Pferde noch reagiren nach Zufuhr freilich grösserer Mengen avirulenter, direkt vom Menschen stammender Streptococcen. Es müssten als Resultat dieser Reaktion neue Antikörper gebildet werden, denen man ohne weiteres einen Werth auch für die menschliche Therapie nicht absprechen darf.

¹⁾ Centralblatt für Bakteriologie Bd. XXXIII, No. 9.