[Aus dem Königl. Institut für Infectionskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. Gaffky.)

[Aus der Königl. chirurgischen Universitätsklinik zu Berlin.]
(Director: Excellenz von Bergmann, Wirkl. Geh.-Rath.)

Beiträge zur Serodagnostik
der Staphylokokkenerkrankungen beim Menschen.
(Vorläufige Mittheilung.)

Von

Dr. Carl Bruck,
Assistenten am Institut für Infectionskrankheiten,

Dr. med. et phil. Georg Michaelis

und

Dr. Ernst Schultze,
Assistenten an der chirurg. Klinik.

Der Versuch, die biologischen Eigenschaften der pyogenen Staphylokokken am Krankenbette diagnostisch zu verwerthen, ist bisher von keiner Seite gemacht worden. Es ist dies um so auffallender zu einer Zeit, in der uns z. B. die Gruber-Widal'sche Reaction, die heute wohl zum ständigen diagnostischen Rüstzeug der Klinik gehört, den Werth serodagnostischer Untersuchungen an Kranken schätzen gelehrt hat.

Der Grund hierfür mag wohl hauptsächlich in äusseren Verhältnissen liegen, theils in der für den beschäftigten Kliniker gebotenen Schwierigkeit, sich den immerhin eine gewisse Uebung erfordernden, zeitraubenden, biologischen Untersuchungen mit der nöthigen Exactheit zu unterziehen, und theils in dem den Studien des Bakteriologen und Biologen entgegenstehenden Mangel an klinischem Material.

Nur das stete eifrige Zusammenarbeiten der Klinik mit der biologischen Forschung kann, sich gegenseitig ergänzend, auf diesem so wichtigen Gebiete fruchtbringend wirken.

Wir begrüßten es daher mit grosser Freude, als die Güte Sr. Exc. des Hrn. Geh.-Rath v. Bergmann es ermöglichte, einen Theil des

Krankenmaterials der Kgl. chirurg. Klinik zu unseren Untersuchungen heranzuziehen. Bei letzteren hatten wir uns des stetigen Interesses und Rathes des Hrn. Prof. Dr. A. Wassermann zu erfreuen. Beiden genannten Herren möchten wir auch an dieser Stelle unseren ergebensten Dank aussprechen.

Wir sind uns wohl bewusst, dass wir in den folgenden Zeilen nicht die Resultate einer abgeschlossenen Arbeit bringen können, dazu ist die Menge des geprüften Materials noch viel zu klein.

Unsere Untersuchungen erwiesen sich aber als so ermuthigend, dass wir mit der Veröffentlichung der bisherigen nicht mehr zögern zu sollen glaubten, in der Absicht, andere vielleicht in klinischer Hinsicht noch günstiger gestellte Forscher zur Mitarbeit anzuregen.

Auf die hohe Bedeutung einer erfolgreichen Serodiagnostik der Staphylokokkenerkrankung am Menschen hier näher einzugehen, ist nicht der Ort. Es soll dies an anderer Stelle geschehen. Wenn wir hier nur z. B. an versteckte Abscesse, an zweifelhafte Osteomyelitiden oder an die zuweilen unüberwindliche Schwierigkeit der Differentialdiagnose zwischen solidem Tumor und chronisch entzündlichen Processen am Knochen erinnern, so mag wohl die Wichtigkeit der Frage schon genügend gekennzeichnet sein.

Zwei biologische Eigenschaften der Staphylokokken sind es, die a priori als Grundlagen einer Serodiagnostik in Betracht kommen konnten:

1. Die im inficirten Organismus entstehenden Agglutinine.
2. Die in Folge der Hämolyisinbildung der Staphylokokken ausgelöste Antilysinproduction.

Wenn nun auch die Agglutininreaction, insbesondere durch die Untersuchungen von Kolle und Otto, Kutscher und Konrich, zu einer strikten specifischen Scheidung von pathogenen und apathogenen Staphylokokkenarten geführt hatte, so liessen gerade die bei diesen Studien gefundenen Thatsachen die serodiagnostische Verwerthbarkeit jener Methode am Menschen sehr zweifelhaft erscheinen.

Denn die durch die Arbeiten von Kolle und Otto, Neisser und Wechsberg, Klopstock und Bockenheimer, Kutscher und Konrich bewiesene Pluralität der agglutininäuslösenden Staphylokokkenreceptoren würde bald auf unüberwindliche Schwierigkeiten stossen lassen. In der That konnten wir in den von uns untersuchten Seris von echten Staphylokokkenerkrankungen Agglutinine auf verschiedene pathogene und apathogene Staphylokokken nicht nachweisen. [Während der Correctur wurden uns die eben erschienenen schönen Versuche von Beitzke (Verhandlungen der deutschen pathol. Gesellschaft, September 1904) bekannt, welche die praktisch-klinische Verwerthung der Staphylokokkenagglutinine am Lebenden im negativen Sinne entscheiden.]

Um so ermuthigender war es aber, das durch das specifische Gift der Staphylokokken entstehende Antitoxin in serodiagnostischer Hinsicht zu verwerthen.

Es ist das Verdienst von M. Neisser und Wechsberg, die Eigenschaften des Staphylotoxins und seines Antitoxins in der eingehendsten Weise geklärt zu haben. Es geht aus diesen Untersuchungen hervor, dass die typischen pyogenen Staphylokokkenarten stets durch Hämolyisinbildung ausgezeichnet sind und weiterhin, dass die Hämolyisine der pyogenen Albus- und Aureusstämme identisch sind. Neisser und Wechsberg zeigten ferner, dass dieses Staphylolysin sich auch dadurch als echtes Toxin erweist, dass man mit ihm durch Vorbehandlung ein specifisches Antitoxin erzielen kann. Dieses specifische Antilysin findet sich aber nicht nur in den durch Vorbehandlung gewonnenen Immunseris, sondern es lässt sich auch in gewissen Normalseris nachweisen, so besonders im normalen Pferde- und Menschenserum. Neisser und Wechsberg haben selbst 21 Sera von normalen und kranken Menschen auf ihren Antilysingehalt untersucht und „beträchtliche Unterschiede in der Wirksamkeit der verschiedenen Sera constatirt.“ Systematische Krankenuntersuchungen konnten sie nicht vornehmen. Aber wenn die Autoren ferner sagen: „Man wird jedenfalls von vornherein erwarten dürfen, dass bestehende oder überstandene Staphylokokkenprocesse eingreifenderer Natur in dem Antitoxingehalte zu irgend einem Ausdrücke kommen“, so sind sie sich der Bedeutung weiterer serodiagnostischer Untersuchungen auf diesem Gebiete wohl bewusst.

In der That liegen die Aussichten für eine klinisch-serodiagnostische Verwerthbarkeit der Antilysinbestimmung äusserst günstig. Wir haben gesehen, dass die Eigenschaft der Hämolyisinproduction ein constantes Merkmal der pyogenen Staphylokokken ist und wir sind so berechtigt, anzunehmen, dass jedes Mal bei der Ansiedelung dieser Krankheitserreger im Organismus durch die specifische Gift-, eine der Menge der ersteren und der Reactionsfähigkeit des Körpers entsprechende Gegengiftbildung ausgelöst werden wird, die sich dann durch die Vermehrung des normalen Antilysingehaltes des menschlichen Blutserums documentiren muss. Dieser letztere Factor, der normale Antilysingehalt, ist das einzige etwaige Hinderniss, das dieser Methode entgegenstehen könnte; denn wenn sich herausstellt, dass schon im normalen Serum die Antilysinmenge unberechenbaren Schwankungen unterworfen ist, so würde die bei pathologischen Processen gesteigerte Gegengiftproduction natürlich an Beweiskraft alles oder vieles einbüßen müssen.

Es schien uns daher unbedingt nöthig, eine grössere Anzahl normaler menschlicher Sera vergleichend auf Antilysingehalt zu untersuchen und dann erst Sera von echten Staphylokokkenkranken oder Verdächtigen anzuschliessen.

Die Methodik unserer Untersuchungen unterschied sich in nichts Wesentlichem von der von Neisser und Wechsberg bei ihren Studien innegehaltenen. Es sei bemerkt, dass dieselbe auch für den in diesen Arbeiten weniger geübten keine besondere Schwierigkeiten, weder in der Ausführung, noch in den nöthigen Utensilien bietet, und sich nach einiger Uebung nicht complicirter gestaltet, als eine exact ausgeführte Gruber-Widal'sche Reaction.

Als Gifte benutzten wir Filtrate 12 bis 13-tägiger Bouillonculturen von frisch gezüchteten pyogenen Staphylokokken. Wir erhielten so Lysine mit der für Kaninchenblut einfach lösenden Dose von 0.025 bis 0.05 im Durchschnitt. Die Conservirung geschah in der von Neisser und Wechsberg angegebenen Weise (10 Carbol, 20 Glycerin, 70 Aqua, davon 5 auf 100 Filtrat). Als Standardserum gebrauchten wir ein normales, im Vacuum eingetrocknetes Placentarserum mit einem vollständig neutralisirenden Antilysingehalt von 0.1 für die zweifach lösende Dose frischen Toxins.

Prüfung eines Staphylolysins:

Toxinmenge	0.2	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	2 Std. bei 37°, dann 24 Std. im Eisschrank
	auf 2 ^{cem} mit 0.85 procent. NaCl-Lösung aufgefüllt je 1 Tropfen frisches Kaninchenblut						
	complet	complet	complet	complet	incompl.	Kuppe	

Antilysingehalt des Standardserums:

Toxinmenge = 2 × Lc.	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	1 Std. bei 37°, dann 1 Tropfen Kan.-Blut, 2 Std. bei 37° u. 24 Std. im Eisschrank
norm. Placentar- tarserum	0.2	<u>0.1</u>	0.05	0.025	0.01	0.005	
Resultat:	0	<u>0</u>	Spur	Kuppe	incompl.	complet	

Mit diesem jedes Mal frisch mit destillirtem Wasser im Verhältniss 0.1:1 gelösten Standardserum wurden nun die übrigen zu untersuchenden Sera verglichen. Wir setzen im Folgenden die vollständig neutralisirende Dose unseres Standardserums (0.1) = 1 und berechnen hierauf den Antilysingehalt der übrigen Sera; d. h. wenn wir zum Beispiel ein Serum finden, von dem 0.05 dieselbe Menge Toxin (zweifach lösende Dose) völlig neutralisirt, wie 0.1 Standardserum, so ist der Antilysinwerth dieses Serums = 2 u. s. w.

Die Entnahme der zu prüfenden Sera geschah von dem einen von uns (Schultze) in der chirurgischen Klinik, wo auch der bakteriologische Befund erhoben wurde, theils durch Venenpunction, theils durch Schröpfköpfe; zur Anstellung der Reaction reicht eine Serummenge von 0.5^{cem}

völlig aus. Die Untersuchung geschah durch die beiden anderen (Bruck und Michaelis) im Institut für Infektionskrankheiten auf der Abtheilung des Hrn. Prof. Wassermann. Wir überzeugten uns übrigens häufig davon, dass ein sofortiges Ansetzen der Prüfung nicht unbedingt nothwendig ist; der Antilysingehalt der Sera bleibt längere Zeit derselbe, wir konnten z. B. nach 4 Wochen einen unveränderten Gehalt feststellen.

Wir lassen zunächst unsere Untersuchungsergebnisse gesunder Menschen folgen. Diese Sera entstammen theils völlig gesunden Personen, theils solchen, die wegen irgend einer anderen, nicht infectiösen Erkrankung, die Kgl. chirurgische Klinik aufgesucht hatten. Zum besseren Verständniss haben wir für einen dieser Fälle das ausführliche Versuchsprotokoll, für die anderen nur den berechneten Antilysinwerth angegeben.

Antilysingehalt eines normalen menschlichen Serums.

I.	Toxinmenge 2 x Lc.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	Auf 2 ^{cem} aufgefüllt 1 Std. Bindg. bei 37°, dann 1 Tropf. frisch. defibr. Kan.-Blut. zugefügt, 2 Std. unt. öft. Aufschütt. bei 37°, 24 Std. auf Eis, dann abgeles.
	Standard-serum	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	0.0025	0.001	
	Resultat:	0	0	Spur	Kuppe	fast compl.	compl.	compl.	compl.	

II.	Toxinmenge 2 x Lc.	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	Versuchs-anordnung wie vorher.
	zu prüfendes normal. Serum v. ein. gesund. Menschen	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	0.0025	0.001	
	Resultat:	0	Spur	Kuppe	Kuppe	fast compl.	compl.	compl.	compl.	

Controlen:

0.05 Toxin = 1 fach Lc. + 1.95 phys. NaCl-Lösung	0.1 Toxin = 2 fach Lc. + 1.9 phys. NaCl-Lösung	2 ^{cem} phys. NaCl-Lösung
je ein Tropfen Kaninchenblut		
complet	complet	0

Antilysinwerth des normalen menschlichen Serums: $\frac{1}{4}$.

[Völlig neutralisirende Dose des Standardserums = 0.1,
 „ „ „ „ untersuchten Serums = 0.25.]

Antilysinwerth normaler menschlicher Sera.

Herkunft des Serums	Antilysinwerth	Herkunft des Serums	Antilysinwerth
Gesunder I	1	Patient mit nicht ulcerirt. Cancroid	$\frac{1}{4}$
„ II	weniger als $\frac{1}{2}$	Patient mit nicht ulcerirt. Dermoid	5
„ III	ca. 1	Patient mit beginnender Coxitis tubercul.	1
„ Dr. M.	weniger als $\frac{1}{2}$	Patient mit frischer Bissverletzung	$\frac{1}{2}$
„ Dr. K.	weniger als $\frac{1}{2}$	Patient mit frischer Unterschenkelfraktur	$\frac{1}{2}$
„ Dr. B.	1		
„ Dr. D.	weniger als 1		
„ Dr. C.	weniger als 1		
Normal Placentarserum a	weniger als $\frac{1}{2}$		
„ „ b	weniger als $\frac{1}{2}$		
„ „ c	1		

Wir ersehen also, dass von den untersuchten 17 normalen menschlichen Seris ein einziges (Dermoid) einen Antilysinwerth von 5 aufwies; im Uebrigen erhob sich dieser Werth nicht über 1.

Ob bei dem betreffenden Falle nicht doch eine Staphylokokken-erkrankung (Furunculose?) im Spiele war, liess sich nicht eruiren.

Wir gehen jetzt zur Untersuchung derjenigen Sera über, die von Staphylokokken-erkrankungen stammten, oder die von Patienten herrührten, welche solcher Erkrankungen verdächtig erschienen.

Beispiel:

Bestimmung des Antilysinwerthes eines Serums von einer
14 Tage alten Mastitis puerperalis.
Im Eiter Reincultur von *Staphylococcus aureus*.

Toxinmenge 2fach Lc.	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	Versuchsanordnung wie vorher.	
Standardserum	0.2	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005		
Resultat:	0	Spur	fast compl.	compl.	compl.	compl.		
Toxinmenge 2fach Lc.	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2	0.2
Mastitisserum	0.2	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005	0.0025	0.001
Resultat:	0	0	0	0	0	0	Kuppe	fast compl.

Controllen:

0.2 Toxin = 2fach Lc. 1.8 phys. NaCl-Lösung	0.1 Toxin = 1fach Lc. 1.9 phys. NaCl-Lösung	2 cem phys. NaCl-Lösung
complet	complet	0

Antilysinwerth des Mastitisserums: 40.

$$\left[\begin{array}{l} \text{Völlig neutrale Dose des Standardserums} = 0.2 \\ \text{„ „ „ „ Mastitisserums} = 0.005. \end{array} \right]$$

**Antilysinwerthe
der Sera von echten Staphylokokkenerkrankungen.**

Nr.	Herkunft des Serums	Antilysinwerth	Bemerkungen
1	Osteomyelitis scapul. acuta	20	8jähr. Knabe. Bei Entnahme des Serums bereits 2 Tage n. d. Operation. Staph. †.
2	Osteomyelitis cruris chron.	50	Recidiv nach 18 Jahren. Besteht bei der Entnahme d. Serums ca. 4 Woch. Staph. †.
3	Subacute Osteomyelitis	weniger als 1	Bei einem alten Mann: wenig Staphylokokken mit geringer Wachstumsenergie.
4	Carbunkel am Handrücken	1	10 Tage alt. Staphylokokken. †.
5	Bubo axillaris	fast 1	Alter Mann. Bubo besteht 14 Tage lang. Staphylokokken. †.
6	Bubo axillaris	10	Junger Mann. Bubo besteht 4 Wochen. Staphylokokken. †.
7	Lymphadenitischer Abscess	10	Staphylokokken. †.
8	FrISChe Mastitis puerperal.	1	Staphylokokken. †.
9	Mastitis puerperalis	10	14 Tage bestehend. Staphylokokken. †.
10	Osteomyelitis femoris	fast 5	13jähr. Mädchen, Process seit 9 Tagen bestehend. Staphylokokken. †.
11	Bubo axillaris	10	Seit 14 Tagen bestehend. Staph. †.
12	Ulcerirtes Hautcarcinom	10	Seit Jahren bestehend. Staph. †.
13	Subpectoraler Abscess	5	14 Tage bestehend. Staphylokokken. †.
14	Schweissdrüsenabscess in der Achselhöhle	10	Staphylokokken. †.
15	Mastitis puerperalis	40	6 Wochen bestehend. Derselbe Fall wie Nr. 9. Staphylokokken. †.
16	Osteomyelitis chron.	100	Altes Recidiv bei 14jähr. Jungen. Staphylokokken. †.
17	Osteomyelitis chron.	ca. 20	19jähr. Mann. Process besteht 2 Jahre. Staphylokokken. †.
18	Furunculosis	40	30jähr. Mann, seit 6 Wochen zahllose Furunkeln. — Dieser Fall entstammt der Poliklinik von Dr. Max Joseph.
19	Osteomyelitis acuta	10	4jähr. Kind. Process 3 Wochen alt. Geht von selbst zurück.
20	Osteomyelitis acuta	20	3 Wochen bestehend. Staphylokokken. †.
21	Osteomyelitis humeri chron.	10	8 Wochen. Staphylokokken. †.
22	Furunculose	20	7 Wochen bestehend.

**Differentialdiagnose zwischen echten Staphylokokken-
erkrankungen, Erkrankungen durch andere Eitererreger,
Tumoren u. s. w.**

Nr.	Herkunft des Serums	Antilysin- werth	Bemerkungen
1	Phlegmone des Vorderarmes	2	Seit 8 Tagen. Streptokokken.
2	Tuberculöse Kniegelenks- entzündung	1	Keine Staphylokokken.
3	Lymphadenitis tuberculosa?	ca. $\frac{1}{2}$	Impfung steril. — Lungentuberculose.
4	Phlegmone tendin. d. Hand	ca. $\frac{1}{2}$	Streptokokken.
5	Abscess am Sternum dunkl. Provenienz	ca. $\frac{1}{2}$	Impfung steril.
6	Abscess am Thorax	1	Impfung steril.
7	Erysipelat. Phlegmone	weniger als 1	Streptokokken. — Der Fall entstammt d. Krankenabtheil. d. Inst. f. Infect.-Krankh.
8	Panaritium, subcutan	ca. 1	Streptokokken.
9	Abscess am Unterkiefer	4	Eiter steril.
10	Tumor der Niere, Abscess?	4	Erwies sich als malignes Lymphom. Krankenabth. d. Inst. f. Infect.-Krankh.
11	Panaritium, subcutan	10	8 Tage alt. — Strepto- u. Staphylokokken.
12	Cancer en cuirasse oder Holzphlegmone	2	Section: Carcinom.
13	Kiefertumor mit stark zer- fallen. Höhle. Osteomyelitis?	10	Staphylokokken †. — Mikrosk. Riesen- zellensarcom.
14	Chron. Endometritis	2	Gonokokken.
15	Tuberculose im Schenkel- hals od. Osteomyelitis?	ca. 10	Operation: Chron. Osteomyelitis. Impfung negativ.
16	Osteomyelitis femoris?	4	Beschwerden erwiesen sich als hysterisch.

Wir haben bereits Eingangs hervorgehoben, dass uns die untersuchten 51 Sera noch nicht genügen, um ein abschliessendes Urtheil über die Brauchbarkeit der Antilysinreaction zur Diagnose von Staphylokokken-erkrankungen zu fällen. Man wird aber zugeben müssen, dass die bisherigen Resultate durchaus angethan sind, zu weiteren Untersuchungen aufzufordern. Während wir in den Seren von Gesunden einen Maximalantilysinwerth von fünf constatiren konnten, ist es uns gelungen, nachzuweisen, dass bei 19 unter 25 Sera, die von sicheren Staphylokokken-erkrankungen stammten, der Antilysinwerth 10 und darüber (bis 100) betrug. Man dürfte daher wohl berechtigt sein, zu behaupten, dass ein Antilysinwerth von 10 mit grosser Wahrscheinlichkeit eine Staphylokokken-erkrankung verräth, während ein Werth über 10 diese Wahrscheinlichkeit zur Gewissheit macht.

Bei sechs der untersuchten echten Staphylokokken-erkrankungen war es uns nicht möglich, einen Antilysinwerth von über fünf zu constatiren. Dass hierbei natürlich die Dauer und Ausdehnung der Erkrankung, sowie die

Virulenz der Erreger eine grosse Rolle spielt, ist selbstverständlich, und wir werden bei frischen Processen nicht sofort einen grossen Antilysingehalt im Serum erwarten dürfen. Dass der Antilysingehalt erst allmählich im Laufe der Erkrankung ansteigt, zeigt ja das Mastitiss Serum 9 und 15 in schönster Weise. Aber es scheint doch, dass auch die Reactionsfähigkeit des inficirten Organismus eine gewisse Rolle spielt. (Alter u. s. w.) Es dürften hier die Verhältnisse eben ähnlich liegen, wie bei der Gruber-Widal'schen Reaction: negativer Ausfall beweist nichts gegen die specifische Erkrankung, ein deutlich positiver aber alles für dieselbe.

Dagegen kommt die bei der Typhusreaction durch das Phänomen der Gruppenagglutination so häufig beobachtete Beeinträchtigung der Specificität bei der Antilysinreaction nicht in Betracht. Der Vorgang ist hier, wie dies auch Neisser und Wechsberg schon betonten, ein absolut specifischer. So konnten wir bei den zur Untersuchung gelangten Streptokokkenkrankungen niemals einen irgendwie erheblichen Antilysinwerth constatiren; es sei denn, dass eine Mischinfection mit Staphylokokken vorlag.

Wir behalten uns vor, die begonnenen Untersuchungen noch weiter fortzuführen; insbesondere noch einige wichtige Fragen, z. B. die Dauer des hohen Antilysingehaltes im Blutserum nach einer Staphylokokkenkrankung zu studiren und vor Allem den Versuch zu machen, dieselbe Methode auch für andere Krankheitserreger zu verwerthen.