

Experimentelle und klinische Grundlagen für die Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion der menschlichen Cornea (Ulcus serpens) / von Paul Römer.

Contributors

Römer, Paul.
University College, London. Library Services

Publication/Creation

Weisbaden : Verlag von J. F. Bergmann, 1909.

Persistent URL

<https://wellcomecollection.org/works/wcm42u9x>

Provider

University College London

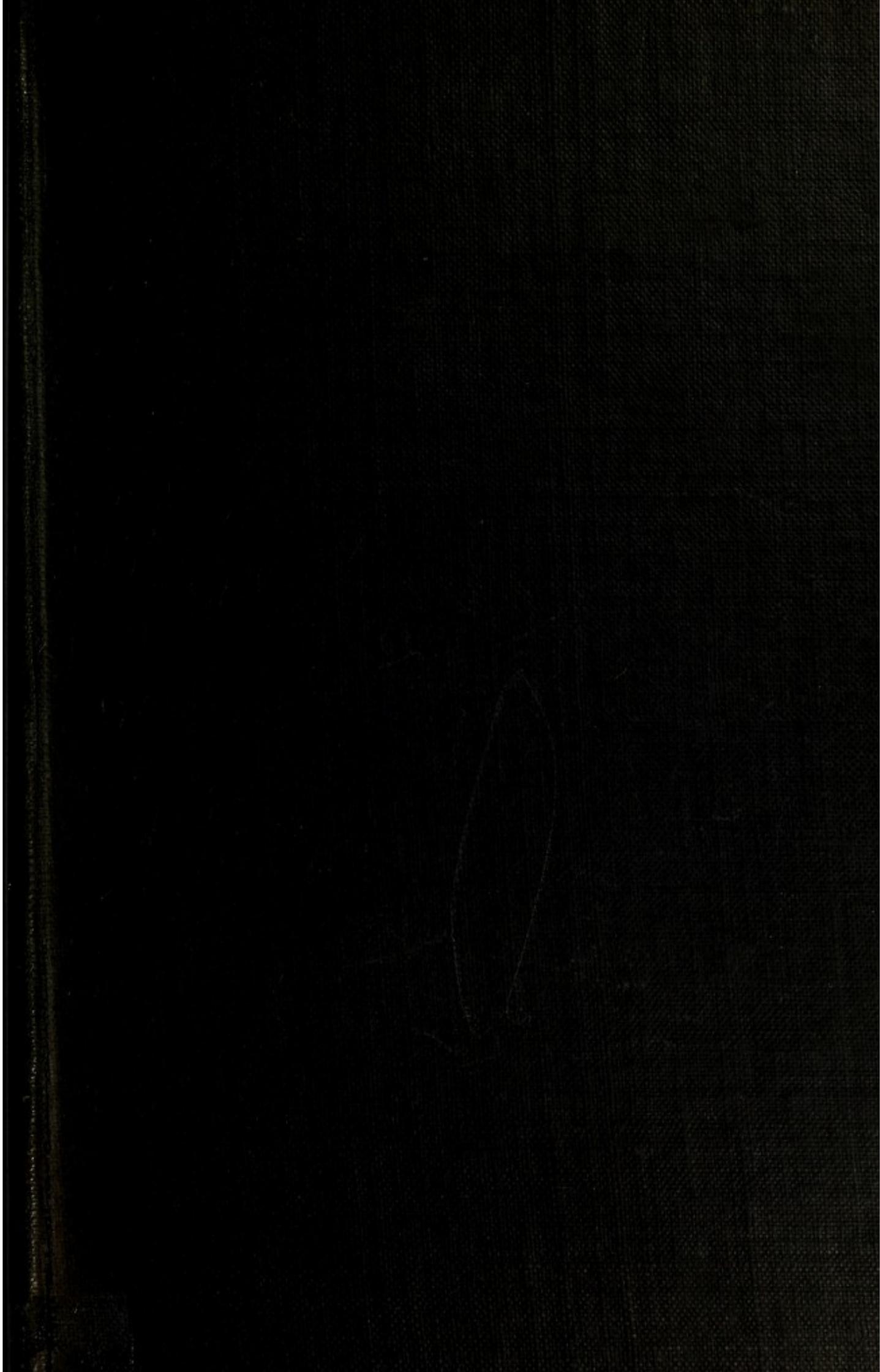
License and attribution

This material has been provided by UCL Library Services. The original may be consulted at UCL (University College London) where the originals may be consulted.

Conditions of use: it is possible this item is protected by copyright and/or related rights. You are free to use this item in any way that is permitted by the copyright and related rights legislation that applies to your use. For other uses you need to obtain permission from the rights-holder(s).



Wellcome Collection
183 Euston Road
London NW1 2BE UK
T +44 (0)20 7611 8722
E library@wellcomecollection.org
<https://wellcomecollection.org>



2809397096

No. 1166 | 4

J.51.

180

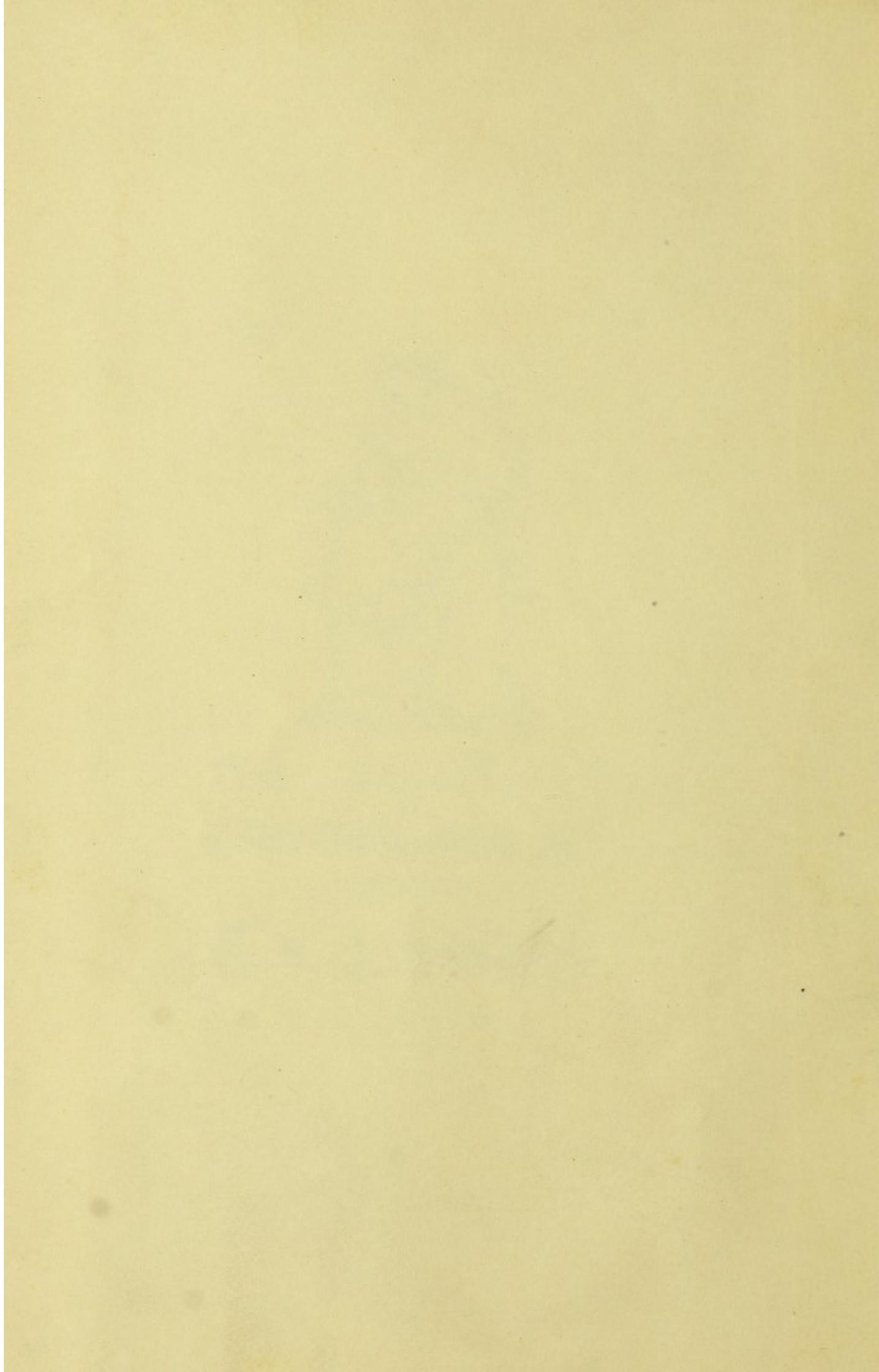


THE INSTITUTE
 OF
 OPHTHALMOLOGY
 LONDON

EX LIBRIS

OPHTHALMOLOGY H6632 RÖMER
 BOUND BY MUDIE

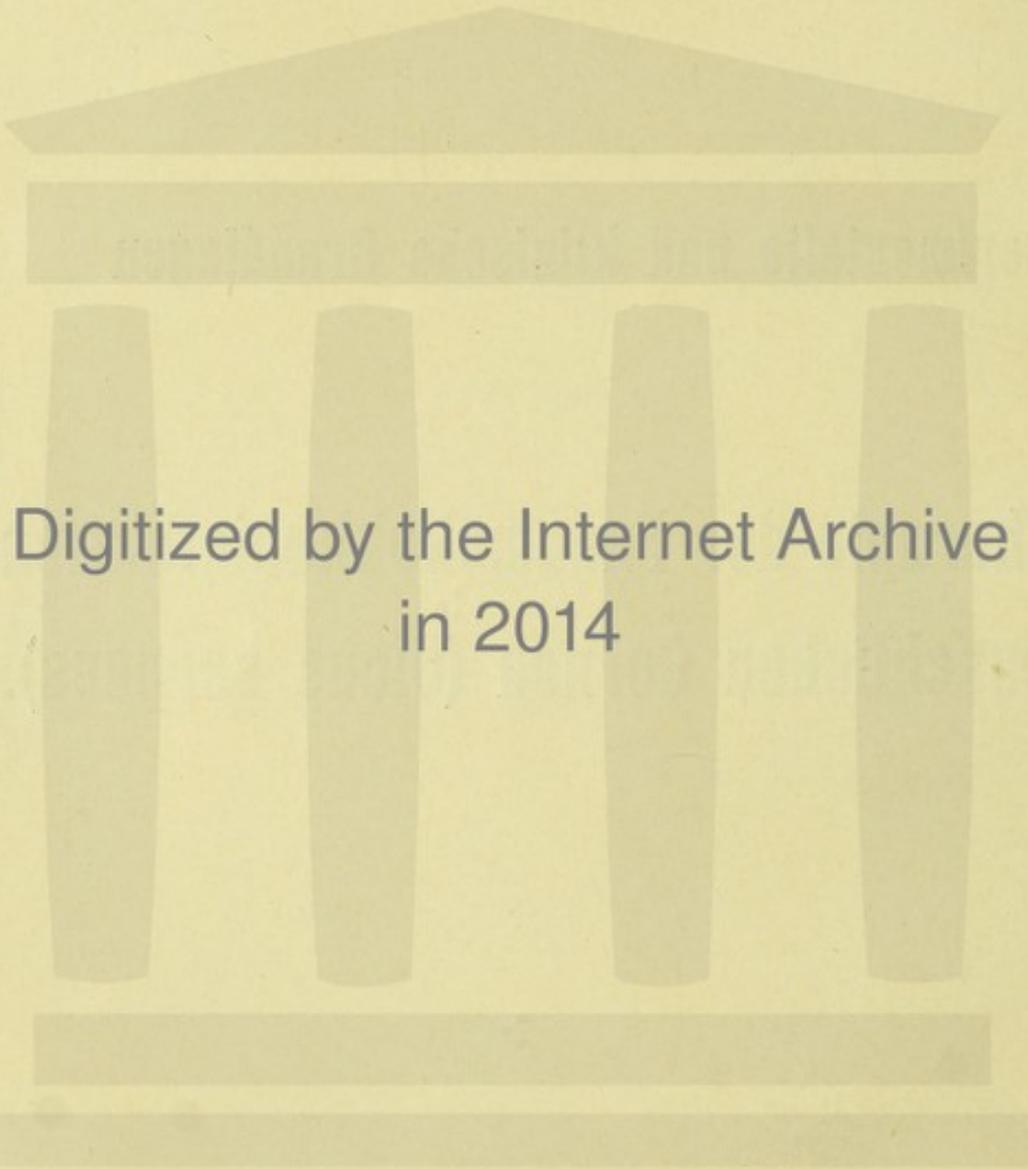
E 3. 2
17



Experimentelle und klinische Grundlagen

für die

**Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion
der menschlichen Cornea (Ulcus serpens).**



Digitized by the Internet Archive
in 2014

Experimentelle und klinische Grundlagen

für die

**Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion
der menschlichen Cornea (Ulcus serpens).**

Von

Professor Dr. Paul Römer,

Direktor der Universitäts-Augenklinik zu Greifswald.

Mit 13 Tafeln.

Wiesbaden.

Verlag von J. F. Bergmann.

1909.

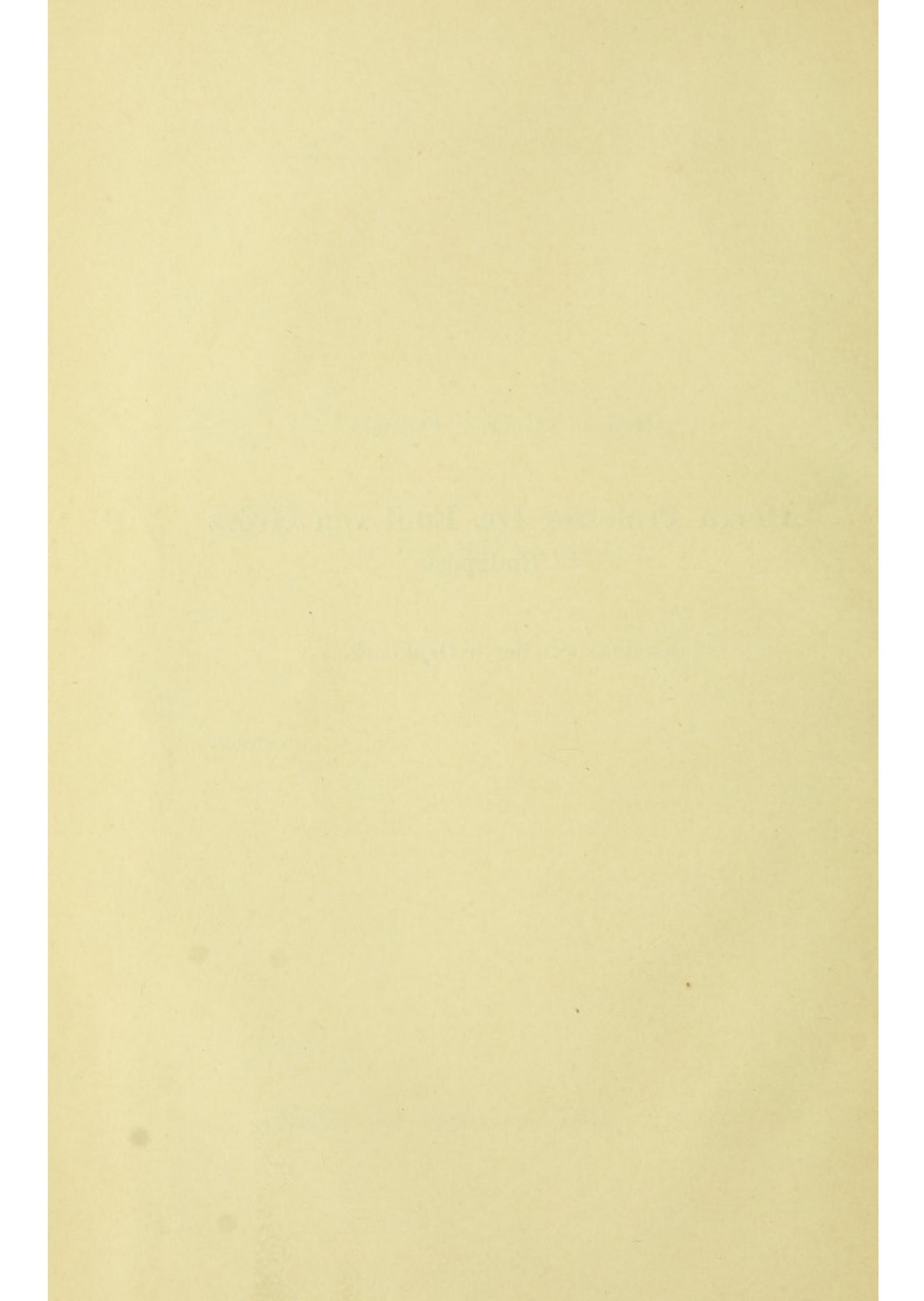
Alle Rechte vorbehalten.

Meinem verehrten Freunde

Herrn Professor Dr. Emil von Grósz
in Budapest

sei diese Studie in Dankbarkeit

gewidmet.



Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Einleitung	1
Die Aggressin-Lehre, ihre Ergebnisse und ihre Bedeutung für den Entwicklungsgang der Serumtherapie des Ulcus serpens	7
Bail's Immunisierungsmethode	15
Die Aggressintheorie	26
Kritik der Aggressintheorie	30
A. Sätze der Aggressintheorie	46
B. Sätze der Kritik	47
1. Folgerung aus der Aggressinlehre	50
Rückkehr zur Immunisierung mit hochvirulenten Pneumo- kokken-Kulturen	50
2. Folgerung aus der Aggressinforschung	60
Notwendigkeit der Virulenzbestimmung der Pneumokokken- stämme aus den Ulcera serpentia	60
3. Beziehungen zwischen Tiervirulenz der Pneumokokken und dem klinischen Bild des Ulcus serpens, die Frage der Spontan- heilung und definitiver Beweis für eine Heilwirkung des Pneumokokkenserums bei dieser Infektionskrankheit	73
Beitrag zur Frage der Spontanheilung von Pneumokokkeninfektionen der menschlichen Cornea	77
Serumtherapie und Virulenzkontrolle	79
Die Bedeutung der Opsoninforschung und der Theorie des Bakterio- tropismus für die Serumtherapie des Ulcus serpens	94
Überblick über die Opsoninforschung	97
Das Phänomen der Phagozytose der Pneumokokken in vitro	108
Technik	108
Beziehungen der Opsonine zu den Hämolysinen der normalen Sera	125
Tatsachen aus der Opsoninforschung	126
Phagozytose der Pneumokokken bei der aktiven Immunisierung	139
Reagenzglasversuch über den Gehalt spezifischer Sera an bakterio- tropen und opsonischen Pneumokokkenantikörpern	140

	Seite
Phagozytoseverhältnisse der Pneumokokken in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens	142
Technik	143
Phagozytose und Bakteriolyse, die beiden Grundphänomene auch bei der Heilung der peritonealen Pneumokokkeninfektion des Meer- schweinchens	145
Phagozytose der Pneumokokken bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens und bei Berücksichtigung verschiedener Virulenz- grade	147
Phagozytose der Pneumokokken bei der passiven Immunisierung und das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung	167
Versuche mit Pneumokokkenserum vom Pferd und abgetöteter Passagekultur	174
Schutzwirkung eines vom Hammel stammenden Pneumokokken- serums beim Meerschweinchen gegen lebende virulente Kultur ohne jede Phagozytose	175
Die Prüfbarkeit des Pneumokokkenserums und die Grenzen ihrer An- wendung beim <i>Ulcus serpens</i>	179
Die geringe Bedeutung der Phagozytose für die Heilung der Pneumo- kokkeninfektion der Cornea bei Tier und Mensch	186
Über lokale Anwendung des Pneumokokken-Trockenserums beim <i>Ulcus serpens</i>	193
Biologische Zusammengehörigkeit der Pneumokokkenstämme aus <i>Ulceraserpentia</i>	196

Einleitung.

Dass die von mir ins Leben gerufene Serumtherapie des *Ulcus corneae serpens* bei ihrer ersten Inszenierung nicht sogleich einen vollkommen abgeschlossenen Bau darstellen konnte, liegt in der Schwierigkeit des ganzen Problems naturnotwendig begründet.

Denn dieselbe muss mit dem Ausbau der Lehre von der Infektion und Immunität Hand in Hand einhergehen.

Und da die letztere selbst in ständigem Fluss und lebhafter Entwicklung begriffen ist, so erklärt es sich, dass wir auch in der Entwicklung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* verschiedene Phasen zu unterscheiden haben.

Die Kenntnis dieser einzelnen Phasen ist Vorbedingung für das Verständnis der folgenden Arbeit.

Als ich meine ersten Untersuchungen über diese spezifische Therapie begann, galt allgemein noch in der Bakteriologie der Satz, dass spezifische Sera, sollen dieselben in der menschlichen Therapie Verwendung finden und eine deutlich erkennbare Wirkung zeigen, mit stark tiervirulentem Material erzeugt und im Tierversuch prüfbar sein müssten.

Ich ging demgemäss auch bei der ersten Herstellung meines Pneumokokkenserums von dem Prinzip aus, dass nur vollvirulentes Material zur Immunisierung der Tiere zu verwerten sei.

Das Immunisierungsverfahren unterschied sich nur insofern von den früheren mehrfach angestellten Versuchen, als einmal möglichst zahlreiche solcher virulenten Pneumokokkenstämme gleichzeitig zur Anwendung kamen und ferner zur Herstellung des Serums mehrere

Tierarten herangezogen wurden in der Erwartung, dass auf diese Weise die günstigste Verwertung der spezifischen Antikörper im menschlichen Körper erzielt werden könnte.

Mit derartig hergestelltem Serum hatte ich dann neben experimentellen Untersuchungen auch meine ersten therapeutischen Versuche am Menschen angestellt. Dieselben lieferten bei einer Reihe von *Ulcera serpentina* in den ersten Stadien der Geschwürsentwicklung ein so auffallend gutes Resultat, dass ich, wie bekannt, im Jahre 1903 auf dem Heidelberger Kongress mit diesen klinischen Beobachtungen an die Öffentlichkeit treten konnte.

Allein die Herstellung derartiger Sera mit hochvirulentem Material ist mit unendlichen Schwierigkeiten verbunden und war nur, wie ich ebenfalls mitgeteilt habe, mit grossen Tierverlusten erreichbar.

Inzwischen begann sich in der Bakteriologie eine Strömung bemerkbar zu machen, welche zur Anschauung führte, dass nur menschenpathogene Kulturen ein Serum liefern würden, welches beim Menschen wirksam sein könnte.

Es stützte sich diese Anschauung auf die Beobachtung, dass die Tierpathogenität einer Kultur in vielen Fällen keinen sicheren Rückschluss auf die Infektiosität dem Menschen gegenüber zulässt und umgekehrt, und ferner auf die wiederholt festgestellte Erscheinung, dass Sera, welche mit einer Kultur gewonnen waren, anderen Stämmen gegenüber noch nicht wirksam zu sein brauchen.

Wenn sich nun auch keineswegs alle Vertreter der Serumforschung dieser Anschauung anschlossen, so kann es doch keinem Zweifel unterliegen, dass dieselbe eine weite Verbreitung gefunden hat. Den besten Beweis hierfür liefert die Tatsache, dass selbst solche Serumdarsteller, welche ursprünglich nur mit hochvirulenten Passagekulturen immunisierten, sich genötigt gesehen haben, diesen Passagekulturen auch noch Originalstämme vom Menschen hinzuzufügen.

Ich muss es mir versagen, an dieser Stelle auf die hierhergehörige umfangreiche Literatur im einzelnen einzugehen. Es wird genügen, wenn ich diejenigen, welche sich hierüber orientieren wollen, auf die Diskussion über Herstellung und Wert der *Streptokokkenserum* verweise.

Begreiflich wird es sein, dass auch die Herstellung des *Pneumokokkenserum* von dieser Richtung nicht unbeeinflusst

bleiben konnte. Ich sagte mir: Wenn es richtig ist, dass menschenpathogene Keime die geeignetsten Sera für den Menschen liefern, dann steht zu erwarten, dass Pneumokokkenstämme aus *Ulcera serpentina* auch das zweckmässigste Serum für die Behandlung dieser Geschwüre liefern werden.

Es war also die Aufgabe, in konsequenter Verfolgung dieser bakteriologischen Lehre hierüber Erfahrungen zu sammeln. Ich liess demgemäss Versuche machen, das Serum mit derartigen aus unseren *Ulcera* gezüchteten Stämmen herzustellen. Dazu gesellte sich sehr bald die Erfahrung, dass die Behandlung der grossen Tiere mit Pneumokokkenstämmen von *Ulcera serpentina* viel leichter durchzuführen war, weil dieselben nicht im entferntesten für die grossen Tiere so gefährlich ist. Wir waren damit in die zweite Phase der Entwicklung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* eingetreten.

Auch diese liegt jetzt bereits hinter uns. Denn ich kann heute, nachdem die experimentellen und klinischen Versuche abgeschlossen sind, den Satz aussprechen, dass sich die Erwartung, auf jene Weise am besten ein gerade für unsere ophthalmologischen Zwecke geeignetes Serum zu erhalten, nicht erfüllt hat.

Mögen die Verhältnisse bei Streptokokkenseris etc. anders liegen oder nicht, für die Serumtherapie der Pneumokokkeninfektionen, speziell für die Serumtherapie des *Ulcus serpens* gilt der Satz jedenfalls nicht, dass ohne weiteres die Kulturen, wie sie vom *Ulcus serpens* gewonnen werden, im Tierkörper auch die Entwicklung der für den Menschen geeignetsten Antikörper auslösen.

Diese Erkenntnis ist, das kann ich wohl sagen, mit einem grossen Aufwand von experimenteller Mühe und in steter klinischer Arbeit von mir gewonnen worden. Sie steht aber unzweifelhaft fest.

Dies geht, glaube ich, mit Sicherheit einmal aus meinen eigenen klinischen Untersuchungen an spezifisch behandelten *Ulcera serpentina* hervor.

Dieselben haben mich, wie aus meiner Arbeit „Ausbau der Serumtherapie des *Ulcus serpens*, die Kombination der aktiven mit der passiven Pneumokokken-Immunisierung“¹⁾ ersichtlich ist, eine Zeitlang veranlasst, zur Verbesserung der therapeutischen

¹⁾ Archiv für Augenheilkunde. LVI. Band. Heft 1/2, 1905.

Resultate neben der passiven auch noch die aktive Immunisierung mittelst abgetöteter Kulturen zu versuchen.

Aber ebenso geht dies hervor aus den zahlreichen therapeutischen Versuchen, die mit dem früheren Serum an einer Reihe von Kliniken angestellt sind.

Diese Versuche fallen in der weitaus überwiegenden Mehrzahl der Fälle in die Zeit, in der ich nur solches Serum absichtlich abgeben liess, das der Immunisierung mit Stämmen aus *Ulceria serpentina* allein seine Entstehung verdankte. Nur wenige Autoren, welche sich rasch für unsere Aufgabe interessierten, haben noch Aderlassproben erhalten, welche mit hochvirulentem Material gewonnen waren. Und es war mir nun sehr interessant, zum Teil mündlich, zum Teil brieflich zu hören, dass das Serum anfangs entschieden wirksamer gewesen sei.

Alle übrigen klinischen Mitteilungen aus den ophthalmologischen Kliniken beziehen sich auf Serumproben, die auf jene oben beschriebene Weise hergestellt waren.

Die auf diesem Wege erzielten Resultate sind von Axenfeld¹⁾ in seiner Arbeit zusammengestellt worden.

Damit ist die zweite Phase in der Entwicklung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* vorüber und es ist nicht unwichtig, wenn wir das bisher Erreichte kurz zusammenfassen.

Ich kann zu diesem Zweck das Schlusswort hier einfügen, das Axenfeld in seiner Festschrift: „Serumtherapie bei infektiösen Augenerkrankungen“, in welcher das bis dahin vorliegende klinische Material zusammengestellt wurde, gegeben hat:

„Überblicken wir das gesamte bisher vorliegende klinische Material über Serumtherapie gegen Pneumokokken, so ist eines sicher: Ein die Heilung begünstigender Einfluss der Römer'schen Serumtherapie ist bei manchen Fällen unverkennbar. Ich selbst glaube an meinem Material mich davon überzeugt zu haben. Zur prophylaktischen Behandlung von Hornhautverletzungen bei unreiner Umgebung ist das bisher erhältliche Römer'sche Serum in Verbindung mit der Anwendung abgetöteter Kultur durchaus zu empfehlen. Die Bestrebungen Römer's, die Ärzte zu dieser Prophylaxe heranzuziehen, sind prinzipiell auf das Entschiedenste

¹⁾ Axenfeld, Serumtherapie bei infektiösen Augenerkrankungen. Programm der Universität Freiburg, 1905.

zu unterstützen, unter der Voraussetzung, dass bei etwaigem Progress unter allen Umständen augenärztliche Behandlung nach Möglichkeit herbeigeführt wird. Sein Beispiel, die Behörden und Berufsgenossenschaften zur Tragung der Kosten heranzuziehen, wird in weitem Umfang zu befolgen sein, sobald über die Wirkung dieser Organisation in Bayern ein Urteil möglich ist, und sobald die Wirkung des Serums sicherer und gleichmässiger und sein Preis geringer geworden ist.

Gegen die ausgebrochene Erkrankung ist die alleinige Serumtherapie nur in den ersten Stadien gerechtfertigt, und zwar die simultane Methode, aber verlassen darf man sich nicht darauf. Der Nicht-Augenarzt kann die Therapie beginnen, soll solche Leute aber zu bewegen suchen, dass sie gleich zum Augenarzt gehen.

Wird sie unternommen, so sind sukzessive weitere Dosen angezeigt; tritt ein Progress ein, so ist weitere Serumbehandlung zwar in manchen Fällen imstande, denselben wieder zum Stehen zu bringen. Für solche Ulcera sind jedoch Dosen von 30 ccm schon nicht mehr zuverlässig. Aber auch ganz grosse Dosen, selbst wenn sie schliesslich Stillstand erzeugen, sind, abgesehen von den enormen Kosten, auch deshalb kein wesentlicher Gewinn gegenüber frühzeitiger Galvanokaustik, weil schliesslich die Narbe doch sehr ausgedehnt wird. Auch ist ein Stillstand nicht sicher zu erwarten.

Es ist deshalb bei mittlerem und grösserem *Ulcus serpens* die alleinige Behandlung mit dem bisher erhältlichen Serum, auch wenn aktive Immunisierung hinzutritt, nicht ratsam, mit Ausnahme vielleicht von sehr oberflächlichen, relativ gutartigen Fällen, bei denen eine exspektative Behandlung auch sonst statthaft erscheint, sowie bei schweren Fällen, wo die alte Therapie nicht anwendbar oder ungenügend wirksam ist, zur Unterstützung.

Ein weiteres Anwendungsgebiet für das Serum ist die Pneumokokkeninfektion nach tiefen Verletzungen und Operationen. Auch hier wird in erster Linie die Prophylaxe in Frage kommen, da die ausgebrochene Erkrankung schwer zu beeinflussen ist. In Zukunft wird man auch hier mit grossen Dosen vorgehen müssen.

So ist das Anwendungsgebiet zurzeit ein beschränktes. Aber dass überhaupt auf diesem Wege ein Einfluss erreicht ist, ist eine anerkennenswerte Leistung. Wenn die kürzlich angekündigte Wert-

bestimmung des Serums und ihre staatliche Kontrolle verwirklicht und dadurch eine gleichmässige Wirkung des Serums gesichert ist, wenn die Aggressinmethode uns ein wirksameres Serum bescheert, dann kann sich das Anwendungsgebiet des Pneumokokken-serums erweitern. Hoffen wir, dass Roemer's unermüdlichem Eifer auch dieser Erfolg zuteil werde.“

In der Überzeugung, dass es sich hier um die Lösung einer ophthalmologischen Frage von erheblicher Bedeutung und sozialer Tragweite handelt, habe ich meine Versuche unentwegt weitergeführt und ich kann jetzt einen Abschluss der Grundlagen für die Serumtherapie des *Ulcus serpens* den Fachgenossen vorlegen.

Wie sich noch zeigen wird, habe ich jetzt eine Exaktheit für die Beurteilung unserer serumtherapeutischen Bestrebungen erreicht, wie sie bisher wohl noch bei keiner Serumtherapie erzielt worden ist.

Schon früher einmal habe ich bezüglich der Immunitätsverhältnisse das Auge mit einer Uhr verglichen. Die Tatsache, dass beim *Ulcus serpens* der Infektionsherd frei vor unseren Augen liegt, hat es ermöglicht, dass wir die Breite der spezifischen Therapie wie an einer Uhr ablesen können.

Dass ich diesen Abschluss der notwendigen Grundlagen der Serumtherapie des *Ulcus serpens* erreicht habe, verdanke ich dem Umstand, dass ich in der Lage war, mich wissenschaftlich und praktisch mit zwei modernen Forschungsrichtungen auseinanderzusetzen, die in der Neuzeit eine grosse Bedeutung erlangt haben: Das ist die Aggressinforschung einerseits und die Opsoninforschung andererseits.

Damit betreten wir die letzte Phase in der Entwicklung der spezifischen Behandlung des *Ulcus serpens*.

Was dieselbe an experimentellen und klinischen Ergebnissen gebracht hat, darüber soll in der folgenden Arbeit berichtet werden.

Die Aggressin-Lehre, ihre Ergebnisse und ihre Bedeutung für den Entwicklungsgang der Serumtherapie des Ulcus serpens.

Zum Verständnis des Ganges meiner eigenen Untersuchungen ist zunächst ein Überblick über die Bestrebungen von Bail und seinen Mitarbeitern sowie über alles das, was sich aus diesen Untersuchungen und ihrer Diskussion von seiten anderer Autoren für die Ophthalmologie ergibt, erforderlich.

Es ist nicht ganz einfach in kurzen Abrissen ein hinreichend genaues Bild von diesen Diskussionen zu entwerfen.

Ich hoffe aber meine Aufgabe in objektiver Weise zu lösen und damit gleichzeitig allen denen einen Dienst zu erweisen, welche sich über dieses Gebiet orientieren wollen.

Ohne die Berücksichtigung des Folgenden ist es jedenfalls unmöglich einen Überblick über die Aufgaben zu erhalten, welche die Serumtherapie des Ulcus serpens noch zu lösen hatte. Es ist ein in der Bakteriologie heiss umstrittenes und mannigfach erörtertes Problem, von dem die Forschungen Bail's ausgehen.

Seit Buchner's grundlegenden Untersuchungen wissen wir dass das aktive Kaninchenserum in vitro eine ausserordentlich starke bakterizide Wirkung auf den Milzbrand-Bazillus ausübt.

Diese Wirkung ist so kräftig, dass hunderte und tausende von lebenden Milzbrandbazillen von kleinen Mengen aktiven Serums in kurzer Zeit vernichtet werden, Und doch gehen die Kaninchen bei intravenöser Infektion mit nur vereinzelt Bazillen an Milzbrand zugrunde. Wir finden bei der Sektion das Tier fast ganz durch-

setzt von Milzbrandbazillen. Wie ist das möglich? Warum gehen im lebenden Tierkörper die vereinzelt Bazillen nicht zugrunde, da doch das Blutserum des Tieres über eine ungeheure bakterizide Kraft verfügt?

Diese Erscheinung wird noch auffallender, wenn man die Tatsache berücksichtigt, dass bei einer für Milzbrand weniger empfänglichen Tierart die bakterizide Fähigkeit des Blutserums vollkommen fehlt. Im Serum des Hundes z. B. wachsen die Milzbrandbazillen ungeschädigt und doch ist der Hund sehr viel weniger für Milzbrand disponiert.

Diese Tatsachen wurden schon frühzeitig von Lubarsch¹⁾ der Buchner'schen Anschauung, nach der die natürliche Immunität auf der keimtötenden Wirkung des Blutes beruhe, entgegengehalten, und sie sind immer wieder von denen betont worden, welche die bakterizide Serumwirkung nicht als die wesentlichste Ursache der Bakterienimmunität ansehen können.

Eine Aufklärung dieses Widerspruches zwischen Serumbakterizidie und der natürlichen Immunität musste durch die Anwendung der Ehrlich'schen Rezeptoretheorie näher gerückt erscheinen, seitdem wir auf Grund der Forschungen von Pfeiffer, Ehrlich, Bordet etc. wissen, dass zur Bakteriolyse durch Normal- und Immunserum ein Zusammenwirken von Ambozeptoren und Komplementen erforderlich ist.

Von diesem Gesichtspunkt aus untersuchte Bail²⁾ zunächst die milzbrandfeindlichen Eigenschaften des Kaninchen- und Hundeserums. Er fand, dass das gegen Milzbrand völlig unwirksame Hundeserum durch Zusatz geringer Mengen aktiven Kaninchenserums sehr stark bakterizid wird. Diese Erscheinung konnte nur so gedeutet werden, dass das Serum des Hundes wohl geeignete Ambozeptoren, aber keine Komplemente besitzt, und dass das normale Kaninchenserum imstande ist, das Hundeserum zu komplettieren. Bewiesen wurde dies dadurch, dass es Bail mit Hilfe der Ehrlich'schen elektiven Absorption gelang, durch Behandlung des Hundeserums mit abgetöteten Milzbrandkulturen die Bakerizidie aufzuheben. Es zeigten diese Versuche jedenfalls, dass dem Hundeserum sehr leicht bakterizide Wirkungen erteilt werden können und es konnte

1) Lubarsch, Zentralbl. f. Bakt. Nr. 6.

2) Bail, Zentralbl. f. Bakt. 1903, Bd. 33, Nr. 5.

zunächst noch immer angenommen werden, dass die natürliche Immunität des Hundes im Verhalten seines Blutes bedingt sein könnte. Denn eine Anlagerung der Ambozeptoren an den Milzbrandbazillus erschien im Organismus möglich.

Damit ist zum wenigsten ein Einfluss des Organismus auf den Krankheitserreger denkbar, wenn auch schon diese Untersuchungen über das Verhalten des Hundeserums und Kaninchenserums zeigten, dass der einfache bakterizide Reagenzglasversuch für die Erklärung der Immunität nicht ausreichen kann¹⁾.

Auch Malvoz²⁾ war zu der Anschauung gekommen, dass im Hundeserum Stoffe von der Art der Immunkörper vorhanden sind. Und Pettersson³⁾ hatte gefunden, dass ebenso wie das Hundeserum so auch das Hühnerserum durch Kaninchenserum gegen Milzbrandbazillen aktiviert werden kann.

Bail und Pettersson⁴⁾ gingen dann diesen Fragen in gemeinsamen Untersuchungen weiter nach und fanden, dass die Sera ganz verschiedener Tierarten, die an und für sich keine Wirkung auf Milzbrandbazillen haben, durch Zumischen von Kaninchenserum sehr stark abtötend auf Milzbrandbazillen wirken. Besonders kommt diese Eigenschaft dem Serum von Mensch, Rind, Kalb, Schwein und Ziege zu.

Es zeigte sich bei diesen Untersuchungen immer wieder, dass einzig und allein das Kaninchenblut die zur Abtötung der Milzbrandbazillen erforderlichen Komplemente enthält, während sich Ambozeptoren bei den verschiedenen Tierarten nachweisen liessen. Unter diesen befinden sich sowohl die gegen Milzbrand widerstandsfähigsten wie die empfänglichen Tierarten⁵⁾.

Mit anderen Worten: Diese Untersuchungen der Sera vom Standpunkt der Rezeptoretheorie enthüllten neue biologische

1) Derselbe, Der Sitz der Komplemente im Kaninchenorganismus. Zentralbl. f. Bakt., Bd. 33, Nr. 8.

2) Malvoz, Annal. de l'Inst. Pasteur 1902, Nr. 8.

3) Pettersson, Zentralbl. f. Bakt. Bd. 33, 1903, p. 613—626.

4) Bail und Pettersson, Untersuchungen der Ergänzungsfähigkeit verschiedener Serumarten durch Kaninchenserum. Zentralbl. f. Bakt. 33, Nr. 10 und „Die Ergänzungsfähigkeit verschiedener Serumarten durch Leukozyten und Orgazellen des Kaninchens.

5) Dieselben, Das Verhalten des Pferde- und Rattenserums gegen Milzbrandbazillen und die Menge des Immunkörpers im normalen Serum verschiedener Tiere. Zentralbl. f. Bakt. 34, Nr. 2.

Eigentümlichkeiten, vermehrten aber nur die Zweifel an dem Zusammenhang zwischen milzbrandtötender Kraft des Blutes und der natürlichen Immunität.

Es blieb aber immerhin möglich, dass die natürlich immunen Tiere vielleicht einen grösseren Gehalt an Immunkörpern besaßen, als die empfänglicheren Tiere, und dass vielleicht von diesen quantitativen Differenzen die Empfänglichkeit einer Tierart abhängig ist.

Bail untersuchte daher mittelst der elektiven Absorption den Gehalt der verschiedenen Sera an Ambozeptoren. Es ergab sich jedoch, dass auch hier keine Beziehung zur natürlichen Immunität gefunden werden kann. Denn das Blut der empfänglichen Tierarten, z. B. des Rindes, enthält eine grosse Menge von Immunkörpern, während der Gehalt des Serums vom widerstandsfähigen Schwein an diesen Substanzen ein verschwindend kleiner ist. Und doch kann es keinem Zweifel unterliegen, dass in einem geeigneten Organismus die Milzbrandbazilleninfektion nur dadurch zum Stillstand und zur Heilung gelangen kann, dass die Milzbrandbazillen mehr oder weniger rasch vernichtet werden müssen. „Wenn dieses Wachstum im Körper des Kaninchens trotz der stärksten bakteriziden Eigenschaften seiner Säfte stattfindet, so muss im Körper eine Hemmung existieren, die ausserhalb des Körpers im Serum wegfällt. Und umgekehrt, wenn im Huhne die injizierten Bazillen sich nicht zu vermehren imstande sind, so muss im Organismus eine Abtötung möglich sein, die im extravaskulären Blute nicht nachweisbar ist“¹⁾.

Nun hatte Bail in Übereinstimmung mit Conradi gefunden, dass das Blut des Kaninchens auch dann noch seine keimtötenden Eigenschaften behält, wenn das Tier bereits schwer milzbrandkrank ist. Verändert sich aber die biologische Zusammensetzung des Serums nicht, dann kann auch ein Verbrauch des bakteriziden Systemes (Ambozeptor + Komplement) nicht in erheblichem Umfang stattgefunden haben.

Es ergab sich daher von selbst die Prüfung der Frage, ob denn überhaupt im lebenden Tierkörper die Bakteriolyse dem Milzbrandbazillus gegenüber in Tätigkeit treten kann.

Bail und Pettersson untersuchten demgemäss die Körperorgane des Kaninchens sowohl für sich allein als in Verbindung

¹⁾ Bail und Pettersson, Versuch einer Erklärung der Milzbrandempfänglichkeit des Kaninchens. Zentralbl. f. Bakt. 35. Bd., Nr. 5.

mit dem Blute des gleichen Tieres. Dabei stellte sich heraus dass das Kaninchenserum in Verbindung mit den Organen sich bezüglich seiner Wirkung auf den Milzbrandbazillus wesentlich anders verhält wie in dem gewöhnlichen bakteriziden Reagenzglasversuche. Extrakte aus den Organen, ja selbst intakte Zellen, wie Leukocyten, Spermazellen hoben die bakterizide Wirkung des Serums auf Milzbrandbazillen mehr oder weniger stark auf. Und zwar konnte mittelst der in der Hämolyseforschung von Ehrlich und Morgenroth begründeten Methoden gezeigt werden, dass die Aufhebung der bakteriziden Wirkung des Kaninchensersums hierbei durch die Bindung der Ambozeptoren bei Unversehrtheit der Komplemente bedingt ist.

Wollen wir uns vorstellen, dass die Bindungsvorgänge dieser Ambozeptoren mit den Gewebszellen sich auch im lebenden Organismus vollziehen — dass diese im Serum der verschiedensten Tierarten befindlichen Körper eine wichtige Aufgabe des Stoffwechsels zu erfüllen haben, ist sehr wahrscheinlich — so könnte zum mindesten das Blut des Kapillarkreislaufes nicht mit dem verglichen werden, was im Reagenzglas aufgefangen wird. Milzbrandbazillen, die in das Blut gelangen, könnten dann wohl innerhalb der grossen Gefässe in analoger Weise der Serumbaktericidie anheimfallen wie *in vitro*. Allein in den Kapillaren, wo die Zellen überall dem Serum die Ambozeptoren entziehen könnten, müssen die Verhältnisse ganz anders liegen. Hier wird es ganz auf die Aviditätsverhältnisse ankommen, ob der Ambozeptor von der Zelle oder dem Bazillus gebunden werden kann. Schon die erste Vorbedingung zum Zustandekommen der bakteriziden Wirkung des Serums, die Bindung der Ambozeptoren an die korrespondierenden Gruppen der Bakterien ist daher innerhalb der Organe nur schwer erfüllbar.

Wie steht es nun mit der anderen Komponente des Bakteriolysins innerhalb der Organe? Kann das Komplement innerhalb des Organes zur Wirkung gelangen?

Wieder liess sich mittelst der in der Hämolyseforschung angewandten Methoden zeigen, dass die Affinität der Ambozeptoren zu den Zellrezeptoren eine grössere ist als zu dem Milzbrandbazillus, dass also die Verbindung: Immunkörper — bakterizides Komplement bei Anwesenheit von Organzellen nicht möglich ist.

Bail und Pettersson kamen also zu dem Schluss, dass die *in vitro* so sehr frappante Abtötung von Milzbrandbazillen durch Kaninchenserum im lebenden Organismus entweder gar nicht oder nur während kurzer Zeit in den grossen Gefässen erfolgen kann. „Der Milzbrandbazillus ist daher trotz der imponierenden bakteriziden Kraft, die das Kaninchenserum ausserhalb des Tierkörpers entfaltet, innerhalb der Kaninchenorgane keiner Gefährdung ausgesetzt.“

Diese Verhältnisse wurden ferner genau bei dem von Natur für Milzbrand sehr unempfindlichen Huhn untersucht. Und bei der künstlichen Milzbrandimmunisierung des Hundes ergab sich, dass eine Vermehrung des Immunkörpers des Serums dabei nicht stattfindet. „Das Serum verhält sich in dieser Hinsicht nach dem Immunisieren genau so wie vor demselben“¹⁾.

Auf Grund dieser umfangreichen Untersuchungen über erworbene und natürliche Milzbrandimmunität gelangte Bail zu der Überzeugung, dass die Vorgänge der Bakteriolyse für das Wesen der Immunität nicht die Bedeutung haben, welche ihnen bisher in der Immunitätsforschung zugeschrieben wurden und noch immer zugeschrieben werden.

Beim Milzbrand besteht jedenfalls ein Zusammenhang zwischen der Menge der im Serum enthaltenen Immunkörper und der Empfänglichkeit der betreffenden Tierart nicht. Im Serum des Schafes sind nur wenig, in dem des Kaninchens sehr viel und in dem des Rindes noch mehr Immunkörper nachweisbar, und doch sind diese Tierarten fast gleichmässig für Milzbrand empfänglich. Es liessen sich weder in den Organen des natürlich immunen Huhnes noch in denen des künstlich immunisierten Kaninchens Verhältnisse auffinden, die den bakteriziden Reagenzglasversuchen verglichen werden konnten.

Die von Bail gewonnenen Immunsera, welche imstande waren, andere Tiere mit Sicherheit zu schützen, besaßen nicht die Eigenschaften bakterizider Sera.

¹⁾ Bail und Pettersson, Versuche zu einer Erklärung der natürlichen Immunität des Huhnes und Über die künstliche Milzbrand-Immunität des Hundes. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 35 u. 36.

Nachdem Bail so beim Milzbrand gefunden hatte, dass die Bakteriolyse wohl ausserhalb des Tierkörpers schnell und prompt verläuft, dass sie aber im Organismus nur unter bestimmten Versuchsbedingungen eintritt, war er vor die Frage gestellt, ob denn ein solcher nur unter bestimmten Bedingungen stattfindender Vorgang wirklich die Hauptursache der Immunität sei, wie bisher von verschiedenen Seiten angenommen wurde. Er verneinte diese Frage und ging noch weiter.

Er kam zu der Überzeugung, „dass die keimtötende Eigenschaft der Körperflüssigkeiten im Grunde wertlos für Erklärungsversuche der Immunität sei“.

Es lag auf der Hand, dass diese vollkommene Verneinung des Wertes der Serumbakterizidie auf harten Widerstand stossen musste. Und Bail wird wohl heute selbst zugeben können, dass er hierin etwas zu weit gegangen ist.

Diese Auffassung von Bail beruht vor allem auf seinen Versuchen über Typhus- und Choleraimmunität.

Bei diesen Infektionskrankheiten sind ja die bakteriziden Antikörper von R. Pfeiffer entdeckt worden und in unzähligen Versuchen war festgestellt worden, dass in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens unter der Wirkung des injizierten bakteriziden Immunserums diese Krankheitserreger prompt aufgelöst werden. Nach den zahlreichen experimentellen Tatsachen müssen wir uns vorstellen, dass sich die injizierten bakteriziden Ambozeptoren mit den Komplementen des normalen Tieres verbinden und so das wirksame Bakteriolysin darstellen.

Tatsächlich erfolgt auch im Reagenzglas die Vernichtung der Bakterien auf diese Weise.

Bail erwartete nun, dass, wenn die passive Immunisierung auf der Einführung dieser Immunkörper beruht, sich auch in der Blutbahn die bakteriziden Vorgänge ebenso prompt abspielen müssten.

Er injizierte daher in grossen Versuchsreihen das Immunserum mit den Typhusbazillen in die Blutbahn und untersuchte die Organe nach verschiedenen Zeiten auf ihren Keimgehalt.

Dabei ergab sich nun das überraschende Resultat, „dass die Bazillen trotz des Immunserums in den Organen lebend bleiben und zwar so, dass kein wesentlicher Unterschied Tieren gegenüber besteht, welche Bazillen allein erhalten haben“.

Dieses Resultat konnte nach Bail nicht durch die Annahme erklärt werden, dass im typhuskranken Tier vielleicht die Komplemente verbraucht seien. Denn schon Hoke hatte gefunden, dass im infizierten Tier bis zum letzten Augenblick Komplemente vorhanden sein können. Und Bail konnte dieses Resultat bestätigen.

Das Serum der infizierten Tiere wirkte immer noch bakterizid. Obgleich also im Blute der passiv mittelst Immuserum immunisierten Tiere eigentlich alle Bedingungen zur Bakterizidie erfüllt waren, erfolgte doch die Abtötung der Bakterien innerhalb des Blutes der Organe nicht wie wir es im Reagenzglas zu sehen gewohnt waren.

Noch auffälliger wurde dieser Widerspruch mit den bisher herrschenden Anschauungen, als sich zeigte, dass Exsudate von intraperitoneal infizierten Tieren, die von Zellen befreit waren, *in vitro* stark bakterizid wirkten und doch im Tierkörper das Wachstum der Bazillen nicht verhindert hatten.

Auch bei Meerschweinchen, denen kleine Dosen Typhusbazillen gemischt mit solchen Mengen Immuserums in das Herz eingeführt wurden, dass Bruchteile dieser Serummengen Tiere bei intraperitonealer Infektion vollkommen schützten, ergaben sich analoge Verhältnisse.

„Das Gesamtergebnis der Versuche lässt sich dahin zusammenfassen, dass Typhusbazillen, die einmal in die Organe von Kaninchen und Meerschweinchen gelangt sind, nur verhältnismässig langsam verschwinden, die Einspritzung selbst grosser Mengen bakteriolytischen Immuserums vermag das Verschwinden innerhalb der Grenzen der vorliegenden Versuche in keiner Weise zu beschleunigen, obwohl das Serum solcher Tiere ausserhalb des Körpers Eigenschaften aufweist, wie sie zur Erzielung stärkerer Keimvernichtung geeignet erscheinen. Daraus folgt unmittelbar, dass die Bakteriolyse im Innern eines tierischen Körpers auch nicht entfernt so wie im Reagenzglase und der Bauchhöhle von Meerschweinchen stattfinden kann.“

Bei analogen Versuchen mit Choleravibrionen gestalteten sich die Resultate aber schon anders.

Bei der intravenösen Cholerainfektion erfolgte auch im Tierkörper unter der Wirkung des injizierten Immuserums eine prompte Keimtötung.

Wodurch war dieser Unterschied gegenüber der Typhusinfektion bedingt?

Es ergab sich bei den Choleravibrionen, dass sie sich in grösster Menge im Blute, aber nicht in den Organen fanden:

„Es ist angesichts der raschen Abnahme der Choleravibrionen sehr wahrscheinlich, dass diese Vernichtung tatsächlich durch die gleichen Eigenschaften der Körperflüssigkeiten erfolgt, die im Reagenzglas als Bakterizide zu beobachten sind.“

Beim Typhus lagen die Verhältnisse aber ganz anders. Nach kurzer Zeit verschwanden wohl die Typhusbazillen aus dem Blute, erschienen aber in den Organen, und gerade hier hört die Wirkung des zugeführten Immunserums auf. Tatsächlich wurden auch in besonderen Versuchen die Choleravibrionen von der Bakterizidie nicht betroffen, wenn dieselben in Mischung mit dem Immunserum direkt in die Niere injiziert wurden.

Bail hat ferner eine sehr wichtige Beobachtung gemacht. Schon früher hatte er bemerkt, dass tierische Typhusbazillen, d. h. Typhusbazillen, die direkt dem Tierkörper entnommen werden, ohne dass sie in Kulturen gehalten werden, der agglutinierenden Wirkung des Serums gar nicht oder viel weniger zugänglich sind. Jetzt konnte er feststellen: „Typhusbazillen nämlich, welche ohne Einschaltung einer Kultur auf künstlichen Nährböden unmittelbar einem an Typhus gestorbenen Meerschweinchen entnommen werden, sind dem Einflusse des bakteriolytischen Serums, wenn überhaupt, so nur in geringem Grade zugänglich und es gelingt nicht normale Tiere vor ihnen selbst mittelst grosser Mengen von Immunserum zu schützen.“

Alle diese experimentell erhobenen Befunde mussten wohl dazu angetan sein, in Bail die Zweifel an einer allein ausschlaggebenden Bedeutung der bakteriziden Antikörper zu erwecken. In diesen Bedenken wurde Bail noch bestärkt durch die überraschenden Resultate einer von ihm entdeckten Immunisierungsmethode.

Bail's Immunisierungsmethode.

Bail hatte bei seinen Milzbrand-Untersuchungen gefunden, dass man Kaninchen durch Vorbehandlung mit keimfrei gemachtem Milzbrandödem einen hohen Grad von aktiver Immunität ver-

leihen kann. Das Serum der auf diese Weise immunisierten Kaninchen hatte folgende Eigenschaften:

1. Es hatte stark präzipitierende Wirkung auf Ödemflüssigkeit.
2. Es schützte schon in geringen Mengen in ausgesprochener Weise Kaninchen vor der subkutanen Infektion mit rund 1000 Milzbrandbazillen. Die Wirkung dieses Immunserums offenbarte sich nicht, wie man vermuten konnte, als eine bakterizide. Denn es konnte in diesem Serum keine Neuerzeugung oder Vermehrung der extravaskulär nachweisbaren Ambozeptoren aufgefunden werden. Damit war es bewiesen, dass es sich nicht um ein Immunserum handeln kann von dem Wesen der bekannten Typhus- oder Cholerasera. Auch zeigte die Untersuchung der Organe bei infizierten und mit Serum behandelten Tieren, dass nicht etwa mit dem Serum ein besonders keimtötendes Mittel eingeführt war.

Worauf beruhte aber dann die Wirkung dieses Serums, das in so ausgezeichnete Weise schützend wirkte?

Dass dieses Milzbrandserum antitoxisch wirke, hält Bail vor allem deshalb für ausgeschlossen, weil das zur Immunisierung benutzte Ödem keine Giftwirkung ausübt. „Die Versuche zeigen aber, dass das Charakteristikum der Milzbrand-Immunität darin besteht, dass eine Vermehrung der eingespritzten Bazillen ausbleibt und diese von den normalen keimfeindlichen Elementen, unter denen die Zellen des leukozytären Apparates voranstehen, vernichtet werden.“

Dieses Bail'sche Immunisierungsverfahren unterscheidet sich von den bisher für Milzbrand gebräuchlichen dadurch, dass die Mitwirkung lebender, sei es virulenter, sei es abgeschwächter Bazillen vollkommen wegfällt. Bei der Pasteur'schen Schutzimpfung kommen abgeschwächte Bazillen zur Anwendung und auch das Sobornheim'sche Verfahren besteht in der Kombination der aktiven mit der passiven Immunisierung.

Bail hat sein Verfahren nun bei kleinen und grossen Tieren erprobt und konnte in einem Berichte an das österreichische Ministerium über die günstigen Resultate von Milzbrandschutzimpfungen Mitteilung machen.

Als einer der allerwesentlichsten Punkte muss die von Bail festgestellte Tatsache hervorgehoben werden, dass die Ödemeinspritzung ohne jegliche Schädigung, überhaupt ohne jede Lokal- oder Allgemeinreaktion vertragen wurde.

Des weiteren ist von ausserordentlicher Wichtigkeit, dass für das Zustandekommen der aktiven Immunisierung mittelst Milzbrandödem für die Verarbeitung des Ödems im Organismus ein längerer Zeitraum erforderlich ist.

Wir haben es also bei dieser Bail'schen Entdeckung zweifellos mit einem neuen Immunisierungsverfahren zu tun. Das keimfrei gemachte Ödem milzbrandiger Tiere ist für normale Tiere an sich vollkommen unschädlich, hat nicht die Eigenschaft eines Giftes und ist trotzdem imstande, nach einiger Zeit eine Immunität gegen eine sehr schwere Bazilleninfektion zu verleihen.

Wir werden gleich sehen, dass diese Arbeiten Bail's von der Bakteriologie mit Aufmerksamkeit verfolgt wurden.

Diese kurze Betrachtung eines Teiles des Bail'schen Arbeitsgebietes wird zunächst genügen, um den Leser in die hier schwebenden Fragen einzuführen. Dass es sich hier um Fragen der Infektionslehre von höchster theoretischer und praktischer Bedeutung handelt, braucht nicht erst hervorgehoben zu werden. Denn dieselben drehen sich um die Pole der Bakteriologie: Wesen der Infektion und Immunität.

Im Interesse einer gerechten Beurteilung der Leistungen und Bestrebungen Bail's und seiner Schule müssen meines Erachtens einmal die von Bail und seinen Schülern gefundenen Tatsachen und dann die von ihm aufgestellten Hypothesen für sich bewertet werden.

Bleiben wir zunächst bei den von Bail gefundenen experimentellen Tatsachen.

Ganz abgesehen von zahlreichen interessanten Einzelheiten seiner Versuche sind es folgende Grundtatsachen, die von ihm entdeckt worden sind:

Körperflüssigkeiten infizierter Tiere, aus denen nach dem Tode der Tiere die lebenden Bakterien entfernt sind, zeigen folgende Eigenschaften:

1. Unter dem Einfluss dieser Flüssigkeiten werden sonst untertödliche Bakterienmengen zu tödlichen. Er nannte diese Flüssigkeiten Aggressine.

2. Bei Anwendung einfach tödlicher Bakterienmengen in Verbindung mit solchen Flüssigkeiten wird der Infektionsverlauf und der Sektionsbefund ein anderer und zwar schwerer als man nach der Bakterienzahl allein erwarten sollte.

3. Die Flüssigkeiten beeinträchtigen die schützende Wirkung bakteriolytischer Immunsera.

4. Vorbehandlung von Tieren mit solchen keimfreien Flüssigkeiten erzeugt eine Immunität, die nicht bakterizid ist.

Nach Bail kommt hierzu eine bis damals nur bei *Bact. subtilis* und *typhi* untersuchte Eigenschaft, die Phagocytose von Meer-schweinchenleukocyten *in vitro* zu behindern.

Bei der Bedeutung und der Tragweite dieser Feststellungen konnte es nicht ausbleiben, dass zahlreiche Untersucher sich sofort mit diesen Dingen beschäftigten.

Es fragt sich daher zunächst: Bestehen diese Angaben von Bail zu Recht? Haben derartige nach der Bail'schen Technik gewonnene Gewebsflüssigkeiten solche Eigenschaften? Betrachten wir wiederum die von den Autoren bei Nachprüfung und Erweiterung der Bail'schen Versuche ermittelten Tatsachen: Bail selbst übertrug diese bei Milzbranduntersuchungen gewonnenen Ergebnisse auch noch auf andere Infektionserreger, vor allem auf Typhus, Cholera und Tuberkulose.

Die Untersuchung dieser Verhältnisse bei den anderen Krankheitskeimen vertraute er seinen Mitarbeitern an.

Bail¹⁾ machte zunächst auf sein Verfahren der Immunisierung gegen Typhusbazillen und Choleravibrionen aufmerksam. Es habe immer mehr den Anschein, dass man beginnt, den Bakteriolytinen nicht mehr allein die ausschlaggebende Rolle in der Immunität zuzuschreiben. Bei Milzbrand, Pest sei die Mitwirkung von spezifisch neugebildeten Bakteriolytinen in der Immunität nicht erkennbar, bei Streptokokken, Staphylokokken ist sie zum mindesten sehr ungewiss. Nur bei Typhus und Cholera hat man bisher noch an den Bakteriolytinen festgehalten, vor allem auf Grund von Tierversuchen. Bail fragte sich nun, ob es nicht auch bei Typhus und Cholera eine echte Immunität gibt, bei welcher die Bakteriolyse entweder überhaupt nicht oder doch nicht als ausschlaggebend zu erkennen ist. Er berichtet zunächst über eine grundsätzliche Verschiedenheit der Aggressin-Immunität von der bakteriolytischen bei Typhus. Die letztere versagte z. B. bei Kulturbazillen, welche

¹⁾ Bail, Aggressinimmunität gegen Typhusbazillen und Choleravibrionen. Wien. klin. Wochenschr. 1905, Nr. 17. Untersuchungen über die Aggressivität des Choleravibrio. Archiv f. Hygiene. Bd. 53.

mit Typhusaggressinen injiziert wurden. Sie versagte auch gegen solche Bazillen, welche direkt den Exsudaten entstammten, während die Aggressinimmunität auch unter solchen Infektionsbedingungen wirksam blieb. Vor allem muss hierbei auch hervorgehoben werden, dass auch antiaggressives Serum gegen tierische Bazillen schützte, gegen welche das übliche bakteriolytische Serum nicht wirksam war.

Das Charakteristische bei der aktiven Aggressinimmunität war das überraschend schnelle Erscheinen der Leukocyten in der Bauchhöhle. Auch bei der Aggressinimmunität gegen Cholera erwies sich die Bakteriolyse als Nebenwirkung, weil Tiere, welche sonst bei Anwendung bakteriolytischer Sera nach Impfung von Aggressin-Vibrionengemisch starben, gesund blieben, sobald sie antiaggressives Serum erhielten.

Kikuchi¹⁾ machte den Versuch beim Dysenteriebazillus durch serienweise ununterbrochene Übertragung der in einem Tiere gewachsenen Bazillen auf andere ohne jede Zwischenschaltung von Kulturen die Aggressivität zu steigern und so eine Annäherung an den echten parasitären Zustand herbeizuführen. Der Versuch gelang. Auf diese Weise gewann Kikuchi gleichzeitig Exsudate, welche die bekannten Eigenschaften aggressiver Flüssigkeiten aufweisen. Dieselben machten untertödliche Dosen zu tödlichen, wirkten aktiv immunisierend. Auch die Gewinnung schützenden Serums bei Kaninchen gelang.

Die auffallendste Erscheinung bei den mit Serum vorbehandelten Tieren bestand darin, dass nach der Infektion die Leukozyten rasch in der Bauchhöhle erschienen.

Auch bei der aktiven Aggressinimmunität trat das rasche und reichliche Erscheinen der Leukozyten deutlich hervor. Das durch Exsudatbehandlung gewonnene Serum zeigte in vitro nicht die Eigenschaften eines bakteriolytischen Serums. Im immunisierten Meerschwein liessen sich, wenn überhaupt, nur Spuren von Bak-

¹⁾ Kikuchi, Untersuchungen über den Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus. Arch. f. Hygiene. Bd. 52. 1905.

Derselbe, Untersuchungen über das Dysenterie-Aggressin. Berlin. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 15.

Derselbe, Über die Aggressin-Immunität gegen den Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 17.

Derselbe, Weitere Erfahrungen über Aggressin-Immunität gegen den Shiga-Kruseschen Dysenteriebazillus. Arch. f. Hygiene. Bd. 56. 1906.

teriolysen auffinden. Kikuchi fand ferner im Exsudat von Dysenteriemeerschweinchen ein Gift von hoher Wirksamkeit.

Weil¹⁾ untersuchte diese Verhältnisse unter Bail's Leitung an dem Erreger der Hühnercholera. Die Aggressine sind nach Bail Kampfmittel, welche die echten Parasiten vor allem an der Stelle der Infektion bilden. Um diese Stoffe in hinreichenden Mengen auffinden zu können, wählte Weil die intrapleurale Infektion bei Kaninchen. Die so erhaltenen überaus bakterienreichen Pleuraexsudate wurden nach Zentrifugieren, dreistündigem Erwärmen auf 44° und Zusatz von 1/2 % Karbolsäure sterilisiert. Mit diesen Exsudaten behandelte Weil nun Kaninchen und Geflügelarten. Es gelang ihm auf diese Weise, „gegen eine Erkrankung, gegen welche es bisher nur ausnahmsweise und unter ganz besonderen Umständen gelungen ist, Immunität zu erzeugen, die empfänglichsten Tiere gegen den virulentesten Stamm auf eine einfache und sichere Weise zu immunisieren“. Diese aktive Immunität dauerte wenigstens mehrere Monate lang. Wurde die Immunisierung weiter getrieben, so zeigte das Serum der vorbehandelten Tiere die Fähigkeit, andere Tiere passiv mit Sicherheit zu schützen.

Gerade diese Versuche Weil's über Hühnercholera haben ein ganz gewaltiges Aufsehen erregt, weil es bisher eine zuverlässige Methode der Immunisierung gegen diesen Septikämieerreger nicht gegeben hatte.

Bail²⁾ stellte ferner im Verlaufe von Tuberkulosestudien fest, dass die Exsudatflüssigkeit von überempfindlichen Meerschweinchen

1) Weil, Untersuchungen über Infektion und Immunität bei Hühnercholera. Arch. f. Hygiene. Bd. 52. 1905.

Derselbe, Die passive Aggressin-Immunität bei Hühnercholera. Wien, klin. Wochenschr. 1905. Nr. 16.

Derselbe, Die schützenden Eigenschaften des Blutes von aggressin-immunen Hühnercholeratieren. Arch. f. Hygiene. Bd. 54.

2) Bail, Überempfindlichkeit bei tuberkulösen Tieren. Wien, klin. Wochenschr. 1904. Nr. 30.

Derselbe, Der akute Tod von Meerschweinchen an Tuberkulose. Wien, klin. Wochenschr. 1905. Nr. 9.

Derselbe, Über das Aggressin des Tuberkelbazillus. Wien, klin. Wochenschr. 1905. Nr. 21.

Derselbe, Über Giftwirkung von Tuberkelbazillen beim Meerschweinchen. Wien, klin. Wochenschr. 1905. Nr. 46.

imstande ist, zusammen mit grösseren Mengen von Tuberkelbazillen Meerschweinchen binnen kurzer Zeit zu töten, während die Flüssigkeit allein und auch die reinen Bazillen dies nicht fertig bringen.

Diese Feststellung musste wohl an die von Bail gefundene Tatsache erinnern, dass auch die bei anderen Infektionen gewonnenen Flüssigkeiten solche Wirkungen ausüben.

Vor allem konnte Bail auf Analogien mit Cholera verweisen. Die Exsudate überempfindlicher Meerschweine wiesen alle Eigenschaften auf, um mit dem Tuberkelbazillus zusammen dieselbe Wirkung zu entfalten wie ein Choleraaggressin mit Cholera-vibrionen. Bei Untersuchung der Bauchhöhlenflüssigkeit ergab sich wieder als auffälligstes Symptom die Fernhaltung der Leukozyten oder die Verzögerung ihres Zuflusses und Bail erklärte diesen akuten Tod durch die Annahme, dass es unter der Wirkung des Aggressins den Leukozyten unmöglich wird, die durch eine gesteigerte Auflösung der Bazillen frei werdenden Giftmengen unschädlich zu machen. Interessant ist auch die von Bail festgestellte Tatsache, dass nach direkt in das Herz beim Meerschweinchen erfolgten Injektionen von etwas grösseren Mengen von Tuberkelbazillen eine rasch verlaufende Vergiftung einsetzt. Bail erblickt die Ursache derselben in einer auf diesem Wege schneller verlaufenden Auflösung der Bakterien, während sonst ja der Tuberkelbazillus der Bakteriolyse grossen Widerstand entgegensetzt. Die Vergiftung braucht dabei mit der Aggressinüberschwemmung des Körpers nichts zu tun zu haben und Bail benutzt die Gelegenheit, um darauf hinzuweisen, dass eine einfache Auflösung der Bazillen nicht gleichbedeutend mit der Entstehung spezifisch aggressiver Flüssigkeiten ist.

Hoke¹⁾ hatte zuerst bei Staphylokokken die Aggressivität festgestellt. Bail und Weil²⁾ untersuchten dann diese Frage noch einmal und sie schlossen aus ihren Versuchen, dass die

¹⁾ Hoke, Über die aggressive und immunisierende Wirkung von Staphylokokkenexsudaten. Zeitschr. f. Hygiene. 1905.

²⁾ Bail und Weil, Kurze Mitteilung betreffend die Aggressivität der Staphylokokken. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 9.

Dieselben, Weitere Versuche über Staphylokokken-Immunität. Ebenda. Nr. 14.

Dieselben, Über die Beziehungen von Kaninchen-Leukozyten zum Staphylokokkengift. Ebenda. Nr. 27.

Wirkung der aggressiven Exsudate beim Staphylococcus so wenig wie beim Choleravibrio auf Bindung bakterizider Kräfte durch Bakterienteilchen beruhen könne.

Wir begegnen bei diesen Staphylokokken-Exsudaten der Erscheinung, dass sie ein sehr erhebliches Gift für Kaninchen enthalten. Es konnte nicht entschieden werden, ob es sich um ein echtes sezerniertes Toxin oder um ein freigeswordenes Endotoxin handelt. In diesem Falle findet sich, was wir uns merken müssen, in der tierischen Flüssigkeit Aggressivität und Giftwirkung. Die weitere Untersuchung ergab dann, dass die Leukozyten imstande sind, die Wirkung eines solchen Staphylokokkengiftes nach kurzer Berührung mit demselben bei 37° aufzuheben. Diese Versuche sind wohl geeignet, uns auf die Bedeutung der weissen Blutzellen für den Verlauf einer Infektion hinzuweisen.

Weil¹⁾ hat dann auch bei den Streptokokken die Frage der Aggressinimmunität experimentell geprüft. Wieder liessen sich Tiere mit dem von Kaninchen nach Infektion gewonnenen Pleura-exsudaten erfolgreich immunisieren. Bei intraperitonealer Infektion derartig immunisierter Meerschweinchen war die Phagozytose der Streptokokken besonders ausgesprochen, während sie bei den Kontrolltieren nur in geringem Masse vorhanden war. Weil hebt hervor, dass er nicht die Anschauung vertreten könne, dass die Phagozytose die Immunität des Tieres allein ausmacht. Denn er konnte beim Hühnercholera-Immuntier trotz Vermehrung der Bakterien nie Phagozytose beobachten.

Auch in der so eminent wichtigen Frage der Bekämpfung der Schweineseuche konnten, wie Weil²⁾ berichtet, nach dem Bailschen Prinzip bemerkenswerte Immunisierungserfolge erzielt werden. Es gelang Weil, sowohl mit Kaninchenaggressin und noch wirksamer mit den von infizierten Schweinen gewonnenen Aggressinen aktiv zu immunisieren. Dieser erworbene Schutz war ein hoher und dauernder. Noch nach 2½ Monaten bestand volle Immunität. Die aggressiven Exsudate wurden auch hier ohne die geringsten Lokal- und Allgemeinreaktionen vertragen. Es ist nur

¹⁾ Weil, Untersuchungen über die Wirkung aggressiver Flüssigkeiten des Streptococcus pyogenes. Deutsche med. Wochenschr. 1906. Nr. 10.

²⁾ Weil, Über Aggressin-Immunisierung von Schweinen gegen Schweineseuche. Zentralbl. f. Bakteriol. 1906. S. 121.

theoretisch und praktisch wichtig, zu beachten, dass die Tiere, so lange das Aggressin nicht vollkommen vom Organismus verarbeitet ist, in den Zustand der Überempfindlichkeit versetzt werden. Diesem Umstande kann jedoch durch gleichzeitige Einverleibung von Immunserum Rechnung getragen werden.

Gegen Schweinepest erzielte Prettnner¹⁾ analog gute Resultate.

Für das Bacterium coli haben die Untersuchungen von Salus²⁾ eine vollkommene Bestätigung der von Bail an Exsudaten erhobenen Befunde erbracht. Auch von den mit Bacterium coli gewonnenen und sterilisierten Exsudaten reichen geringe Mengen aus, um untertödliche Dosen zu tödlichen zu machen, und die Tiere sterben unter dem Bilde der schwersten Infektionen. In diesen Versuchen ergab sich noch eine bemerkenswerte Erscheinung, welche für die Verwandtschaft des Bact. coli zu dem Typhusbazillus von Interesse ist. Während nämlich sonst bei den Aggressinen die in der Immunitätsforschung überall hervortretende Spezifität gilt derart, dass Typhusaggressin nur für Typhusbazillen, aber nicht für Choleravibrionen wirksam ist, ist die Differenz zwischen Typhus und Koli höchstens eine graduelle, da beide Aggressine einander substituieren konnten.

Auch aktiv immunisieren konnte Salus mit den Koliaggressinen.

Besonders instruktiv sind auch die Versuche Weils³⁾ mit dem saprophytischen Heubazillus. Derselbe ist ja für gewöhnlich nicht imstande, sich im lebenden Organismus zu vermehren. Wurden aber grosse Mengen desselben Tieren intraperitoneal injiziert, so erlangte das Exsudat die Fähigkeit, die Heubazillen im Tierkörper zur Vermehrung zu bringen und untertödliche Dosen zu tödlichen zu machen, während das Exsudat an sich für die Tiere ungiftig ist. Ist es also einmal gelungen, selbst einen harmlosen Saprophyten im Tierkörper zur Vermehrung zu bringen, so lassen sich

1) Prettnner, Über aktive und passive Immunisierung gegen Schweinepest. Zeitschr. f. Infektionskrankheiten der Haustiere. 1906.

2) Salus, Das Aggressin des Kolibakteriums mit besonderer Rücksicht auf seine Spezifität. Wien. klin. Wochenschr. 1905.

Derselbe, Neue biologische Beziehungen zwischen Koli- und Typhusbazillen etc. Arch. f. Hygiene. Bd. 55. 1905/06.

3) Weil, Über die Wachstumsmöglichkeit des Heubazillus im Tierkörper. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 25.

ganz analoge aggressive Eigenschaften bei ihm nachweisen wie bei den echten Parasiten.

An derartigen Exsudaten, die mit Heubazillen gewonnen waren, stellten Weil und Nakayama¹⁾ noch folgende Eigenschaften fest: Die Phagozytose des Heubazillus durch Meerschweinchenleukozyten in vitro wurde durch dieses Aggressin des Subtilis sehr stark verhindert. Diese Phagozytosebehinderung kam nicht durch Heubazillenextrakte oder Meerschweinchenserum zustande, in welchem Heubazillen gewachsen waren. Weil und Nakayama schliessen daraus, dass diejenige Substanz des Subtilis im natürlichen Aggressin, welche die Phagozytose verhindert, ausserhalb des Tierkörpers nicht nachweisbar gebildet wird. Die Phagozytosebehinderung hatte wahrscheinlich darin ihren Grund, dass das Aggressin zusammen mit den Bazillen die Leukozyten schädigt. Und endlich war die Phagozytosebehinderung durch das Subtilis-aggressin spezifisch, sie konnte nicht etwa durch Typhus- oder Choleraaggressin herbeigeführt werden.

Angeregt durch die bisherigen Resultate der Bail'schen Aggressinlehre hat Erben die Verhältnisse bei Rhinosklerom und Pneumobazillen untersucht. Auch hier ergab sich, dass die nach der Bail'schen Technik hergestellten Exsudate infektionsbefördernde Wirkung haben. Sie machen wiederum subletale Dosen tödlich und bewirken bei letalen Dosen besonders schwere Infektionen. Vor allem aber wirken sie aktiv immunisierend, ohne selbst nennenswerte Giftwirkung zu äussern.

Auch Hueppe²⁾, der Chef und Lehrer Bail's, nahm sich der Frage an, nachdem nach seiner Auffassung durch die Versuche Bail's „die Beziehungen einer grossen Zahl von Infektionskrankheiten zur Invasion, Bakteriolyse und Antitoxinwirkung wesentlich gefördert waren“. Und zwar untersuchte Hueppe zusammen mit Kikuchi³⁾ die aktive Immunisierung gegen Pest mit Hilfe der aggressiven Exsudate. Dieselbe gelang vollkommen. „Wir ver-

1) Weil und Nakayama, Die Phagozytosebehinderung des Subtilis durch das Subtilis-Aggressin. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 3.

2) Hueppe und Kikuchi, Über eine neue sichere und gefahrlose Immunisierung gegen die Pest. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 39. 1905.

3) Kikuchi, Über die passive Aggressin-Immunität gegen Pestbazillen. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 30.

fügen demnach mit unserer Methode zum ersten Male über eine absolut unschädliche, gefahrlose aktive Immunisierung gegen die Pest, die zugleich an Sicherheit alle bisherigen Methoden übertrifft.“

Levy und Fornet¹⁾ haben gezeigt, dass Filtrate von Paratyphusbazillen für sich allein selbst in grösseren Mengen nicht toxisch wirken, dass sie aber zusammen mit lebenden Bazillen das Krankheitsbild wesentlich verstärken und sonst untertödliche Dosen zu letalen machen. Sie haben diese Versuche auch auf Typhusbazillen ausgedehnt und mit derartigen Kulturfiltraten analoge Wirkungen erzielen können wie mit Exsudataggressinen. Die Filtrate üben wie das Aggressin leukozytenabhaltende Wirkung aus, sie wirken sehr gut immunisierend und bei dieser Art von Immunität fehlte eine ausgesprochene Bakterizidie in vitro.

Levy und Fornet betonen jedoch, dass die Filtrate geringere Mengen von wirksamen Substanzen als die Exsudataggressine enthalten. Immerhin glauben sie mit Recht aggressive Eigenschaften in sterilen Filtraten von Kulturen nachgewiesen zu haben. Es lässt sich natürlich darüber streiten, ob hier ausschliesslich Sekretionsprodukte der Bakterien nach Art der richtigen Toxine oder daneben Zerfallsprodukte vorliegen. Schliesslich ist dies jedoch bloss ein Streit um Worte.“

Auch diejenigen Autoren, welche, wie wir noch sehen werden, in der theoretischen Auffassung der hierher gehörigen Phänomene mit Bail nicht übereinstimmten, mussten die von Bail gefundenen Tatsachen anerkennen.

So konnte Citron²⁾ bei der Schweineseuche vollkommen bestätigen, dass es gelingt, Tiere mit Bail'schen Exsudaten in wirksamer Weise aktiv zu immunisieren.

1) Levy und Fornet, Über Filtrat-Aggressine. Deutsche med. Wochenschrift. 1906. Nr. 26.

2) Citron, Über die Immunisierung mit Exsudaten und Bakterienextrakten. Zentralbl. f. Bakt. 1905.

Derselbe, Über natürliche und künstliche Aggressine. Zentralbl. f. Bakt. 1906.

Derselbe, Die Immunisierung gegen Schweineseuche mit Hilfe von Bakterienextrakten. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 52. 1905.

Derselbe, Die Immunisierung gegen die Bakterien der Hogcholera mit Hilfe von Bakterienextrakten. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 53. 1906.

Die Aggressintheorie.

Der eben gegebene kurze Überblick über die Nachprüfung und Erweiterung der Bail'schen Angaben lässt ohne weiteres erkennen, dass bezüglich der experimentellen Tatsachen Bail von allen Seiten eine rückhaltlose Anerkennung zuteil geworden ist. Denn die von ihm neu gefundenen Erscheinungen sind, wie nicht anders zu erwarten war, immer und immer wieder bestätigt worden.

Ganz anders verhält es sich mit seiner Aggressintheorie. Dieselbe hat nur eine teilweise Anerkennung, meistens eine Abweisung erfahren.

Bail hat, wie jeder exakte Forscher, seine Hypothese, wie ich aus persönlichen Mitteilungen weiss, immer nur als Arbeitshypothese angesehen, nicht aber, wie mannigfach angenommen wurde, mit seiner Theorie etwa die Hoffnung auf eine einfachere Immunitätslehre verknüpft, er hat auch nie daran gedacht, etwa alle Erscheinungen der gesamten Immunitätslehre mit der Hypothese zu erklären.

Da die Theorie aber für die ganze Immunitätsforschung von fruchtbringender Anregung gewesen ist und auch die Serumtherapie des *Ulcus serpens* gefördert hat, ist es notwendig, dass wir auch die theoretische Seite der Aggressinlehre kurz skizzieren. Bail's Hypothese ging von seiner Entdeckung bei der Milzbrandimmunsierung aus.

Er stellte sich den ganzen Vorgang folgendermassen vor. Selbst bei einem empfänglichen Tiere ist das Vorhandensein eines Abwehrmechanismus nachweisbar, denn die Keimzahlbestimmung in den Organen lässt bis 6 Stunden nach der Infektion eine erhebliche Bazillenvermehrung nicht erkennen. „Soll sie später erfolgen, so müssen die Bazillen die Fähigkeit haben, die Abwehrkräfte des Organismus lahm zu legen. Nach der üblichen Vorstellungsweise denkt man sich das am leichtesten als Absonderung eines Stoffes mit dieser Wirkung der Bakterien.“ Diese Substanzen hatte schon früher Kruse Lysine genannt. Jetzt wurden sie von Bail und Kruse als Aggressine bezeichnet. „Enthielte nun das Ödem milzbrandiger Kaninchen das fragliche Lysin (Aggressin), so würde Vorbehandlung eines Kaninchens mit solchen Ödemmassen ein Antilysin (Antiaggressin) erzeugen. Im Körper eines Tieres, das

solches von Natur aus oder durch Immunisierung enthält, oder dem es auf dem Wege passiver Immunisierung zugeführt wird, vermag der Milzbrandbazillus sich nicht zu vermehren und fällt daher den langsam wirkenden bakteriziden Vorrichtungen genau so wie ein unschädlicher Heubazillus zum Opfer.“

Dies ist der Ausgangspunkt der von Bail aufgestellten Hypothese von der Aggressivität eines Bakteriums und der Aggressinimmunität. Damit kommen wir zu den Vorstellungen Bail's, wie er sich die wunderbare experimentell nachweisbare Wirkung der tierischen Flüssigkeiten zu erklären versuchte. Nach Bail muss jeder Bazillus, welcher im lebenden tierischen Organismus durch seine Vermehrung Krankheit hervorruft, über die Fähigkeit verfügen, die Schutzkräfte des Körpers lahm zu legen oder abzuhalten. „Diese Fähigkeit ist als Aggressivität des betreffenden Bazillus zu bezeichnen und man kann sie sich in der üblichen Weise durch eigene Stoffe, die Aggressine erklärt denken, die etwa nach Art eines Toxines abgeschieden werden. Durch geeignete Versuchsanordnung lassen sich im Körper entsprechend geimpfter Tiere krankhafte Flüssigkeiten erzeugen, in welchen die aggressiven Eigenschaften, kürzer gesagt, die Aggressine, nachweisbar werden.“ Wie vorsichtig sich Bail über das Wesen dieser von ihm in Körperflüssigkeiten studierten Wirkungen ausgesprochen hat, geht daraus hervor, dass er wenige Seiten später folgendermassen fortfährt: „Denn es kann nicht scharf genug betont werden, dass dort, wo von Aggressinen wie von Stoffen gesprochen wird, zunächst nur Eigenschaften gemeint sind, die einer sonst in ihrer Zusammensetzung unbekanntem Flüssigkeit zukommen und für welche die üblich gewordene materialisierende Ausdrucksweise der Kürze halber gewählt wurde. Sollten sich als Träger dieser Eigenschaften bestimmte charakteristische bei genauer Kenntnis chemisch darstellbare Stoffe herausstellen, dann ist es um so besser. Vorläufig aber ist diese einschränkende Bemerkung durchaus notwendig und das Studium der Aggressine verliert dadurch, namentlich mit Rücksicht auf ihre immunisierenden Wirkungen nichts an seinem Werte.“ (Archiv f. Hygiene Bd. 53.) Die Aggressivität ist nach Bail jedenfalls die unerlässliche Vorbedingung für das Wachstum der Bakterien im Körper.

Wir können daher im wesentlichen 3 Gruppen von Mikroorganismen unterscheiden: 1. die reinen oder obligat invasiven

Parasiten, unter welchen für das Meerschweinchen der Milzbrand- und Tuberkelbazillus typische Repräsentanten sind. 2. die Halbparasiten oder fakultativ invasiven Parasiten, welche erst bei Einimpfung grösserer Mengen imstande sind sich im tierischen Organismus zu vermehren. Zu ihnen würden Choleravibrionen Typhusbazillen etc. gehören. 3. Die Saprophyten, welche sich überhaupt im lebenden Körper nicht vermehren können.

Echte Parasiten unterscheiden sich von Halbparasiten noch durch folgende Merkmale. Wir finden bei Halbparasiten ein auffallendes Vorhandensein von Giften, sei es gelösten Toxinen wie bei Diphtherie, oder sei es Endotoxinen, wie bei Choleravibrionen. Bei echten Parasiten fehlen solche leicht nachweisbaren Gifte oder sind sehr viel schwieriger, wenn überhaupt mit Sicherheit nachweisbar. Halbparasiten fallen ferner sowohl in Körperflüssigkeiten von normalen als besonders von immunen Tieren der Bakteriolyse anheim, wie vom Pfeiffer'schen Phänomen hinreichend bekannt ist. Echte Parasiten sind sehr viel unempfindlicher für die Auflösung durch Sera, man braucht nur an das Fehlen der bakteriolytischen Wirkung des Streptokokkenserums zu denken. Die Aggressivität eines Infektionskeimes ist variierbar, hier deckt sich der Begriff der Aggressivität mit dem alten Begriff der Virulenz, deren Schwankungen und künstliche Beeinflussung längst bekannt ist. Aber nicht immer fallen beide Begriffe zusammen. Mit der Bezeichnung Aggressivität verbindet Bail die bestimmte Vorstellung einer Wachstumsmöglichkeit im Organismus durch Abhaltung der Schutzkräfte. Von einem Cholerastamm kann eine bestimmte Dosis ein Meerschwein gerade töten, weil das Tier der aus ihr frei werdenden Giftmenge erliegt, ohne dass es zu einer Vermehrung der Keime kommt. Diese Dosis ist das Mass seiner Virulenz.

Die Aggressivität dieses Stammes würde aber geringer sein, da erst eine viel grössere Vibrionenmenge die Schutzkräfte des Organismus soweit abhalten konnte, dass es zu einer Vermehrung kommt.

Wie ersichtlich liegt der Kernpunkt der Bail'schen Hypothese darin, dass er versucht hat die Besonderheiten der Bakterien, mit denen sie die Körperschutzkräfte abzuhalten und zu überwinden trachten, einem experimentellen Studium zu unterwerfen.

Dass hierzu ein dringendes Bedürfnis vorlag und noch immer vorliegt, kann für den Kundigen keinem Zweifel unterworfen sein.

Zwar ist über das Wesen der krankmachenden Wirkung der Mikroorganismen schon viel diskutiert und geschrieben worden. Da wir ein begründetes Recht zu der Annahme haben, dass es sich bei der Infektion eines tierischen Organismus durch Bakterien um das Aufeinanderwirken chemischer Kräfte handelt, so ist von den Autoren mehrfach zur Erklärung der Frage, wodurch sich ein pathogener Keim von einem apathogenen unterscheidet, das Vorhandensein bestimmter chemischer Stoffe in den virulenten Mikroorganismen angenommen worden. Speziell hat Kruse diese hypothetischen Stoffe Lysine genannt.

Aber wenn wir offen sein wollen, so müssen wir eingestehen, dass uns das eigentliche Wesen der Pathogenität für viele Krankheitserreger noch vollkommen dunkel ist.

Das Problem, von dem Bail's Untersuchungen ausgingen, wie es kommt, dass schon ein einziger virulenter Milzbrandbazillus imstande ist, im Organismus des Kaninchens schrankenlos zu wachsen, während in vitro Tausende desselben Keimes in dem Serum des Tieres spielend abgetötet werden, ist noch ungelöst.

Es bleibt aber ein grosses Verdienst von Bail, dass ein reichhaltiges Tatsachenmaterial gesammelt worden ist.

Ein grosser Teil der untersuchten Bakterien vermehrt sich im Tierkörper bei geeigneter Verimpfung unter Bildung von Flüssigkeiten, welche die von Bail aufgefundenen Eigenschaften aufweisen.

Es fragte sich nun: Beruhen diese Eigenschaften auf besonderen bisher unbekannt gebliebenen Stoffen? Oder handelt es sich hier um bekannte Vorgänge bei der Infektion und Immunität, welche nur unter anderen Gesichtspunkten aufgefasst werden können.

Damit treten wir in die Diskussion über die rein theoretische Seite der Bail'schen Forschungen.

Auch hier hat sich die in unserer heutigen Medizin hinreichend bekannte Erfahrung herausgestellt, dass nirgends so heiss gestritten wird als wenn es sich um Hypothesen handelt. Dem objektiven Berichterstatter erwächst demgegenüber die Pflicht, dafür zu sorgen, dass bei diesem Streit um Hypothesen der bleibende Wert der Tatsachen nicht beiseite geschoben wird.

Kritik der Aggressintheorie.

Gegen die Grundversuche Bail's über Typhus- und Cholera-aggressin, nach denen untertödliche Dosen eines Bakteriums durch Zusatz des Aggressins zu tödlichen Infektionen befähigt werden, ist der Einwand erhoben worden, dass diese Infektionsbeförderung noch nicht zur Annahme von Aggressinen zu führen brauche. Die infektionsbefördernde Wirkung der Exsudate könne vielmehr auf der Anwesenheit von freien Bakterien-Rezeptoren beruhen. In der Tat muss zugegeben werden, dass in den Bail'schen Exsudaten, welche ursprünglich grosse Bakterienmassen enthalten, reichlich Bakterien zugrunde gehen und dass demnach auch Bakterien-Rezeptoren von ihnen vorhanden sein müssen.

Ist das aber der Fall, so ist wohl denkbar, dass bei Injektion eines Bakteriengemisches mit Exsudaten ein Teil der Bakteriolyse des Organismus von diesen freien Rezeptoren gebunden werden kann. Wenn dann die gleichzeitig injizierten untertödlichen Bakterien-dosen nicht mehr vollkommen gelöst werden, so kann das Tier nunmehr selbst einer Infektion mit untertödlichen Dosen erliegen.

Vor allem ist aber der zweite Einwand erhoben worden, dass die infektionsbefördernde Wirkung der Exsudate auf der Anwesenheit von Giften beruhen könne. Bail selbst hat zwar seinen Exsudaten einen gewissen Grad von Giftigkeit zuerkannt: „Dazu kommt dann die verhältnismässig geringe Giftigkeit der aggressiven Exsudate an sich.“ Er hat aber den Giftgehalt doch wohl nicht hoch genug angeschlagen und seine Schüler haben freilich meistens betont, dass die Aggressine selbst nicht giftig seien. Und doch liegt hier der entscheidende Punkt in der Prüfung der Theorie.

Es muss zugegeben werden, dass aus den mitgeteilten Versuchen über die Eigenwirkung des Aggressins eine Ungiftigkeit derselben noch nicht abgeleitet werden durfte. In manchen Fällen haben die Exsudate direkt getötet, in anderen Fällen, wie aus der Immunisierungskurve von Tieren zu ersehen ist, deutliche Krankheitserscheinungen herbeigeführt, die auf Gifteinwirkungen zurückgeführt werden müssen.

Was daher zunächst die theoretische Seite der Cholera- und Typhusexsudatwirkung angeht, so können die Gegner der Aggressintheorie die Tatsachen ohne Zuhilfenahme besonderer Aggressine

durch die Annahme erklären, dass die tierischen Bazillen sich durch eine besondere Resistenz auszeichnen, dass ferner in den sogenannten Aggressinen freie Bakterienrezeptoren vorhanden und Gifte enthalten sind.

Wir werden noch sehen, wie bedeutsam die Feststellung Bail's über die tierischen Bakterien für unsere Aufgabe in der Pneumokokkenimmunität geworden ist.

Was den 2. Hauptversuch Bail's anlangt, in welchem die eigenartige Aggressinimmunität festgestellt war, so ist besonders von Sauerbeck¹⁾ der Einwand erhoben, dass diese Tatsachen durch die Annahme einer antitoxischen Immunität ebenso gut zu erklären seien wie vom Standpunkt der Aggressinlehre. Es liegt aber auf der Hand, dass die Gegner Bail's hierbei auch nur mit Hypothesen arbeiten und dass sie einer Hypothese nur eine andere gegenüberstellen.

Noch schwerer wiegen die Einwände, welche gegen die Annahme eines Dysenterie-Aggressins erhoben sind.

Es ist Bail und Kikuchi entgegengehalten worden, dass es sich bei der infektionsbefördernden Wirkung des Dysenterieexsudates direkt um Summation von Gift und gelösten Bazillen gehandelt hat. Denn wenn auch in einer Anzahl von Fällen das Aggressin zur Vermehrung einer untertödlichen Bakteriendosis führt, so tritt doch in anderen Fällen der Tod ein, ohne dass es zur Bakterienvermehrung kommt.

Und unterwirft man geeignete Tiere, z. B. Kaninchen, der Wirkung von Dysenterieexsudaten, so kann man sich der Überzeugung nicht verschliessen, dass hier eine Giftwirkung vorhanden ist, wie dies Kikuchi selbst mitgeteilt hat.

Gegen die Untersuchungen von Kikuchi hat vor allem Dörr²⁾ betont, dass die Virulenz der Ruhrerreger für Meerschweinchen

1) Sauerbeck, Ergebnisse der allgemeinen Pathologie Lubarsch-Ostertag 1907.

2) Dörr, Über das sog. Dysenterieaggressin. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 42.

Derselbe, Über Aggressine. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 25.

Derselbe, Über Aggressine. Zentralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. 38. 1906.

Derselbe, Über die infektionsbefördernde Wirkung steriler Exsudate. Zentralbl. f. Bakt. Bd. XLI. 1906.

Derselbe, Erwiderung auf den Artikel von Salus etc. Wien. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 34.

ganz ausserordentlichen Schwankungen unterworfen ist, so dass es sehr schwer ist, eine subletale Dosis festzusetzen, von der angenommen werden kann, dass sie vom Aggressin zu einer tödlichen gemacht werden kann. Ausserdem macht Dörr darauf aufmerksam, dass eventuell Spuren von Toluol, das zu den Exsudaten zugesetzt war, noch für manche Erscheinungen berücksichtigt werden müssen. Letzteres ist aber von Kikuchi geschehen.

Auch bei den Hühnercholera-Exsudaten ist hervorgehoben worden, dass noch nicht entschieden ist, ob es gerechtfertigt ist, in den Exsudaten ausser Giften noch Aggressine anzunehmen. In der Immunisierung hat Weil seine Vorgänger weit übertroffen. Aber über das Wesen dieser neuen und sehr ausgesprochenen Immunität gehen die Ansichten weit auseinander. Sollte die Immunität eine Aggressinimmunität sein, so hätte als charakteristische Erscheinung das Ausbleiben der Bakterienvermehrung erwartet werden müssen. Es zeigte sich aber, dass bei der Hühnercholera-Immunisierung nach Weil die Bakterien sowohl bei aktiver und passiver Immunität sich erheblich vermehren können, ohne freilich dem Tier gefährlich zu werden. Auch konnte auffallenderweise Phagozytose nie mit Sicherheit beobachtet werden.

Diese Vorgänge beim immunen Tier stehen in der Tat zur Aggressintheorie im Gegensatz. Die Gegner Bail's haben dementsprechend aus diesen Versuchen nur entnommen, dass sich in Hühnercholeraexsudaten die Antigene wirksamer Antikörper ganz besonders leicht auffinden lassen. Sauerbeck¹⁾ betont aber, dass diese Antigene und Antikörper ebenso gut nur Toxine und Antitoxine wie Aggressine und Antiaggressine sein könnten.

Und bei den Versuchen über Tuberkulose-Aggressin ist von Sauerbeck hervorgehoben worden, dass der Nachweis nicht erbracht sei, dass Gifte nicht auch negativ chemotaktisch wirken können und dass ferner das Aggressin wirklich giftfrei sei. Es zeigte sich jedenfalls, dass Meerschweinchen durch reine Bazillenleiber ziemlich rasch sterben können und dass die tödliche Dosis schon in einem geringen Teil derjenigen Bakteriendosis enthalten sein kann, die im Aggressinversuch mit Exsudat zusammen verwendet worden war.

¹⁾ Sauerbeck, Lubarsch-Ostertag 1907.

Bei den Staphylokokkenexsudaten geben Bail und Weil selbst an, dass „die Exsudate mit der vollständigen Anpassung des Staphylokokkus an den Kaninchenkörper so ausgesprochen giftig wurden, dass Kaninchen nicht länger zu Aggressinversuchen verwendet werden konnten“. Diese Giftigkeit der Exsudate konnte durch halbstündiges Erwärmen auf 60° konstant aufgehoben werden. Es ist dies dieselbe Temperatur, bei der auch die Aggressine sonst mit Sicherheit unwirksam werden.

Man hat daher auch aus den Versuchen mit Staphylokokken geschlossen, dass in den Exsudaten eher an Gifte als an Aggressine gedacht werden muss.

Bei den Streptokokkenexsudaten war ferner die Aggressivität nicht von der Leukocytenabhaltung abhängig und auch hier war bei den erfolgreich immunisierten Tieren die Vermehrung der Streptokokken nicht verhindert, obgleich das Wesen der Antiaggressine gerade hierin bestehen sollte.

Dieselbe, der Aggressintheorie widersprechende Erscheinung, zeigte sich bei den Versuchen über Schweinepestaggressine. Im immunen Tier erfolgte eine sehr starke Vermehrung der Keime und von Phagozytose war nichts Sicheres zu sehen.

Bei den Aggressinversuchen mit *Bacterium coli* ist Salus der Nachweis einer Gruppen- oder Gattungswirkung des Aggressins gelungen. Aber ob es mit einem bestimmten Aggressin immer nur gelingt, einen Krankheitserreger in seinem Kampfe gegen den Körper zu unterstützen, der dem Exsudat liefernden Erreger verwandt ist, bedarf noch weiterer Beweise.

Bei den Heubazillenversuchen ist die infektionsbefördernde Wirkung der Exsudate allgemein anerkannt worden. Dagegen ist auch hier der Nachweis der Ungiftigkeit der Aggressine vermisst worden. Weil selbst sagt: „Es lässt sich nach diesem Versuche nicht mit völliger Sicherheit aussagen, ob die Infektion oder die Vergiftung die unmittelbare Todesursache ist.“

Ausführlich ist dann die Frage erörtert worden: Werden die Aggressine nur beim Kampf mit dem lebenden Organismus gebildet? Wassermann und Citron¹⁾, welche zunächst die Ver-

¹⁾ Wassermann und Citron, Zur Frage der Bildung von bakteriellen Angriffsstoffen im lebenden Organismus. Deutsch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 24.

suche Bail's „in jeder Art und Weise“ bestätigen konnten, suchten anfangs den springenden Punkt der Bail'schen Lehre in der Untersuchung der Frage, ob es sich hier um Stoffe handelt, die nur im lebenden Organismus als Angriffswaffen gebildet werden. Sie extrahierten verschiedene Bakterienarten in vitro teils mit Exsudaten, die von nicht infizierten Tieren stammten, teils mit Serum, zuletzt mit destilliertem Wasser und bekamen so Flüssigkeiten in die Hand, welche insofern eine analoge Wirkung wie die Bail'schen Exsudate zeigten, als sie untertödliche Dosen zu tödlichen machten. Schon den ersten Versuchen entnahmen sie, „dass hier in gar keiner Weise unbekannte, vital sich bildende Stoffe in Frage kamen, vielmehr schien es sich um die Wirkung der uns seit langem bekannten Bakterienleibessubstanzen zu handeln“. Und als sie gar mit destilliertem Wasser derartige wirksame Flüssigkeiten erhielten, folgerten die Autoren: „Damit ist nun wohl jeder Zweifel geschwunden, dass es sich bei den sogenannten Aggressinen keineswegs um Stoffe handelt, die im Kampfe mit dem lebenden Organismus gebildet werden. Die Aggressine haben vielmehr mit dem lebenden Organismus gar nichts zu tun, sondern sie sind einfach gelöste Bakteriensubstanzen, deren immunisierende Wirkung uns seit langem bekannt ist. Demnach sind die Aggressine keine neuen Körper.“

Diese in vitro gewonnenen Substanzen wurden künstliche Aggressine genannt im Gegensatz zu den natürlichen, im Exsudat vorhandenen Produkten.

Bestehen nun aber wirklich keine Unterschiede zwischen natürlichen und künstlichen Aggressinen?

Auf diese Frage musste sich, wie nicht anders zu erwarten war, zunächst die Diskussion zuspitzen.

Gegen den Schluss von Wassermann und Citron, dass die Extrakte im wesentlichen dasselbe seien wie die aggressiven Exsudate, erhob zunächst Bail folgende Bedenken:

Dass die Aggressine Bakterienprodukte sind und nicht etwa blosse Reaktionsprodukte des Organismus auf die gesetzte Infektion, darin stimmt Bail selbstverständlich mit allen Autoren überein.

Es fragt sich nur: Wie kommen die Eigenschaften der durch Bakterienentwicklung hervorgerufenen Körperflüssigkeiten zustande? Nimmt man als Träger dieser Eigenschaften bestimmte Stoffe, die

Aggressine an, so entsteht die Frage, ob es sich um ein vom lebenden Bazillus abgegebenes Sekretionsprodukt oder um Leibessubstanzen der Bakterien handelt, die auch vom toten Bazillus herkommen.

Wassermann und Citron sahen anfangs in den Aggressinen nichts anderes als gelöste Bakterien-substanzen, deren infektiösbefördernde Wirkung auf der Bindung der natürlichen Schutzkräfte des Organismus beruhen sollte.

Diesen Einwänden gegenüber konnte Bail sofort mit Recht hervorheben, dass es bei der Begriffserörterung der Aggressivität nicht der springende Punkt sei, dass Aggressine nur im Kampfe mit dem lebenden Organismus gebildet würden.

Würde ein Infektionskeim überhaupt über Substanzen verfügen, welche als Aggressine wirken, so liegt es auf der Hand, dass unter geeigneten Bedingungen solche Produkte der Bakterien sich auch *in vitro* auffinden lassen werden. Dass also aggressive Produkte der Bakterien sich auch *in vitro* auffinden lassen müssten, war Bail nichts Überraschendes, da er selbst in jungen Bouillonkulturen sich von dem Vorkommen derselben überzeugt zu haben glaubte.

Es kommt Bail nicht darauf an, ob die Aggressine nur im lebenden Körper gebildet werden, sondern darauf, ob die Aggressinwirkung im lebenden Organismus die ihr zugeordnete Rolle spielen wird.

Keinesfalls war der Schluss von Citron bewiesen, dass, wenn es mit Bakterienextrakten gelingt zu immunisieren, die Antiaggressine mit den Antikörpern, die nach der Immunisierung mit Bakterienextrakten entstehen, identisch seien.

Es könnten sehr wohl Aggressine und andere Leibessubstanzen der Bakterien in den Extrakten enthalten sein.

Bail gibt aber zu, dass Wassermann und Citron in ihren Kulturaggressinen etwas den natürlichen Aggressinen Analoges in der Hand hatten. Allein die Identifizierung beider Arten hält er nicht für gerechtfertigt.

Auch Wassermann und Citron mussten später zugeben, dass ihnen die Natur dieser Substanzen vollkommen unbekannt ist, während es für sie früher „einfach gelöste Bakterien-substanzen“ waren, „deren immunisierende Wirkung uns seit langem bekannt ist“.

Ein sehr wesentlicher Punkt für die Auffassung der ganzen Sachlage scheint folgender zu sein: Citron gewann mehr und

mehr den Eindruck, dass wirksame Aggressine sich nur aus lebenden Bakterien extrahieren lassen. Bei abgetöteten kann sich der Charakter der extrahierten Stoffe wesentlich ändern.

Auch im Tierkörper trifft man analoge Schwierigkeiten. Während beispielsweise der Diphtheriebazillus keine natürlichen Aggressine liefert, konnten Wassermann und Jobling wirksame künstliche Diphtherieaggressine darstellen.

Citron hatte ferner gefunden, dass Tiere mit Wasserextrakten aus Schweineseuchenbakterien immunisiert werden können.

Demgegenüber verlangten Bail und Weil, dass Mikroorganismen gewählt werden, bei denen bisher von einer bakteriziden Immunität nichts bekannt ist, wie Milzbrand und Hühnercholera. Weder Schweinepest noch Schweineseuche können in dieser Beziehung mit Hühnercholera verglichen werden. Bail hält daher die Citron'schen Versuche mit Schweineseuche zur einwandfreien Entscheidung der Frage nach der Selbständigkeit der Aggressin-Immunität für ungeeignet.

Bail stellte nun fest, dass man gegen echte Parasiten wie Milzbrand und Hühnercholera mit Wasserextrakten nicht immunisieren kann, wohl aber mit natürlichen aggressinhaltigen Exsudaten. Bakterienrezeptoren nach Wassermann und Citron können also das Wirksame bei den echten Parasiten nicht sein.

Bail und Weil stellten dann weitere Versuche über die Natur der Extrakt- und Aggressinwirkung an. Beide sollen ja, als identisch, nach Wassermann und Citron durch Bindung bakterizider Kräfte wirksam sein. Die Versuche ergaben aber am Choleraaggressin, dass eine Bakteriolysebehinderung bei der Aggressivität nicht vorhanden ist. Bail und Weil sehen sich daher zu der Erklärung genötigt, dass die Versuche von Citron nur beweisen, dass man gegen gewisse Bakterien mit solchen Bakterienteilchen, die ausserhalb des Körpers gewonnen sind, eine Immunität erzielen kann, die als bakteriolytische bekannt ist. „Der Beweis, dass die Aggressine in den Bakterienteilchen enthalten sind, und dass die Aggressinimmunität keine Immunität *sui generis* sei, kann nicht als erbracht gelten. Wenn Bakterienteilchen die Aggressivität bedingen, so müssen es solche besonderer Art sein.“

Demgegenüber führte Citron wieder Versuche an, welche seine und Wassermann's Ansicht beweisen sollten, dass es sich

um Bakterienextrakte handle, welche die Schutzstoffe des Organismus binden. Wird das Aggressin mit einer gewissen Menge Normalserum versetzt, so lässt sich damit eine Komplementablenkung erzielen. Dabei zeigen natürliche und künstliche Aggressine nur quantitative Differenzen. Dies Phänomen lässt sich ferner auch mit dem entsprechenden Immunserum und Aggressin zur Darstellung bringen. Sowohl im bakteriziden Serum als im Antiaggressin liessen sich auf diese Weise Ambozeptoren nachweisen, dieselben finden sowohl im künstlichen als natürlichen Aggressin passende Rezeptoren. Citron schliesst aus seinen Versuchen noch einmal, 1. „dass die Aggressine Bakterienextrakte sind“, 2. „dass die Antiaggressine Sera sind, die die gleichen Qualitäten wie die durch Bakterieninjektionen gewonnenen Sera haben“, 3. „dass die infektiösbefördernde Wirkung der Aggressine auf ihrer die natürlichen Schutzkräfte bindenden Fähigkeit beruht, wobei wir unter den natürlichen Schutzkräften auch die Leukozyten, welche ja die Hauptquelle der Komplemente sind, verstehen“. Die Fähigkeit der Aggressine, die schützende Wirkung des Immunserums aufzuheben, erklärt sich nach Citron durch die Vereinigung des Ambozeptors mit den Bakterien-substanzen, wodurch die Bindung der Komplemente *in vivo* resultiere.

Ein weiteres Moment, das nach Citron für die Identität der künstlichen mit den natürlichen Aggressinen spricht, ist die Erscheinung, dass auch die künstlichen Aggressine negativ chemotaktische Wirkung zeigen, also Behinderung der Phagozytose aufweisen. Citron konnte aber keine rechten quantitativen Beziehungen zwischen der Stärke der Aggressivität und der negativen Chemotaxis finden.

Dem steht wieder die Angabe von Weil und Nakayama¹⁾ gegenüber, welche Unterschiede in der Wirkung von natürlichen und künstlichen Aggressinen konstatierten.

Citron sieht in diesen Versuchen nur die Tatsache, dass bei dieser einen Bakterienart im Tierkörper antileukozytäre Stoffe leicht in Lösung gehen, während dies in destilliertem Wasser schwieriger ist.

1) Weil und Nakayama, Die Phagozytosebehinderung durch das Subtilisaggressin. Berl. klin. Wochenschr. 1906. Nr. 3.

Welche Differenzen in den Anschauungen hier vorliegen, darüber belehrt uns allein schon die Verschiedenheit der Deutung, welche die infektionsbefördernde Wirkung der Flüssigkeiten erfahren hat. Wassermann und Citron nehmen Bakterienteilchen an, welche Schutzkräfte binden, Pfeiffer und Friedberger¹⁾ vermuten antagonistische Stoffe im Serum und von Pirquet und Schick²⁾ nahmen Reaktionsprodukte des infizierten Organismus an.

Citron hält daran fest, dass die künstlichen Aggressine mit den natürlichen Bail's bei allen von ihm untersuchten Infektionen übereinstimmen.

Und zwar deshalb, weil sie erstens die letale Dosis herabsetzen, ferner aktive Immunität herbeiführen, ein wirksames Serum liefern, und versagen, sobald das natürliche Aggressin versagt.

Citron stimmt mit Bail darin überein, dass das Experimentum crucis für die Frage, ob die Bakterienextrakte aggressinhaltig seien, in der Immunisierungsmöglichkeit gegen Ganzparasiten zu suchen ist. Er hält diese Probe für die künstlichen Aggressine für bestanden, wobei er im Gegensatz zu Bail den Erreger der Schweineseuche für einen echten Parasiten betrachtet, während Bail, wie wir schon erwähnt haben, die Versuche mit Schweineseuche hierfür nicht geeignet hält.

Auch bezüglich des Wesens der durch Bakterienextrakte erzeugten Immunität findet Citron keine rechten Unterschiede zur Aggressinimmunität. Denn die von Bail hervorgehobene Erscheinung, dass bei aggressinimmunen Tieren die Krankheitserreger ohne dem Tiere zu schaden, sich lange halten können, fand Citron auch bei Versuchen mit künstlichen Serumaggressinen bei Hoghcholera. Auch liessen sich mit dem durch künstliche Aggressine erzeugten Serum analoge bakterizide Wirkungen erzielen, wie mit dem durch Bakterieninjektion erzeugten bakteriziden Schweinepestserum.

Besonders in der Arbeit von Citron: „Die Immunisierung gegen die Bakterien der Hoghcholera mit Hilfe von Bakterien-

¹⁾ Pfeiffer und Friedberger, Über antibakteriolytische Substanzen normaler Sera. Deutsch. med. Wochenschr. 1905.

Dieselben, Weitere Untersuchungen über die antagonistische Wirkung normaler Sera. Ebenda Nr. 29.

²⁾ Pirquet und Schick, Zur Frage der Aggressine. Wien. klin. Wochenschr. 1905. Nr. 17.

extrakten. Ein Beitrag zur Aggressinfrage. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 53)“ sind Angaben enthalten, welche in der Diskussion über das Wesen der Aggressine erwähnt werden müssen.

Die infektionsbefördernde Wirkung der Aggressine bei Schweinepest liess sich nur so prüfen, dass der subakute Verlauf der Schweinepest in einen akuten verwandelt wird. Es ergab sich dabei, dass diese Forderung sowohl von künstlichen wie von natürlichen Aggressinen erfüllt wird. Auch bei der aktiven Immunisierung von Meerschweinchen liess sich kein konstanter Unterschied zwischen den Exsudaten und Bakterienextrakten nachweisen. Analoges ergab sich bei der passiven Immunisierung. Citron vertritt auf Grund dieser Versuche die Ansicht, dass es sich bei der Aggressinimmunität um die Wirkung ausgelaugter Bakterien-substanzen handelt. „Konnte ich im Falle der Schweineseuche zeigen, dass die guten Resultate der Immunisierung mit Aggressinen sich in gleicher Weise mit *in vitro* hergestellten Extrakten lebender Bakterien und mit den Seris von mit solchen künstlichen Aggressinen vorbehandelten Tieren erreichen lässt, so lehren meine Untersuchungen über die Hoghcholera, dass die Grenzen, die der Aggressinimmunität gesetzt sind, auch die Grenzen der Extraktimmunität zu sein pflegen. Beide leisten dasselbe und beide versagen unter denselben Bedingungen. Diese Übereinstimmung in den wichtigsten biologischen Punkten zwischen Exsudaten und den nach unserer Methode hergestellten Bakterienextrakten, kann nur darin ihren Grund haben, dass das immunisierende Prinzip in ihnen entweder dasselbe ist oder zum mindesten sich in den Extrakten in einer Form findet, die im Tierkörper leicht in die der Aggressine übergeführt werden kann.“

Die letztere Wendung ist bemerkenswert. Wenn die Aggressine ursprünglich für Citron nichts anderes waren als die ihm schon lang bekannten Bakterienleibessubstanzen, warum rechnet er jetzt mit der Möglichkeit, dass im Tierkörper Bakterienextrakte erst in die Form der Aggressine übergeführt werden könnten? Für das Verständnis der ganzen Diskussion können einige persönliche Bemerkungen nicht übergangen werden, welche Bail mit Recht machen musste. Zuerst waren für Wassermann und Citron die Aggressine „keine neuen Körper“, sondern „einfach gelöste Bakterien-substanzen, deren immunisierende Wirkung uns seit langem bekannt ist.“

Bail protestierte gegen eine solche Identifizierung der Aggressine mit den Bakterienextrakten. Später ist dann nach Citron die „Natur dieser Substanzen völlig dunkel.“

Damit wird zugegeben, dass die Bail'sche Bakterienaggressivität eine bisher beim Studium der Infektion und Immunität nicht beachtete Eigenschaft ist. Während anfangs ferner von Citron und Wassermann immer nur von Bakterienextraktion gesprochen wurde, kommt jetzt bei Citron zum Ausdruck, dass sich künstliche wirksame Aggressine häufig nur aus **lebenden** Bakterien gewinnen lassen. Dass aber die Aggressivität aufs engste mit dem **Leben** der Mikroorganismen verknüpft ist, bildet den Grundpfeiler der Bail'schen Anschauung. Bail hat niemals die Behauptung ausgesprochen, dass nur im Tiere Aggressine abgegeben werden können. Wenn also die Gegner Bail's jetzt von Substanzen sprechen, die ihrer Natur nach völlig dunkel sind, so muss Bail insofern recht gegeben werden, dass ursprünglich in den Citron'schen künstlichen Aggressinen, welche keine neuen Körper, sondern gelöste Bakteriensubstanzen sein sollten, diese unbekanntes Substanzen nicht erkannt waren.

Bail hat ferner als erster auf das Gebundensein der Aggressivität an die Vitalität hingewiesen, er ist daher im Recht, wenn er Citron gegenüber, der jetzt den Hinweis auf die Notwendigkeit der Verwendung lebender Bakterien sich und Wassermann zuschreibt, betont, dass er gerade das Bestreben, die Wechselwirkung der lebenden Bazillen auf den lebenden Organismus zu untersuchen, für sich selbst in Anspruch nehmen muss.

Es ist also sicher, dass der Standpunkt von Wassermann und Citron in der Beurteilung des eigentlichen Wesens der Bakterienaggressivität kein fester geblieben ist. Denn sie schlossen noch aus ihren ersten Versuchen, „dass hier in gar keiner Weise unbekanntes, vital sich bildende Stoffe in Frage kommen, vielmehr schien es sich um die Wirkung der uns seit langem bekannten Bakterienleibessubstanzen zu handeln.“

Ich könnte selbst aus mancherlei persönlichen Bemerkungen von anderen Seiten Beispiele dafür anführen, dass eine Zeitlang der Eindruck verbreitet war, dass die ganze Frage nach der Aggressivität als etwas dem Wesen nach lange Bekanntes abgetan sei.

Es muss auf das Entschiedenste betont werden, dass damit Bail unrecht getan wird und jeder objektive Kritiker kann sich der Überzeugung nicht verschliessen, dass hierin ein gewisser Umschwung eingetreten ist.

Es liegt auf der Hand, dass mit der Annahme, dass die Aggressine nichts anderes seien als gelöste Bakteriensubstanzen, welche im Organismus bei einer Infektion aus den massenhaft zugrunde gehenden Bakterien hervorgehen, noch keineswegs das noch immer dunkle Rätsel der Virulenz erklärt ist.

Worauf beruht es denn, dass einzelne infektiöse Bakterienarten sich im Organismus überhaupt soweit vermehren, dass grosse Mengen von ihnen zugrunde gehen können, wenn wir nur einen oder wenige Keime injizieren?

Wichtig für die Aufnahme der Theorie Bail's sind dann die Urteile, welche in der freien Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1906 ausgesprochen sind. Hören wir noch einzelne Stimmen: Dörr: „Die sterilisierten Peritonealexsudate enthalten nachweisbar aufgelöste Leibessubstanzen der Bakterien. Mittelst Präzipitinen lassen sich solche Substanzen im Exsudat nachweisen. Dementsprechend sind solche Flüssigkeiten giftig, in grossen Dosen tödlich. Die infektionsbefördernde Wirkung steriler Exsudate erklärt sich also bei den hohen Dosen, wie sie Bail und seine Mitarbeiter verwendet haben, aus der Schädigung des Versuchstieres durch die gleichzeitige Intoxikation. Analoge Erscheinungen sind ja seit langem in der Immunitätslehre bekannt. Die Wirkung der mit einem Bakterium erzeugten Peritonealexsudate ist in keiner Weise spezifisch, wie sie eigentlich die Aggressinlehre verlangen müsste. Durch andere additionelle Schädigungen, beispielsweise subletale Dosen von Cholera-toxin, Diphtherietoxin lassen sich infektionsbefördernde Wirkungen im Verein mit subletalen Bakterienmengen viel typischer und konstanter erzeugen als durch Exsudate. Zu alledem zeigen die Aggressinversuche wechselnde Resultate, d. h. die infektionsbefördernde Wirkung fehlt mindestens so oft als sie vorhanden ist. Das erklärt sich nicht aus dem zufällig variierenden Gehalt der Exsudate an Aggressin, wie Bail annimmt, sondern aus ihrer verschiedenen Giftigkeit, vorzüglich aus den grossen individuellen Schwankungen der natürlichen Resistenz der Versuchstiere gegen dieselbe Bakterienart. Dieser Faktor ist ganz unberücksichtigt geblieben, besonders auch bei der Feststellung der

sogenannten subletalen Dosis. Die durch Einspritzung von Exsudaten erzeugte Immunität ist durch gelöste Bakterienkörper hervorgerufen und meist geringer als durch Immunisierung mit der Kultur selbst. Sie ist also nur graduell nicht aber im Wesen von den letzteren verschieden.“

Pfeiffer und Scheller berichteten ebenda über Versuche mit *Vibrio Metschnikoff*, welche sie zum Zweck der Prüfung der Bail'schen Hypothese angestellt hatten. Sie versuchten zunächst das Aggressin in der ödematösen Flüssigkeit des geimpften von Vibrionen wimmelnden Brustmuskels zu finden. Der ausgepresste Gewebssaft dieser Muskeln wurde steril filtriert. Es scheint mir der Hinweis von der Abweichung von der Bail'schen Technik der Aggressingewinnung durchans nicht nebensächlich, da sich schon hieraus vielleicht einige Abweichungen der Resultate erklären lassen. Pfeiffer und Scheller haben sich zwar selbst nicht verhehlt, dass durch Filtration ein Teil der Aggressine verloren gehen könne, haben aber absichtlich alle Bakterienleibessubstanzen zu entfernen gesucht. Versuche die für Meerschweine untertödlichen Dosen mit Hilfe der Filtrate zu tödlichen zu machen, ergaben keine einwandfreien Anhaltspunkte. Auch die Immunisierungsversuche an Tauben mit dem Muskelpressaftfiltrat misslangen. Es scheint mir aber doch zweifelhaft, ob diesen Versuchen bereits eine hinreichende Beweiskraft gegen die Aggressinlehre zukommt. Denn erstens muss erwähnt werden, dass auch die Filtrate von wässrigen Extrakten und aus Kulturen ebenfalls keine irgendwie sicheren Resultate ergaben, so dass der Einfluss der Filtration auf die Gewinnung der immunisierenden Produkte mehr berücksichtigt werden kann, zumal zur Prüfung dieser Immunität die Tiere mit einer Öse des von Vibrionen wimmelnden Exsudates infiziert wurden. Das war zweifellos eine vieltausendfach tödliche Dosis. Ausserdem wäre zu berücksichtigen, dass bei der Exsudat-Immunisierung einer etwaigen Überempfindlichkeit Rechnung getragen werden müsste.

Hahn (ebendasselbst) betrachtet die Aggressine vorläufig nicht als neuartige Stoffe; es bleibt nach ihm zweifelhaft, ob es sich bei der begünstigenden Wirkung der Peritonealexsudate um Bestandteile der Bakterienleiber oder um Stoffwechselprodukte handelt.

Citron sagte: „Gegen die Auffassung Dörr's, dass das Wesen der Aggressinwirkungen in der Giftigkeit der Bakterien-

extrakte zu suchen sei, spricht die Beobachtung, dass die mit Serum hergestellten künstlichen Aggressine der Schweineseuche stark aggressiv und wenig giftig, die mit destilliertem Wasser hergestellten Schweineseucheextrakte dagegen meist stark giftig und wenig aggressiv sind. Es liegt also kein Parallelismus der Giftigkeit und der infektionsbefördernden Wirkung vor.“

Ostertag: „Was die Aggressinfrage anbetrifft, so kann ich die Angaben der Herrn Wassermann und Citron, soweit sie sich auf Schweineseuche und Schweinepest beziehen, nur bestätigen. Auch ich habe — nicht nur an Laboratoriumstieren, sondern auch an Schweinen — festgestellt, dass es möglich ist, mit unfiltrierten aber zentrifugierten Schüttelextrakten lebender Schweineseuchebakterien gegen Schweineseuche zu immunisieren. Filtrierte Schüttel-extrakte haben sich weniger wirksam oder unwirksam erwiesen. Nur bei Geflügelcholera habe ich die Überlegenheit der Bail'schen Aggressine gegenüber den Schüttelextrakten festgestellt. Es gelang mir wie Herrn Bail und auch Herrn Gruber mit Bail'schen Aggressinen gegen Geflügelcholera zu immunisieren, während mir dies bisher mit wässrigen Schüttelextrakten nicht glückte.“

Was nun die zweite Frage angeht, ob die Aggressinwirkung nicht etwa auf freie Rezeptoren zurückgeführt werden kann, so lässt sich nur folgendes sagen: Wohl hatte Citron mit Hilfe von Komplementablenkung Rezeptoren in den Exsudaten nachgewiesen. Indessen ist damit keineswegs bewiesen, dass durch diese Rezeptoren die Erscheinungen der Bail'schen Versuche allein bedingt werden. Dörr, welcher zwar ebenfalls den Nachweis von Rezeptoren in den Exsudaten erbracht hat, ist der Ansicht, dass freie Rezeptoren höchstens als ein nebensächlicher Faktor bei der Erklärung der infektionsbefördernden Wirkung der Exsudate in Betracht kommen können. Wenn Tiere mit Bakterien und Aggressin bei steriler Bauchhöhle sterben, so kann dies bei alleiniger Annahme von Rezeptoren nicht geklärt werden. Dann bleiben schlechterdings nur 2 Annahmen übrig: Entweder hat Bail recht, wenn er annimmt, dass die Tiere durch die an sich nicht tödliche Giftmenge der Bakterien getötet werden, weil die Leukozyten, die sonst das Gift aufnehmen, durch das Aggressin ferngehalten sind. Oder aber es müssen im Aggressin selber Gifte angenommen werden, deren Natur wir nicht kennen. Besonders ist aber die Prüfung der anderen Frage, ob die Aggressinwirkung nicht etwa auf Gifte

zurückgeführt werden kann, für die Aggressinlehre verhängnisvoll geworden. Bail selbst hatte, wie schon erwähnt, die Möglichkeit eines Giftgehaltes der Aggressine erörtert, dieselbe aber im grossen und ganzen ablehnen zu müssen geglaubt. Nun hatte aber vor allem Sauerbeck¹⁾ an Exsudaten, welche durch Filtration von Bakterien befreit waren, gezeigt, dass derartige Exsudate alle toxisch wirken können. Wiederholte Injektionen derselben hatten durchweg Gewichtsverlust der Tiere zur Folge und nicht wenige Tiere gingen während der Immunisierung ein. Sauerbeck wie Dörr haben ferner festgestellt, dass ein aggressiver Effekt auch mit anderen Giften erzielt werden kann.

Vor allem hat Sauerbeck dann einen weiteren Beweis für die giftige Natur der Substanzen, welche die infektionsbefördernde Wirkung ermöglicht, durch den Vergleich von Exsudaten stark und wenig virulenter Bakterien erbracht.

Auch Dörr glaubt, dass Rezeptoren in den Exsudaten vorhanden sind, dass aber den darin enthaltenen Giften eine grössere Bedeutung zukommt.

Es wurde dann schliesslich noch nach anderen Erklärungsmöglichkeiten für die Aggressinwirkung gesucht.

So trachtete A. Wolff²⁾ die Endotoxinlehre mit der Aggressinlehre in Einklang zu bringen. Der Versuch muss aber als misslungen angesehen werden.

Denn die Endotoxine werden nur durch Zerstörung der Bakterien frei, sind giftig und nach Wolf unfähig zur Antikörperbildung; die Aggressine aber sollen gerade echte Immunität erzeugen, sollen ungiftig sein und von den intakten Bakterien sezerniert werden.

Endlich ist von seiten der Gegner Bail's darauf hingewiesen worden, dass auch das Verhalten der Leukozyten mit den Voraussetzungen der Aggressintheorie nicht übereinstimme.

Der Grundbegriff des Aggressins sei der einer antileukozytären Substanz, aber ein Parallelismus zwischen Aggressivität und Fernbleiben der Leukozyten konnte nicht sicher aufgefunden werden.

¹⁾ Sauerbeck, Lubarsch-Ostertag 1907.

²⁾ A. Wolff, Die Endotoxinlehre. Münch. med. Wochenschr. 1906. Nr. 5.
Derselbe, Die Aggressinlehre. Zentralbl. f. Bakt. I. Ref. 1906.

Aber auch die Aggressinimmunität als solche ist nicht anerkannt worden.

Denn die Kritik verlangt den Nachweis, dass die von Bail in so überraschender Weise bei vielen Krankheiten zweifellos erreichte Immunität weder bakterizid noch antitoxisch sei.

Zunächst ist von Bail und seinen Schülern nur bewiesen worden, dass diese Immunität bei den Septikämieerregern wie Milzbrand, Hühnercholera etc. nicht bakterizid ist. Denn die Mikroorganismen können sich im immunen Körper unter Umständen noch lange Zeit halten und sich selbst vermehren.

Eine solche Tatsache ist mit einer bakteriziden Immunität unvereinbar und insofern bedeuten die Errungenschaften Bail's einen grossen Fortschritt in der gesamten Immunitätslehre. Aber wenn die Bakterien sich im immunen Körper unter Umständen noch vermehren können, so kann dies zwar keine bakterizide Immunität, aber auch keine Aggressinimmunität sein. Denn bei der antiaggressiven Immunität müsste das Wachstum der Bakterien unterbleiben und die Unterdrückung des Wachstums müsste durch die Phagozyten zustande kommen.

Gerade bei den stark aggressiven Bakterien war indessen die Bakterienvermehrung nicht behindert und Phagozytose z. B. bei der Hühnercholera nicht vorhanden.

Wenn aber die Immunität weder bakterizid noch antiaggressiv ist, was bleibt noch übrig?

Sauerbeck¹⁾ glaubt: „dass die Bail'sche Immunität, bei der nach übereinstimmender Aussage der Bail'schen Schule, wie ihrer Gegner, die Verhinderung der Bakterienvermehrung ein inkonstantes Phänomen ist, weder eine bakterizide noch auch eine antiaggressive sein kann, jedenfalls nicht ausschliesslich oder auch nur hauptsächlich, dass sie vielmehr nur als eine antitoxische zu erklären sei. Denn nur die Annahme einer antitoxischen Immunität bleibt von der genannten Bakterienvermehrung unbeeinflusst.“

Sauerbeck hat die Sätze der Bail'schen Lehre und die Sätze der Kritik folgendermassen zusammen gefasst:

¹⁾ Sauerbeck, Lubarsch-Ostertag 1907.

A. Sätze der Aggressintheorie.

Nach Bail's Aggressintheorie ist Infektion und Immunität auf folgende Weise zu erklären:

Die pathogenen Bakterien scheiden im Organismus Stoffe aus (oder bringen in ihrer Umgebung Zustandsänderungen hervor), die die Schutzkräfte lähmen. Die Stoffe (bezw. Zustandsänderungen) nennt man Aggressine als Träger der Aggressivität (Infektiösität oder Virulenz nach Kruse).

Es kann dieser Träger der Aggressivität von den Bakterien getrennt erhalten werden, indem man Exsudate infizierter Tiere durch Zentrifugieren (oder Filtrieren) von den korpuskulären Elementen trennt.

Die Bakteriolyse, die übrigens nach Bail im lebenden Tiere nur unter unnatürlichen Verhältnissen (intraperitoneale Injektion!) in Erscheinung tritt, und nur gegenüber einer beschränkten Zahl von Bakterienarten, bleibt von den Aggressinen unbeeinflusst.

Ferner wirken die Aggressine auch nicht durch allgemeine Vergiftung.

Die Schutzkräfte, auf die die Aggressine hemmend wirken, sind vielmehr vorwiegend oder ausschliesslich die phagozytierenden Leukozyten.

Der Einfluss der Aggressine auf die Leukozyten wurde von Bail ursprünglich in negativer Chemotaxis gesucht, ist aber nach neueren Untersuchungen der Bail'schen Schule ein komplizierterer. Auch in den günstigsten Fällen kommt negative Chemotaxis nur zustande, wenn Aggressin mit den zugehörigen Bakterien zusammen wirkt, immer aber wird durch die Aggressine die Phagozytose unterdrückt oder herabgesetzt.

Es ist also für die Aggressine charakteristisch, dass sie ohne Behinderung der Bakteriolyse, wo diese möglich ist, und ohne giftige Eigenwirkung, augenscheinlich nur durch die genannte Beeinflussung der Phagozytose, die Infektion befördern (1. Grundversuch), d. h. einerseits eine nicht zu kleine untertödliche Bakterien-dosis tödlich machen, andererseits eine an sich tödliche Infektion besonders schwer verlaufen lassen (völlige Abhaltung der Phagozyten!).

Ausser durch die Infektionsbeförderung sind die Aggressine durch die Fähigkeit charakterisiert (2. Grundversuch) eine Immunität zu erzeugen, die weder bakteriolytisch noch antitoxisch ist.

B. Sätze der Kritik.

Die Beweisführung der Bail'schen Schule ist anfechtbar

a) was den ersten Grundversuch, die Infektionsbeförderung betrifft, denn

das Fehlen einer Beeinflussung der Bakteriolyse ist nicht genügend festgestellt; es kommen in Bail'schen Exsudaten sicher antilytische Bakterienbestandteile vor (freie Rezeptoren).

Das Fehlen einer giftigen Eigenwirkung der Bail'schen Exsudate steht noch weniger fest, die Exsudate sind, wie man nicht nur den Angaben der Kritik, sondern auch denen Bail's entnehmen kann, von nicht unerheblicher Giftigkeit, die in der Hauptsache wohl auf frei gewordene Endotoxine zurückzuführen ist.

Die Identität der Aggressine mit den Giften der Exsudate ist auch wahrscheinlich, da

1. für beide Substanzen die Neutralisation durch Leukozyten mehrfach bewiesen ist;

2. für beide Substanzen die Inaktivierungstemperatur (wenigstens soweit bis jetzt untersucht) dieselbe ist.

Sicher kann Infektionsbeförderung sowohl durch antilytische Substanzen wie durch Gifte zustande kommen, und zwar durch letztere auch eine nicht spezifische Infektionsbeförderung. (Es kann somit von einer Verwertung des ersten Grundversuches zur Feststellung der Bakterienverwandtschaft, wie sie Salus vorschlug, nicht die Rede sein.)

Die Beeinflussung der Leukozyten lässt das einfache Verhältnis zur Aggressivität, das Bail voraussetzt, nicht erkennen. (Ausnahmen gibt neuerdings auch die Bail'sche Schule zu.) Die Effekte, die Bail den Aggressinen zuschreibt, sind auch durch Gifte (Ekto- und Endotoxine) zu erzielen.

Ob die „hemmenden Substanzen“ Pfeiffer's oder die noch unbekanntes „Antikörper“ von v. Pirquet und Schick im ersten Bail'schen Grundversuch eine Rolle spielen, bedarf weiterer Untersuchung, ist für letztere allerdings jetzt schon sehr unwahrscheinlich.

Bis zu welchem Grade „natürliches“ und „künstliches“ Aggressin miteinander identisch sind, ist ebenfalls noch weiter zu untersuchen.

Viel schwerer noch sind die Einwände:

b) betreffend den Gegenstand des zweiten Grundversuches, die Antiaggressinimmunität:

Es ist Bail allerdings gelungen, gegenüber den stärkst aggressiven Bakterien, die sich bisher bei allen Versuchen unzugänglich erwiesen hatten, eine starke Immunität zu erreichen.

Was aber die Natur dieser Immunität betrifft, so ist bloss festgestellt, dass sie keine bakteriolytische ist. Es ist aber aus den Angaben der Bail'schen Schule selbst mit voller Sicherheit zu entnehmen, dass sie auch keine antiaggressive ist; denn die Bakterien können sich im immunen Tier der Phagozytose dauernd entziehen und vermehren, ohne dass das Tier leidet, während der Begriff der antiaggressiven Immunität eine starke Phagozytose und eine Unterdrückung der Bakterienvermehrung durch eben diese Phagozytose fordert.

Die Immunitätsart, die von den bekannten bzw. denkbaren allein in Betracht kommt, ist die antitoxische. Die Tatsache des mangelnden Nachweises der Gifte, die die antitoxische Immunität erzeugen müssten, die einzige Tatsache, auf die Bail's ablehnende Haltung in diesem Punkte sich stützt, kann nur zur erneuerten Aufnahme der Forschung über die Bakteriengifte führen.“

So hat also die theoretische Deutung der Bail'schen Entdeckungen zunächst eine herbe Abweisung von seiten der Kritik erfahren. Und doch braucht dieselbe den Autor der Aggressin-hypothese nicht zu betrüben.

Denn wenn wir nun fragen, was die Kritik an die Stelle der Aggressine gesetzt hat, so finden wir wieder nur Hypothesen. Die Lösung des Rätsels, von dem die ganze Aggressinlehre ausgegangen ist, warum der Milzbrandbazillus im Kaninchenorganismus wächst, während er im Serum desselben Tieres zugrunde geht, ist noch ungelöst geblieben. Wir werden noch im zweiten Teil unserer Arbeit auf die Untersuchungen zu sprechen kommen, die seitdem angestellt sind, um diesem Rätsel der Pathogenität näher zu kommen.

An dieser Stelle will ich nur noch hervorheben, wie ich selbst über die Aggressinlehre denke und warum es mir notwendig erschien, in Rücksicht auf die Serumtherapie des *Ulcus serpens* diesen Überblick über die Aggressinforschung zu geben.

Wie schon vielfach ausgesprochen worden ist, kann es keinem Zweifel unterliegen, dass auch die echt infektiösen Bakterien bei ihrem Wachstum im lebenden Körper besondere Stoffe bilden müssen, auf deren Rechnung nicht zum wenigsten die Krankheitserscheinungen zurückgeführt werden müssen.

Mögen wir diese Stoffe Aggressive, Toxine, freie Virulenzrezeptoren und wie immer nennen, es ist Bail's Verdienst, in der Gewinnung dieser Substanzen, auf die in Zukunft in der Immunitätsforschung alles ankommen muss, mit Hilfe seiner Exsudate einen grossen Schritt vorwärts getan zu haben.

Wohl ist es gewiss richtig anzunehmen, dass die Immunität, welche wir nach Vorbehandlung der Tiere mit steigenden Dosen virulenter Bakterien erzielen, mehr oder weniger identisch sein wird mit der Aggressinimmunität. Aber wir werden in der Herstellung der wirksamen Schutz- und Heilsubstanzen, in der Erzielung besserer Sera noch viel weiter kommen, wenn es erst einmal gelungen sein wird, gerade diese Substanzen der infektiösen Bakterien in noch besserer Form in die Hand zu bekommen.

Bail ist uns, wie seine Resultate bei Milzbrand, Hühnercholera gezeigt haben, auf diesem Wege vorangegangen und die Wissenschaft muss der Aufgabe, auf diesem Wege die X-Substanzen zu erforschen, weiter nachgehen.

Es ist ferner ein grosses Verdienst von Bail, zu den schon vorliegenden aber wenig beachteten Anzeichen neue Beweise dafür erbracht zu haben, dass es infektiösen Bakterien gegenüber noch eine neue Immunität gibt, die weder bakterizid noch phagozytär sein kann.

Denn wenn bei der aktiven Exsudat-Immunisierung gegen Hühnercholera und Milzbrand ein Zustand des Organismus erreicht wird, bei dem sich diese eminent infektiösen Keime im immunen Körper noch halten, ja unter Umständen noch vermehren können, ohne dass dieser Körper mehr gefährdet ist, wenn ferner bei dieser Immunisierung die Phagozytose diesen hochinfektiösen Keimen gegenüber gar keine Rolle mehr spielen kann, wenn endlich auf diese Weise wieder Sera gewonnen werden können, die nicht bakterizid und doch sicher schützend wirken, so kann es keine besseren Beweise dafür geben, dass eben hier noch andere Immunitätsvorgänge aufgedeckt worden sind.

Wir werden noch sehen, wie wichtig diese Erscheinungen für die Frage der Pneumokokkenimmunität und Serumtherapie des *Ulcus serpens* geworden sind.

Nur aus ihnen heraus ist es zu verstehen, dass in dieser wichtigen klinisch-ophthalmologischen Frage weitere Fortschritte erzielt werden konnten. Es war deshalb notwendig, dass ich zunächst den Fachgenossen diesen Überblick über die Aggressinforschung gegeben habe.

Auch in der Ophthalmologie muss sich die Aufmerksamkeit jetzt mehr wie je dem Begriff der Pathogenität der Infektionskeime zuwenden. Das ist die klare Forderung, welche sich für uns zunächst aus der Aggressinforschung ergibt.

Die Pathogenität der Krankheitserreger muss uns auch die Mittel zu ihrer Bekämpfung liefern.

Diese Erkenntnis hat sich mir sofort aufgedrängt, als Bail seine Forschungen begann und ich kann nun dazu übergehen, die Resultate mitzuteilen, welche die Beschäftigung mit der Aggressinlehre für die Förderung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* gezeitigt hat.

Freilich kann der Kliniker aus naheliegenden Gründen nur langsam den oft stürmischen Fortschritten der theoretischen Wissenschaft nachkommen.

Ich bin deshalb erst jetzt in der Lage, meine Untersuchungen den Fachgenossen mitteilen zu können.

1. Folgerung aus der Aggressinlehre:

Rückkehr zur Immunisierung mit hochvirulenten Pneumokokken-Kulturen.

Aus dem soeben gegebenen Bericht über die Aggressinlehre wird zur Genüge hervorgehen, ein wie grosses Interesse durch die Frage nach der Aggressivität der Krankheitserreger von neuem an dem Rätsel des Wesens der Pathogenität erweckt worden ist. Es war eine zwingende Notwendigkeit, dass ich sofort nach den ersten Versuchen von Bail begann, die Frage nach der Aggressivität auch für den Erreger des *Ulcus serpens* durchzuprüfen. Denn es liegt auf der Hand, dass das ganze Krankheitsbild des *Ulcus serpens* mit dem Rätsel der Pathogenität des Pneumokokkus in ursächlichem Zusammenhang steht.

Aber auch die ebenso wichtige Frage der spezifischen Therapie dieser Infektion musste den Ergebnissen der Aggressinforschung Rechnung tragen.

Virulenz, Pathogenität, Aggressivität sind mehr oder weniger hinreichende Bezeichnungen für die Kraft eines Mikroorganismus, im lebenden Organismus zu haften, zu wachsen und Krankheit zu erzeugen, deren Ursachen es gilt womöglich immer näher zu kommen, wenn wir uns auch von vornherein — was vielfach vergessen wird — bewusst bleiben müssen, dass uns die letzten Geheimnisse des Bakterienprotoplasmas noch für lange Zeit ebenso verschlossen bleiben wie die des Protoplasmas überhaupt.

Aus diesem letzten Grunde ist es meines Erachtens gerechtfertigt und notwendig, dass wir uns nicht einseitig an eine Bezeichnung allein klammern, sondern versuchen müssen, neues Tatsachenmaterial zu gewinnen.

Ich bin deshalb in der Frage der Aggressivität der Pneumokokken beim *Ulcus serpens* ruhig meinen eigenen Weg gegangen und habe, wie sich zeigen wird, die vorhandenen Hypothesen über Aggressivität, die Vorstellung über Virulenz nur als Wegweiser benutzt, um von ihnen aus zu praktischen Ergebnissen zu gelangen.

Zunächst fragte es sich: Welche Bedeutung haben die Aggressine in der Pathologie des *Ulcus serpens*? Wir wissen aus zahlreichen klinischen Beobachtungen, dass es gutartige und malignere Formen vom *Ulcus serpens* gibt.

Um dahinter zu kommen, wodurch die Bösartigkeit des Prozesses bei den entsprechenden Fällen bedingt ist, habe ich zunächst, wie ich damals in Heidelberg auf dem Kongress mitgeteilt habe, zahlreiche Versuche in folgender Weise angestellt:

Es wurden nach den Vorschriften von Bail, wobei der letztere mich brieflich in freundlicher Weise mit seinem Rate unterstützte, aus den Exsudaten intrapleurale infizierter Kaninchen sterile Flüssigkeiten hergestellt. Die Exsudate wurden zentrifugiert und nach ihrer definitiven Sterilisierung durch Chloroformzusatz verwendet. Injiziert man einem Kaninchen mit einer feinen Kanüle einen Tropfen derartiger Flüssigkeit, die wir als „Aggressin“ bezeichnen wollen, in das Parenchym der Kornea, und infiziert nun diese Stellen durch Tascheninfektionen oder noch besser wieder durch intrakorneale Injektion fallender Kulturmengen, so kann man sich überzeugen, dass die Infektionen im Vergleich zu Kontroll-

tieren, die an Stelle des Aggressins nur Kochsalzlösung und Kultur erhalten haben, bei den Aggressintieren viel stürmischer und maligner verlaufen.

Man kann es auf diese Weise erreichen, dass in wenigen Stunden die ganze Kornea von der Infektion ergriffen ist, während es sonst ja beim Kaninchen, speziell bei Impfungen von Hornhauttaschen nur selten gelingt, mit den Pneumokokken eine diffuse schnell progrediente Infektion zu erzielen.

Es stimmte also dieses Resultat bei Hornhautimpfungen vollkommen mit den Aggressinversuchen überein, welche von den aufgeführten zahlreichen Autoren an anderen Körperstellen angestellt waren.

Es zeigte sich sehr bald, dass diese Versuche an der Kornea, welche die infektionsbefördernde Wirkung von Bakterienprodukten illustrieren, nur dann in typischer Weise gelingen, wenn hochvirulente Stämme sowohl zur Herstellung der Pleuraexsudate wie der Infektionen verwendet waren.

Es kann danach keinem Zweifel unterliegen, dass die Anwesenheit von spezifischen Produkten von virulenten Pneumokokken in der Kornea den Verlauf der Infektion beschleunigt und die Malignität des Prozesses mit bedingt. War dieses Resultat auch zu erwarten, so gab es doch einen neuen Fingerzeig für die spezifische Therapie dieser Infektion.

Die erste Konsequenz, welche ich aus all den zahlreichen Untersuchungen und meinen eigenen Versuchen über Aggressivität gezogen habe, ist die folgende:

Rückkehr zur Immunisierung der Serum liefernden Tiere mit hochvirulenten Pneumokokkenstämmen.

Nachdem durch die Aggressinforschung die Aufmerksamkeit wieder ganz besonders auf die Virulenz der Krankheitserreger und auch auf die Bedeutung derselben für die Erzeugung der Immunität gelenkt war, musste in klinischen Untersuchungen die Frage entschieden werden:

Erfahren die ungenügenden therapeutischen Resultate bei der Behandlung des *Ulcus serpens* mit Serum, welches mit *Ulcus serpens*-Stämmen hergestellt war, von dem Momente ab eine Besserung, sobald Serum zur Anwendung gelangt, das mit hochvirulenten Stämmen hergestellt ist?

Es wurden dementsprechend eine grosse Anzahl hochvirulenter Stämme gezüchtet und die Immunisierung frischer Tiere mit denselben durchgeführt. Mit Aderlassproben derselben wurde dann folgende Reihe von *Ulcera serpentina* behandelt:

Bogensberger, Ernestine, 45 J., Schreinersfrau aus Garitz.

Verletzung voraussichtlich vor 8 Tagen.

7. V. 06. Aufnahme. L.: Zentral und nach unten 6 mm grosses *Ulcus serpens*, Progression nach unten. Hypopyon 2 mm. — 20 ccm Serum subkutan.

8. V. Chemosis. Infiltration des unteren Randes dichter (Lokalreaktion).

9. V. Kein Weiterschreiten, Chemosis zurückgegangen, Hypopyon geringer.

11. V. Hypopyon verschwunden, Rand gereinigt bis auf zwei kleine Herde.

13. V. Beide Infiltrate bilden sich deutlich zurück, Prozess sicher überwunden.

16. V. *Ulcus* vollständig gereinigt.

20. V. Entlassung. Delle spiegelt überall. Visus: Finger 4 m.

Weid, Karl, 20 J., Steinhauer.

Verletzung vor 3 Tagen.

11. V. 06. R.: *Ulcus serpens* parazentral, 2 mm im Durchmesser, nasal dichter Rand, 1 mm Hypopyon, — 20 ccm Serum subkutan.

12. V. Dichte Infiltration des Randes (Lokalreaktion).

13. V. Kein Weiterschreiten, Grund des Geschwüres sauberer, Hypopyon noch strichförmig.

14. V. *Ulcus* auffallend gereinigt, kein Hypopyon mehr.

16. V. Glatte Fazette.

13. V. Entlassung, Visus: 6/20—15.

Stark, Friedrich, 54 J., Hirt aus Rohrbrunn.

Verletzung vor 7 Tagen.

9. VI. 06. Aufnahme. L.: Im inneren oberen Quadranten nahe dem Zentrum *Ulcus serpens* 3 mm gross, dichter progredienter Rand nach der Pupille zu. Grund stark grau belegt, Hypopyon 2 mm. — Subkutan 20 ccm Serum.

10. VI. Leichte Chemosis, Progressionswall stark aufgeworfen (Lokalreaktion).

11. VI. Keine Progression mehr.
 12. VI. Auffallende Besserung, Hypopyon strichförmig, Rand dünner.
 13. VI. Deutliche Reinigung des Geschwürgrundes, noch Spur Hypopyon.
 14. VI. Hypopyon geschwunden, Reinigung schreitet fort.
 18. VI. Auge blasst ab, in der Tiefe des Grundes noch letzte Reste von Exsudat.
 22. VI. Entlassung. Visus: Finger 1 m, später sicher mehr.
- Kiesel, Babette, 63 J., aus Marktbreit.
Verletzung vor 5 Tagen.
27. VI. 06. Aufnahme. R.: Zentral Ulcus serpens, 5 mm gross, progredient nach innen und unten. Strichförmiges Hypopyon. — 10 ccm Serum.
 28. VI. Zunahme des Hypopyons und stärkere Infiltration des Randes mit Chemosis der Konjunktiva (Lokalreaktion). — 10 ccm Serum.
 29. VI. Kein Fortschreiten des Prozesses, Chemosis hält an.
 30. VI. Auffallende Besserung, Hypopyon kaum noch vorhanden, Grund durchscheinender, Rand viel dünner, nur noch aus einzelnen Herden bestehend.
2. VII. Reinigung schreitet stetig weiter, Substanzverlust sehr tief.
 8. VII. Epithelisierung vollendet.
 21. VII. Entlassung nach völliger Ausfüllung. Visus: Finger 3 m.
- Kirchdörffer, Barbara, 60 J., aus Blaufelden.
Verletzung vor etwa 10 Tagen.
28. VI. 06. Aufnahme. L.: Im äusseren unteren Quadranten graubelegtes Ulcus serpens, 4 mm gross, Progressionswall nach der Pupille zu. 1 mm Hypopyon. — Subkutan 10 ccm Serum.
 29. VI. Ränder etwas dichter infiltrierte (Lokalreaktion). Subkutan 10 ccm Serum.
 30. VI. Kein Fortschreiten. Hypopyon etwas weniger.
1. VII. Deutliche Besserung, Rand dünner, kaum noch Hypopyon.
 3. VII. Reinigung vollendet.
 8. VII. Entlassung. Spiegelnde Fazette.

Mai, Johann, 54 J., aus Unterelsbach.

Verletzung am 25. VI. 96.

28. VI. 06. Aufnahme. L.: Im unteren äusseren Quadranten schräg gestaltetes ovales Ulcus serpens, 3:2 mm, Grund grau infiltriert, Ränder gelblich, besonders nach oben innen progredient, 1 mm Hypopyon. — 10 ccm Serum subkutan.

29. VI. Mässige lokale Reaktion. Konjunktiva unten chemotisch, Rand jedoch bereits weniger infiltriert.

30. VI. Hypopyon resorbiert.

1. VII. Geschwürsgrund noch grau.

2. VII. Ränder vollkommen gereinigt, Chemosis der Konj. verschwunden.

9. VII. Epithelisierung vollendet.

11. VII. Entlassung. Visus: 6/12.

Beninger, Barbara, 60 J., aus Poppenlauer.

7. VII. 06. Aufnahme. R.: Zentral Ulcus serpens, 3—4 mm, grauer Grund, Infiltrationswall innen oben. Kein Hypopyon. — Subkutan 10 ccm Serum.

8. VII. Deutliche lokale Reaktion, 1 mm Hypopyon, Rand stärker infiltriert.

10. VII. Auffallende Heilung, Hypopyon verschwunden, Rand abgeschmolzen.

14. VII. Vollkommen gereinigt.

20. VII. Entlassung. Visus: 5/60, später sicher mehr.

Jäger, Eva, 67 J., aus Kirchlauter.

15. VII. 06. Aufnahme. Verletzung vor 5 Tagen. Zentral Ulcus serpens von 3—4 mm Ausdehnung, Progression nach oben aussen. Kein Hypopyon. Subkutan 10 ccm Serum.

16. VII. Lokale Reaktion vielleicht schon in der Nacht, jedenfalls keine Progression.

17. VII. Rand viel dünner, nur in der Tiefe des Grundes noch stärkere Infiltration.

20. VII. Rand vollkommen gereinigt, auch der Grund durchscheinender.

30. VII. Entlassung. Visus: 6/60.

Feiler, Michael, 45 J., Tagelöhner aus Repperndorf.

Verletzung vor 2 Tagen.

30. VII. 06. Aufnahme. L.: Zentral 2—3 mm grosses Ulcus serpens, Grund belegt, Rand ringsherum stark infiltriert, 2 mm Hypopyon. — Subkutan 10 ccm Serum.

31. VII. Lokale Reaktion mittelstark, dichtere Infiltration des Randes, leichte Chemosis, Hypopyon nicht zugenommen.

1. VIII. Auffallende Besserung, Hypopyon verschwunden, Rand vollkommen glatt.

6. VIII. Entlassung. Visus: 6/20.

Weipert Barbara, 69 J., Bauernfrau aus Müdesheim.

Verletzung vor 2 Tagen.

4. X. 06. L.: Ulcus serpens 4:5 mm parazentral nach unten. Rand ringsherum stark infiltriert, Hypopyon 2 mm. — 20 ccm Serum.

5. X. Keine Progression, Rand stärker grau (Lokalreaktion).

6. X. Deutliche Besserung, Hypopyon nur noch Spur, Rand des Ulcus war gestern Abend in der oberen Hälfte schon dünner, ist heute in ganzer Ausdehnung nur noch ein schmaler blasser Saum. Glatte Heilung weiter.

19. X. Entlassung.

Dinsbach, Michael, 37 J., Maurer aus Waldbrunn.

29. IX. 06. Verletzung vor 2 Tagen. R.: Ulcus serpens 2—3 mm gross, zentral gelegenes Hypopyon strichförmig. 10 ccm Serum.

30. IX. Starke lokale Reaktion. Geschwür eitrig belegt, Hypopyon etwas grösser.

1. X. Auffallende Besserung, Ulcus fast ganz gereinigt, nur noch Spur Hypopyon.

2. X. Besserung hält an, Hypopyon verschwunden. Glatte Heilung weiter. Entlassung am 5. X.

Deinhard, Andreas, 48 J., Dienstknecht aus Auernhof.

Verletzung vor 4 Tagen. 14. V. 07. L.: Zentral Ulcus serpens 3:2 mm, Hypopyon 2 mm. Der ganze Rand stark infiltriert. 30 ccm Serum.

15. V. Ulcus innen weiter geschritten, mehrere einzelne neue Herde am Rand.

16. V. Weitere Progression des Geschwüres, Grösse desselben 4:5 mm, Kauterisation.

18. V. Wieder neue Eiterherde am unteren Rand, nochmals Kauterisation. Von da ab auffallend langsame Heilung. Noch am

3. VI. am Rand der letzte Rest der Infiltration. Entlassung nach Pterygiumoperation an diesem Auge am 15. VI. Visus Finger 2 m.

Haaf, Georg, 35 J., Steinbrecher aus Ochsenfurt.

Verletzung vor 5 Tagen.

10. V. 06. R.: Zentral 2—3 mm grosses Ulcus serpens, ringförmiger Wall, Hypopyon 1 mm. — 20 ccm Serum.

11. V. Ulcus nach unten vorgeschritten, Rand stärker infiltriert, Hypopyon etwas grösser. Lokalreaktion? 10 ccm Serum.

12. V. Auffallende, fast akute Reinigung des Ulcus, aber noch Hypopyon.

13. V. Hypopyon nur noch strichförmig, anscheinend völlige Reinigung des Ulcus.

14. V. Kein Hypopyon mehr, aber unten innen ein kleines neues Infiltrat am Rand.

Von ihm aus beginnt wieder der Rand unten sich stärker zu infiltrieren. Rezidiv eines Ulcus serpens. Schmerzen in den nächsten Tagen, nochmals 20 ccm Serum.

Aber erst vom 23. V. beginnt langsame Heilung. Ob Sekundärinfektion im Spiele war, ist nicht untersucht worden.

Eindruck: Nach der ersten Serumanwendung anscheinend glatte Heilung, dann aber Rezidiv, das nur langsam zurückgeht.

Sopp, Philippine, 41 J., Bauernfrau aus Oberwaldberungen.

6. X. 06. Aufnahme. Vor 14 Tagen Verletzung, 6 mm grosses Ulcus serpens, Infiltrationswall besonders innen sehr stark, hier 2 mm breit, unterminiert, im äusseren Rand eine Reihe isolierter Herde. Hypopyon 4 mm hoch, z. T. an der Hinterfläche der Hornhaut hinaufgehend. Bild eines schwersten Ulcus serpens, 20 ccm Serum. Nach 8 Stunden Eindruck stärkerer lokaler Reaktion.

7. X. Ulcus nicht weiterschritten trotz seiner Schwere. Hypopyon aber gestiegen, fast die Hälfte der Kammer ausfüllend.

9. X. Ulcus noch immer stationär, Punction der vorderen Kammer und nochmals 20 ccm Serum.

11. X. Wieder 2 mm Hypopyon und neue Infiltrationsherde am Geschwürsrand Kauterisation. Von da ab langsame Heilung. Entlassung am 20. X. 06.

Heublein, Ambrosius, 61 Jahre, Bauer aus Obersiedenberg.

Verletzung vor 8 Tagen.

12. VIII. 06. R.: Ulcus serpens central, ganz oberflächliche Form 4:6 mm gross, temporaler Rand progredient, strichförmiges Hypopyon, — 10 ccm Serum subkutan.

13. VIII. Stärkere Infiltration des Randes aussen und oben.

14. VIII. Anscheinende Besserung, Rand viel dünner, Hypopyon gering.

15. VIII. Heute frische Herde im unteren Rand und Hypopyon gestiegen auf 2 mm.

Nochmals 20 ccm Serum.

16. VIII. Wieder Besserung, Rand oben ganz sauber, unten Infiltration geringer.

In diesem Zustand bleibt das Geschwür unverändert mehrere Tage. Das Hypopyon ist bald etwas geringer, bald wieder vermehrt, der Fläche nach ist das Geschwür nicht grösser geworden, jedoch bekommt man den Eindruck, dass es sich um das chronische Ulcus serpens handelt, was vielleicht durch seine oberflächliche Lage erklärbar ist.

25. VIII. Nochmals 20 ccm Serum, da das Ulcus keine Anstalten zur Heilung macht. — Auch jetzt ist wenig Tendenz zur Rückbildung vorhanden. Der Rand oben ist leicht grau, und auch im unteren Rand noch mehrere kleinste, dicht unter dem Epithel gelegene Infiltrate. Erst vom 29. VIII. an langsame Ausheilung, Serum jedenfalls ohne Wirkung.

15 Fälle von Ulcus serpens, behandelt mit Serum, das nur mit hochvirulenten Kulturen gewonnen war.

Name	Alter Jahre	Dauer der Infektion ca.: in Tagen	Grösse des Ulcus mm	Ausgang
Bogenberger	45	8	5:6	gut
Weid	20	3	2:2	"
Stark	54	7	3:3	"
Kiesel	63	5	4:5	"
Kirchdörfer	60	4	4:4	"
May	54	3	2:3	"
Beninger	60	5	3:4	"
Jäger	67	5	3:4	"
Feiler	45	2	2:3	"
Weippert	69	2	4:5	"
Dinsenbach	37	2	2:3	"
Deinhard	48	4	2:3	schlecht. Kauterisation
Haaf	35	5	2:3	"
Popp	41	14	5:6	" u.Punktion
Heublein	68	8	4:6	"

In dieser Serie von 15 Fällen von *Ulcus serpens*, die mit Serum behandelt wurden, das probeweise mit hochvirulenten Kulturen hergestellt war, trat bei 11 Fällen eine auffallende Besserung des Zustandes ein.

Für mich selbst diente dieses Resultat zunächst nur dazu, um in mir die Überzeugung zu stärken, dass ich in der spezifischen Behandlung ausgebildeter *Ulceras serpentina* wieder einen deutlichen Schritt weiter gekommen war.

Trotzdem sind diese Fälle noch nicht für eine spätere Statistik zu verwerten, weil uns noch das Kriterium fehlt, an dem wir die Heilwirkung des Serums exakt messen können.

Denn noch immer handelt es sich bei diesen Fällen, so wichtig dieselben im Interesse der Serumtherapie des *Ulcus serpens* auch für mich geworden sind, nur um den Eindruck, dass das Serum von günstigster Einwirkung gewesen ist.

Es ist dafür ein anderer Grund, warum ich zunächst diese Fälle den Fachgenossen mitgeteilt habe.

Der klinische Beobachter soll an der Hand dieser Fälle auf eine gesetzmässige Erscheinung aufmerksam gemacht werden, welche am *Ulcus serpens* dann zutage tritt, wenn Serum zur Anwendung gelangt, das mit virulenten Kulturen gewonnen ist: In den Fällen, wo das Resultat ein günstiges war, erfolgte im Verlaufe des ersten oder spätestens des zweiten Tages nach der Seruminjektion eine deutliche lokale Reaktion am Geschwürsgrund. Derselbe wies eine stärkere Infiltration auf und es war auffallend, dass ganz akut nach dieser lokalen Reaktion der Progressionswall abschmolz und der Grund sich reinigte. Die Erklärung für diese lokale Reaktion kann erst im 2. Teile der Arbeit gegeben werden. An dieser Stelle soll nur darauf aufmerksam gemacht werden, dass diese Erscheinung, deren gelegentliches Auftreten ich früher schon einmal erwähnt habe, nunmehr als eine gesetzmässige zu bezeichnen ist. Dieselbe steht, wie wir später noch sehen werden, mit der spezifischen Heilung des *Ulcus serpens* in ursächlichem Zusammenhang.

Auf sie hat jetzt der Kliniker stets zu achten, weil sie uns den ersten klinischen Fingerzeig gibt, dass die spezifische Wirkung eines Serums auch wirklich einsetzt.

An ihr lernt der Geübte unterscheiden, ob eine Besserung oder Heilung des *Ulcus serpens* nach der Serumeinspritzung zu erwarten steht. Die Zeit, in der diese Lokalreaktion sich am

Geschwür bemerkbar macht, hängt in erster Linie von der Beschaffenheit des Serums und zweitens von der Resorption desselben nach der subkutanen Injektion ab. Häufig kann man diese Erscheinung schon am Abend erkennen, wenn die Seruminjektion am Morgen erfolgt ist. Will man sie nicht übersehen, so muss man auch des Nachts die Ulcera betrachten. Es kommt nicht selten vor, dass plötzlich am Morgen der ganze Progressionsrand vollkommen abgeschmolzen ist.

Wenn wir diese Erscheinung immer und immer wieder antreffen, so kann von einem Zufall wohl keine Rede mehr sein. Es galt nun aber den definitiven Beweis für eine gewisse Heilwirkung des Pneumokokkenserums beim *Ulcus serpens* anzutreten.

2. Folgerung aus der Aggressinforschung.

Notwendigkeit der Virulenzbestimmung der Pneumokokkenstämme aus den *Ulcera serpentina*.

Diese soeben berichtete Beobachtungsreihe an *Ulcera serpentina*, die ich wieder wie in der allerersten Zeit mit dem Serum einiger Pferde behandelt habe, das nach Immunisierung mit hochvirulenten Kulturen gewonnen war, musste in mir die Überzeugung erwecken, dass ich mit den Resultaten wieder da angelangt war, wo ich schon einmal und zwar in der ersten Phase der Serumbehandlung gewesen war.

Vergleiche ich diese Resultate mit unseren Erfahrungen, welche wir selbst mit Serum von Tieren erhalten hatten, die mit *Ulcus serpens*-Stämmen allein vorbehandelt waren, und halte ich die Resultate der anderen Autoren, welche sich ebenfalls auf dieses letztere Serum beziehen, dagegen, so kann ich mich der Erkenntnis nicht verschliessen, dass die Resultate wieder einen entschiedenen Fortschritt aufweisen.

Es musste mir nun daran liegen, die Möglichkeit zu schaffen, dass sich jeder Nachuntersucher in einer objektiven Weise und unter einheitlichen Gesichtspunkten von den Resultaten selbst überzeugen kann.

Ich habe dies nach Überwindung nicht geringer Schwierigkeiten durch die Einführung einer systematischen einheitlichen Virulenzbestimmung der Pneumokokkenstämme und zweitens durch die staatliche Prüfung des Serums erreicht.

Von der ersteren soll zunächst in diesem Abschnitt die Rede sein. Die genaue Virulenzbestimmung jedes aus einem *Ulcus serpens* herrührenden Pneumokokkenstammes ist das zweite wichtige Ergebnis meiner Untersuchungen über die Pneumokokkenaggressivität. Wenn sie sich nur allein aus den Bail'schen Forschungen hätte ableiten lassen, so hätte damit die Aggressinlehre schon der Ophthalmologie einen grossen Dienst erwiesen. Die Tatsache der Infektionslehre, dass bei ein und derselben Art von Mikroorganismen die mannigfachsten Unterschiede der Virulenz vorhanden sind, gilt bekanntlich auch für die Pneumokokken, wie zahlreiche von den verschiedensten Forschern schon seit Dezennien angestellte Versuche gezeigt haben.

Aber was uns Ophthalmologen noch fehlte, was bisher nicht angeregt wurde, ist die Einheitlichkeit eines Verfahrens, die Virulenz der Pneumokokkenstämme, wie wir sie am Auge antreffen, von nun an regelmässig zu kontrollieren, dieselben untereinander und mit dem klinischen Verlaufe der *Ulcerata* zu vergleichen, um so allmählich die Gesetze aufzudecken, welche zwischen Pathogenität des Erregers, Disposition des betreffenden Individuums und der Heilbarkeit der *Ulcerata serpentina* auf serumtherapeutischem Wege bestehen.

Hierbei galt es, in objektiver Weise einen Satz zu prüfen, der in Bakteriologie fast zu einem Dogma geworden ist: Das ist die Anschauung, dass wir aus dem Ausfall des Tierversuches keinen bindenden Rückschluss auf die Menschenpathogenität ziehen dürfen.

So richtig dieser Satz für viele Krankheitserreger auch sein mag, so müssen wir uns doch hüten, ihn allgemein anzuwenden und ich glaube, dass auch hierin die Forschung über Aggressivität einen gewissen Wandel schaffen wird.

Auch ich, so muss ich gestehen, hatte mich bisher beim *Ulcus serpens* diesem Satze unterworfen und mich infolgedessen um die Schwankungen der Virulenzgrade der Pneumokokkenstämme in den *Ulcerata serpentina* nicht viel gekümmert.

Wenn wir doch einmal vom Tierversuch über die Menschenpathogenität nichts erfahren sollten, warum dann erst mühsam die Virulenz des Erregers noch bestimmen?

Und doch ist es etwas anders gekommen. Bekanntlich gibt es vom klinischen Gesichtspunkt aus gutartige und sehr maligne Fälle von *Ulcus serpens* genau so gut als dies für andere Infektions-

krankheiten zutrifft. Fälle, die in kürzester Zeit abheilen, stehen solchen gegenüber, bei denen trotz aller Therapie die ganze Kornea und zuweilen auch das ganze Auge der Infektion zum Opfer fällt.

Um welche Faktoren kann es sich hier handeln?

Ist der Fall klinisch gutartig, so kann entweder die Pathogenität des Pneumokokkenstammes eine geringfügige sein, wobei der Organismus selbst über einen normalen Besitz von Abwehrkräften verfügt. Oder aber es ist der Fall denkbar, dass auch trotz erheblicher Pathogenität des Pneumokokkenstammes der von ihm befallene Organismus besonders günstige Abwehräusserungen besitzt. Auch dann könnte a priori theoretisch ein klinisch gutartiger Verlauf bei einem stark virulenten Erreger gewährleistet sein. Endlich aber könnte bei einem klinisch gutartigen *Ulcus serpens* eine geringe Pathogenität von vornherein mit einem besonders gut gerüsteten Organismus zusammentreffen.

Umgekehrt können bei dem malignen *Ulcus serpens* wieder folgende Möglichkeiten im wesentlichen vorliegen: Hohe Pathogenität des Stammes bei normaler Disposition des Körpers, hohe Pathogenität bei herabgesetzter Widerstandsfähigkeit des Körpers, abnorm hohe Pathogenität des Krankheitskeimes selbst bei gesteigerter Widerstandsfähigkeit des Körpers und endlich verhältnismässig geringe Virulenz bei herabgesetzter Widerstandskraft des Organismus. Unter all diesen Bedingungen wird theoretisch ein ungünstiger Verlauf des *Ulcus serpens* möglich sein.

Wie sollen wir in der Erkenntnis dieser Beziehungen etwas weiter vordringen?

Dass dies im Interesse der Pathologie des *Ulcus serpens* wünschenswert und notwendig ist, braucht nicht erst erörtert zu werden.

Mit der Disposition des menschlichen Organismus selbst können wir hierbei direkt zurzeit noch nicht viel anfangen.

Mir ist es wenigstens bisher nicht gelungen, eine einfache biologische Reaktion ausfindig zu machen, mit der wir im Moment des Eintreffens eines *Ulcus serpens* entscheiden könnten, ob wir es mit einem besonders empfänglichen Auge oder besonders empfindlichen Organismus zu tun haben. Noch haben wir keinen Massstab für die jeweilige biologische Konstitution des Körpers. Dazu liegen die Verhältnisse der Disposition zu kompliziert. Wir sehen bö-

artige Ulcera bei jungen Leuten und leichte Geschwürsformen an senilen Augen und umgekehrt. Auch die Opsoninforschung hat, wie wir noch sehen werden und wie hier nur angedeutet werden soll, uns in diesem Punkte noch nicht weiter geführt.

Es bleibt daher zurzeit nichts anderes übrig, als uns zunächst einmal an den zweiten Faktor zu wenden, an den Krankheitserreger selbst.

Wir müssen von jetzt ab, wollen wir in der Beurteilung der Serumtherapie und spezifischen Prophylaxe des *Ulcus serpens* vorwärts kommen, bei jeder Pneumokokkeninfektion der Kornea die Pathogenität des betreffenden Stammes genau im Tierversuch bestimmen: Die Virulenzprüfung der Pneumokokken ist bis auf weiteres der einzig zuverlässige Indikator für die Beurteilung der Frage nach der spezifischen Heilbarkeit des *Ulcus serpens* geworden.

Die Virulenz können wir nur im Infektionsversuch am Tier bestimmen.

Es fragte sich daher zunächst: Kommen bei den *Ulcera serpentina* erhebliche Schwankungen der Tiervirulenz vor und lassen sich diese Schwankungen zahlenmässig und mit einem einheitlichen Verfahren so messen, dass diese Ergebnisse wissenschaftlich und praktisch verwertbar sind?

Und ferner: Welche Beziehungen bestehen zwischen der Tiervirulenz des Pneumokokkenstammes und dem klinischen Bild des *Ulcus serpens*?

Bekannt war bisher, dass in der Tat die *Ulcera serpentina* Pneumokokkenstämme von verschiedener Tiervirulenz liefern. Aber systematische Untersuchungen liegen hierüber bisher nicht vor und noch weniger ist uns von den Autoren, die sich bisher mit dem *Ulcus serpens* beschäftigt haben, ein einheitliches Verfahren für die Virulenzprüfung vorgeschlagen worden.

Hier habe ich daher mit meinen Versuchen eingesetzt. Ich schildere zunächst das Verfahren der Virulenzbestimmung der Pneumokokken, welches ich anfangs angewandt habe. Selbstverständlich bringe ich an sich mit diesem Verfahren bakteriologisch nichts Neues, sondern berichte dasselbe nur, um eine Einigung im Prüfungsmodus bei den Fachgenossen anzuregen. Sofort beim Eintreffen eines *Ulcus serpens* wird vom Rand des Geschwüres eine geringe Menge Material abgeschabt.

Axenfeld¹⁾ macht darauf aufmerksam, dass das Abkratzen von solchen infizierten Stellen für den Kranken unter Umständen schädlich werden könne. Die Lamellen der Hornhaut könnten gelockert werden, die infizierte Spitze des Instrumentes könne geradezu weiterimpfen. Ja er möchte für die zukünftige Beurteilung der Serumtherapie darauf hinweisen, dass die verschiedene Art der Entnahme darauf einen Einfluss übt, ob die Ulcera weiterhin Progression zeigen oder nicht. In der Klinik von Axenfeld geht man mit der Spitze einer sterilen Lanze vom Ulcus aus dem progredienten Rand entlang.

Wenn aber schon die Frage nach dem Einfluss der Materialentnahme einmal angeschnitten wird, so möchte auch ich meinen Standpunkt skizzieren.

Zunächst will ich nicht unerwähnt lassen, dass ich nicht die Spitze einer Lanze benütze, sondern eine starke Platinnadel mit spatelförmigem oder abgerundetem Ende. Auf diese Weise bekommt man vom Rand der Ulcera vollkommen genügend Material ohne weitere Lockerung tieferer Lamellen und läuft nicht, wenn man ein kleines Infiltrat zu untersuchen hat, Gefahr, noch weiter zu impfen.

Diesem Vorgehen ist es gewiss zu verdanken, dass ich trotz reichlicher Erfahrung auf diesem Gebiete, wie mir wohl zugestanden werden kann, von Schädigung des Patienten niemals etwas wirklich Beweisendes gesehen habe. Ausserdem ist es natürlich auch in unserer Klinik die Regel, dass auf jede Abimpfung von der Hornhaut sofort die Therapie einzusetzen hat, die von uns für die jeweilige Ätiologie des Geschwüres als die wirksamste angesehen wird.

Aber selbst wenn wirklich einmal in einem oder dem anderen Falle durch das Instrument eine Weiterimpfung eintreten sollte, so könnten wir im Interesse des Kranken sowohl wie der Wissenschaft von der Untersuchung der Ätiologie der Hornhautgeschwüre ja doch keinen Abstand nehmen.

Vor allem aber möchte ich bei dieser ganzen Frage nicht unerwähnt lassen, dass wenn die Schädigung durch Materialentnahme hervorgehoben wird, auch die Kehrseite der Medaille nicht übersehen werden darf. Wer wie ich einmal längere Zeit hindurch Keimzählungen sowohl in Kulturen wie im mikroskopischen Präparat von Geschwüren ausgeführt hat und beachtet hat, dass wir oft

¹⁾ Axenfeld, Serumtherapie bei infektiösen Augenerkrankungen.

viele Tausende von Keimen plötzlich mit der Materialentnahme vom Geschwür entfernt haben, wird sich mit mir gewiss schon die Frage vorgelegt haben, ob wir nicht in diesem oder jenem Falle besonders bei beginnenden Geschwüren die Hornhaut direkt entlastet und dem Auge dadurch den Kampf erleichtert haben. Ich habe mich wiederholt bei objektivster Betrachtung unserer Fälle fragen müssen, ob nicht ein grosser Teil des jeweiligen therapeutischen Resultates auf diesen Eingriff allein zu beziehen sein könnte. Aber weil ich zu der Überzeugung gekommen war, dass in der ganzen Frage der Materialentnahme sich Schaden und Nutzen das Gleichgewicht halten, so habe ich derselben nicht solche Wichtigkeit beimessen können und stehe auch noch jetzt auf dem Standpunkt, dass mir eine Warnung der Fachgenossen von autoritativer Seite vor Gefahren der Materialentnahme beim *Ulcus serpens* zu weitgehend erscheint und nur manche Fachgenossen dazu führen kann, bei einer Reihe von *Ulcer*a die Ätiologie lieber nicht aufgeklärt zu sehen. Ein solches Versäumnis würde ich aber für einen Fehler ansehen, der grössere Gefahren im Gefolge haben kann als die Entnahme selbst.

Nach 24stündigem Wachstum der ausgestrichenen Masse auf Löffler'schem Serum erhält man bekanntlich in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle eine Reinkultur von Pneumokokken. Von dieser Kultur wurde dann eine Bouillonkultur angelegt, deren genaueste Zusammensetzung am Schluss der Arbeit mitgeteilt werden wird, indem möglichst die ganze Serumkultur überimpft wurde. Auf diese Weise erhält man eine Kultur, die nicht nur von einzelnen etwa geschwächten Individuen ausgegangen ist, sondern bei der die Gesamtheit der wachstumsfähigen Kokken sich beteiligen muss. Dies ist der Grund, warum ich erst die Schrägserumkultur einschaltete. Es wird dadurch dem Einwand begegnet, dass die gefundene Virulenz durch die direkte Bouillonkultur nicht repräsentiert werden könnte. An sich gelingt es ja beim *Ulcus serpens* meistens leicht, durch sofortiges Abimpfen einer Spur Material gleich eine reine Bouillonkultur zu erhalten. Ausserdem ist in den seltenen Fällen, bei denen eine Zumischung von anderen Keimen eingetreten ist, leicht die Isolierung zu erreichen.

Nach 24stündigem Wachstum der Bouillonkultur erfolgte die Verimpfung nach folgenden Gesichtspunkten:

Für unsere Zwecke erweist sich die weisse Maus bei weitem als das gleichmässig empfänglichste und geeignetste Tier.

An vielen Hunderten von diesen Tieren habe ich zunächst einmal darüber Versuche angestellt, welche Dosen an sich und welche Zwischenräume zwischen denselben für uns genügen würden, um uns einen für wissenschaftliche Zwecke hinreichenden Aufschluss über den Grad der Virulenz zu geben, ohne gleichzeitig die Rücksicht auf praktische Verhältnisse zu verlieren. Natürlich könnte es nur erwünscht sein, wenn etwa von jedem *Ulcus serpens* eine grosse Tierreihe mit allen möglichen Abstufungen der Kulturdosis angesetzt würde. Es liegt aber auf der Hand, dass dies in den meisten Augenkliniken undurchführbar ist. Meine Versuche an den Pneumokokkenstämmen aus den *Ulcerata serpentina* ergaben nun, dass man in den meisten Fällen mit einigen weissen Mäusen auskommt.

Wir werden die Virulenz eines Pneumokokkenstammes ein für allemal ausdrücken durch das Verhältnis der Kulturmenge, welche eine weisse Maus bei intraperitonealer Impfung spätestens bis zum Ende des 6. Tages tötet, zum Gewicht des Tieres.

Hätten wir also beispielsweise eine Kultur vor uns, von der erst 1 ccm Bouillonkultur eine Maus von 15 g tötet, so besäße dieselbe eine Virulenz von 1:15, genügt von einer anderen Kultur bereits 0,01 ccm, so würde dieselbe eine Virulenz von 1:1500 besitzen.

Für unsere Zwecke bin ich anfangs nun bei zahlreichen Versuchen von folgender Dosierung ausgegangen:

Nr. 1	erhielt	0,001	ccm	Kultur
Nr. 2	„	0,01	„	„
Nr. 3	„	0,1	„	„
Nr. 4	„	0,4	„	„

Erst wenn die 1. Maus in den nächsten Tagen deutliche Krankheitserscheinungen aufwies, die Kultur also einen noch höheren Virulenzgrad erwarten liess, war es erforderlich, noch zwei weiteren Tieren und zwar 0,0001 und 0,00001 zu injizieren. Es mussten daher die einzelnen Stämme einige Tage weitergezüchtet werden und zwar durch tägliche Überimpfung in Bouillon. Die einzelnen Kulturdosen werden je in 0,4 ccm physiologischer Kochsalzlösung injiziert. Ich bin mir sehr wohl bewusst, dass der praktische Augenarzt nicht in der Lage sein wird, gerade diese Versuche

auszuführen. Er muss sich wohl meist mit der Beobachtung der Fälle begnügen. Anders liegt aber die Sache in den Universitäts-Augenkliniken. Wollen deren Vertreter in wissenschaftlicher Weise an dem Ausbau der Serumtherapie des *Ulcus serpens* weiter mitarbeiten, so bitte ich dieselben darum, sich an diese Vorschläge zu halten.

Prüft man nun in der eben geschilderten Weise eine grössere Reihe von Pneumokokkenstämmen der verschiedensten Herkunft, so kann sich jeder Nachuntersucher zunächst von der einen fundamentalen Tatsache überzeugen, dass in der Virulenz derselben die mannigfachsten Schwankungen vorkommen und dass wir mittelst dieses Verfahrens mit hinreichender Sicherheit die Virulenzgrade jederzeit messen können.

Wie ungeheuerlich gerade diese Differenzen in der Virulenz der Pneumokokken sein können, vermögen wir daraus z. B. zu ersehen, dass ein Stamm aus einem *Ulcus serpens* eben noch in einer Dosis von 0,1 ccm eine Maus tötet, während von einer meiner Passagekulturen, die von einer croupösen Pneumonie her stammt, hierzu bereits die Dosis: 0,0000000000001 ccm derselben Bouillonkultur hinreicht.

Eine weitere Tatsache ist die, dass fast ausnahmslos die aus croupösen Pneumonien gewonnenen Pneumokokkenstämme auch ohne Tierpassage eine höhere Virulenz besitzen als die aus *Ulceria serpentina* gezüchteten Pneumokokkenstämme.

Am meisten muss uns Ophthalmologen aber die Frage interessieren, ob die verschiedenen Stämme aus den *Ulceria serpentina* so deutlich erkennbare Schwankungen der Virulenz aufweisen, dass dieselben mit unserer Methode erkennbar sind.

Gerade die Messbarkeit dieser Schwankungen in der Virulenz der Pneumokokken beim *Ulcus serpens* mit Hilfe dieser bescheidenen Versuchsanordnung halte ich für eines der wichtigsten Resultate meiner Untersuchungen.

Zum Beweise teile ich zunächst einige Versuchsprotokolle über den Verlauf der Virulenzprüfung der Pneumokokken bei einigen *Ulceria serpentina* mit; ich bemerke, dass sämtliche Versuche mit ein und derselben Bouillon in vollkommen gleichmässiger Weise ausgeführt wurden.

Stamm Seufert.

Virulenz 1 : 40.

Kultur	Maus	Resultat
0,4 ccm	I. 16 gr	+
0,1 "	II. 15 "	lebt
0,01 "	III. 15 "	lebt
0,001 "	IV. 15 "	lebt

Stamm Wolf.

Virulenz 1 : 140.

Kultur	Maus	Resultat
0,4	I. 12 gr	+
0,1	II. 14 "	+
0,01	III. 15 "	lebt
0,001	IV. 12 "	lebt

Stamm Müller.

Virulenz 1 : 150.

Kultur	Maus	Resultat
0,4	I. 14 gr	+
0,1	II. 15 "	+
0,01	III. 12 "	lebt
0,001	IV. 12 "	lebt

Stamm Rabenstein.

Virulenz 1 : 1200.

Kultur	Maus	Resultat
0,4	I. 12 gr	+
0,1	II. 14 "	+
0,01	III. 12 "	+
0,001	IV. 12 "	lebt

Stamm Drechsler.

Virulenz 1 : 30000.

Kultur	Maus	Resultat
0,01	I. 12 gr	+
0,001	II. 12 „	+
0,0005	III. 15 „	+
0,0001	IV. 14 „	lebt

Stamm Wester.

Virulenz 1 : 150000.

Kultur	Maus	Resultat
0,4	I. 12 gr	+
0,1	II. 12 „	+
0,05	III. 15 „	+
0,01	IV. 14 „	+
0,001	V. 12 „	+
0,0001	VI. 15 „	+
0,00001	VII. 14 „	lebt
0,000001	VIII. 12 „	lebt

Je mehr ich solcher Versuche anstellte und je mehr Ulzera ich in dieser Weise kontrollierte, um so eindeutiger stellte es sich heraus, dass wir ein Tier, das wir mit unverdünnter Kultur infizieren, nicht einzustellen brauchen.

Denn von 0,4 ccm einer frisch vom *Ulcus serpens* gezüchteten Kultur stirbt jede Maus, sobald es sich überhaupt um tierpathogene Stämme handelt.

Inzwischen führten die Versuche in den Höchster Farbwerken unter der Leitung von Professor Ruppel, welcher die Herstellung des neuen Pneumokokkenserums übernommen hatte, zu der von mir von jeher angestrebten Prüfbarkeit des Serums im Tierversuch.

Bei dieser Prüfungsbestimmung, auf welche ich noch zu sprechen komme, wird die Kultur den Tieren nicht in 0,4 ccm Kochsalzlösung, sondern in 1 ccm injiziert. Um dieses Prüfungsverfahren mit der Virulenzbestimmung der Pneumokokkenstämme beim *Ulcus serpens* in Übereinstimmung zu bringen, injiziere ich seit der Zeit ebenfalls 1 ccm der Kulturverdünnung intraperitoneal. An sich ist

diese kleine Änderung ja irrelevant, sie geschieht nur der Einheitlichkeit halber.

Ich schlage also vor, dass wir einheitlich folgende Serie ansetzen:

Nr. 1.	1 ccm einer Bouillonkulturverdünnung von 1:10
„ 2.	1 „ „ „ „ 1:100
„ 3.	1 „ „ „ „ 1:1 000
„ 4.	1 „ „ „ „ 1:10 000
„ 5.	1 „ „ „ „ 1:100 000
„ 6.	1 „ „ „ „ 1:1 000 000

Erst wenn sich zeigt, dass die Virulenz eine so enorme ist, dass alle Tiere erkranken und schnell eingehen, schicken wir noch einige ergänzende Versuche mit stärkeren Kulturverdünnungen nach.

Es wird am besten sein, wenn ich einige auch von diesen Versuchsprotokollen an dieser Stelle mitteile:

Virulenzbestimmung vom Stamm Well (Greifswald).
Virulenz 1:15 000 000.

Kultur	Maus	Resultat
0,1	12 gr	+ 24 Std.
0,01	11 „	+ 36 „
0,001	13 „	+ 46 „
0,000 1	12 „	+ 46 „
0,000 01	11 „	+ 84 „
0,000 001	13 „	+ 4 Tg.
0,000 000 1	12 „	lebt
0,000 000 01	12 „	lebt

Virulenzbestimmung vom Stamm Kunkel (Greifswald).
Virulenz 1:150 000 000.

Kultur 1 ccm von Ver- dünnung	Maus	Resultat
1:10	12 gr	+ 24 Std.
1:100	12 „	+ 36 „
1:1 000	10 „	+ 42 „
1:10 000	12 „	+ 48 „
1:100 000	16 „	+ 36 „
1:1 000 000	14 „	+ 36 „
1:10 000 000	15 „	+ 3 Tg.
1:100 000 000	12 „	lebt

Virulenzbestimmung vom Stamm Heller (Greifswald).

Virulenz 1 : 140 000 000.

Kultur 0,1 ccm von Ver- dünnung:	Maus	Resultat
1 : 10	12 gr	+ 24 Std.
1 : 100	10,8 "	+ 24 "
1 : 1 000	12 "	+ 24 "
1 : 10 000	11 "	+ 24 "
1 : 100 000	11 "	+ 3 Tg.
1 : 1 000 000	13 "	+ 3—4 "
1 : 10 000 000	14 "	+ 5 "
1 : 100 000 000	14 "	lebt

Ich habe absichtlich diese Beobachtungen aus allen unseren Versuchen gewählt, weil sie die höchsten Werte von Virulenz repräsentieren, die ich bei *Ulceria serpentina* bisher angetroffen habe.

Wenn wir sehen, dass beim *Ulcus serpens* auf der einen Seite Pneumokokkenstämme stehen mit einer fast fehlenden oder einer geringen Virulenz von 1:40, auf der anderen Seite solche Stämme mit einer Virulenz von 1:150 000 000, so wird jeder Kliniker zugeben, dass derartige Unterschiede für die ganze Auffassung der Hornhautinfektionen nicht ohne Bedeutung sein können.

Bevor wir auf diese Bedeutung näher eingehen, müssen nur zwei Dinge noch hervorgehoben werden.

Jeder bakteriologisch ausgebildete Kliniker weiss, dass derartige Versuchsreihen nicht immer so gleichmässig und glatt verlaufen wie bei den bisher mitgeteilten Fällen. Denn wir haben es dabei wieder mit Tieren zu tun, unter denen die Einzelindividuen keineswegs eine gleichmässige Disposition zur Pneumokokkeninfektion besitzen.

Schon die verschiedenen Gewichtsverhältnisse der Mäuse, ihre Pflege und ihre Ernährung sind hier von Einfluss. Es kommt daher vor, dass ein solcher Versuch einmal wiederholt werden muss, ehe er uns Klarheit über die Virulenz bringt.

Es kommt auch vor, dass die Reihen keineswegs gleichmässig verlaufen, dass zuweilen aus nicht zu eruierenden Gründen einmal eine Maus stirbt, während die mit grösserer Dosis infizierte am Leben bleibt.

Soweit es sich um Verletzungen bei der intraperitonealen Infektion dieser zarten Tiere handelt, lernt der Geübte derartige Störungen vermeiden. Aber auch ohne solche Läsionen verlaufen die Reihen nicht immer gleichmässig. Wir werden dieser Erscheinung in einem anderen Kapitel noch einmal begegnen.

Trotz dieser Mängel, die eine Wiederholung des Versuches erfordern, bleibt aber eine Tatsache bestehen, die aus diesen Versuchen hervorgegangen ist: der grosse Unterschied in der Virulenzbreite der Pneumokokkenstämme kann jetzt zahlenmässig mit an nähernder Sicherheit gemessen werden.

Es bleibt nur noch ein Bedenken zu besprechen, das Jedem sofort begegnen wird, der solche Versuche nachmacht. Man könnte geneigt sein, diese enormen Virulenzunterschiede allein auf Wachstumsdifferenzen der einzelnen Stämme zu beziehen.

Dies Bedenken trifft aber nicht zu. Gewiss äussert sich die pathogene Kraft eines Pneumokokkenstammes auch dadurch mit, dass er über ein kräftiges Wachstum verfügt. Dies allein erklärt aber nicht diese enormen Virulenzunterschiede. Ich habe bei 20 Stämmen zahlenmässig das Wachstum in unserer Bouillon kontrolliert, in genauen Verdünnungen die gefärbten Exemplare gezählt, es ergaben sich wohl einige Differenzen, dieselben reichen aber zur Erklärung der Pathogenität nicht aus.

Sondern wir müssen uns vorstellen, dass bei den wenig virulenten Stämmen vielleicht erst unter Tausenden von Einzelindividuen solche sind, denen ein Weiterwachstum im Körper gelingt, während sich solche Exemplare bei einem pathogenen Stamm schon unter wenigen Keimen finden. Von dieser Tatsache, dass in der Virulenz der Pneumokokkenstämme beim *Ulcus serpens* viel erheblichere Schwankungen vorkommen, als wir uns wohl bisher vorgestellt haben, und dass diese Schwankungen jetzt jederzeit messbar geworden sind, werden sich die Fachgenossen mit Leichtigkeit überzeugen können. Erkennen wir aber diese Tatsachen an, dann ergibt sich meines Erachtens sofort ein neuer Ausblick für die Erforschung der Pathologie und spezifischen Therapie des *Ulcus serpens*. Können wir auch noch nicht die jeweilige Disposition des menschlichen Auges und Organismus beim Vorhandensein eines *Ulcus serpens* direkt bestimmen, so können wir dafür um so mehr versuchen, die Virulenz der Pneumokokkenstämme als Indikator für eine ganze Reihe von Fragen zu benutzen.

3. Beziehungen zwischen Tiervirulenz der Pneumokokken und dem klinischen Bild des Ulcus serpens, die Frage der Spontanheilung und definitiver Beweis für eine Heilwirkung des Pneumokokkenserums bei dieser Infektionskrankheit.

Die nächste sich hier aufdrängende Frage ist naturgemäss die folgende:

Welche Beziehungen bestehen zwischen dem klinischen Bild des Ulcus serpens und der eben geschilderten Tiervirulenz der Pneumokokkenstämme?

Ich sagte mir: Wenn die Aggressivität der Pneumokokken der Ausdruck für ihre Wachstumsfähigkeit im lebenden Organismus ist, so müssen in der Mehrzahl der Fälle von malignen Ulcera auch virulentere Stämme zu finden sein. Denn nicht immer kann es der Zufall fügen, dass ein Pneumokokkenstamm mit einer relativ geringen Virulenz gerade immer in einem Organismus von geringer Widerstandsfähigkeit Fuss fasst.

Die Erwartung ist eingetroffen.

Die Prüfung dieser Verhältnisse liefert gleichzeitig die Vorarbeit für die definitive Entscheidung der Frage, ob dem Pneumokokkenserum in der Behandlung der Ulcera serpentina eine gewisse Heilwirkung zuerkannt werden kann oder nicht.

Zu diesem Zweck müssen wir zunächst versuchen, den Faktor der Spontanheilung des Ulcus serpens in dem Exempel der Serumtherapie des Ulcus zu berechnen.

Dass dies jetzt erst durch systematische Virulenzbestimmungen möglich geworden ist, bedarf keines Beweises.

Wohl aber ist es erforderlich, dass wir zunächst den Begriff der Spontanheilung des Ulcus serpens in der richtigen Weise analysieren.

Bisher liegen die Verhältnisse doch so, dass in den Anstalten sofort nach dem Eintreffen der Geschwüre eine Therapie, sei es eine operative, sei es eine antiseptische, Platz greift.

Dadurch ist uns aber die Möglichkeit genommen, zu entscheiden, wie viel Pneumokokkeninfektionen der Hornhaut spontan ohne jede Therapie und in welchen Stadien und innerhalb welcher Zeit ausheilen können.

Dass aber eine ganze Reihe von Pneumokokkeninfektionen der Kornea von selbst zum Stillstand kommt und kommen muss,

unterliegt keinem Zweifel. Ja schliesslich heilt jedes *Ulcus serpens* einmal spontan aus, wenn auch in einem erheblichen Prozentsatz der Fälle erst nach gründlicher Zerstörung der Kornea.

Daraus ergibt sich zunächst, dass der Faktor der Spontanheilung des *Ulcus serpens* für uns ein klinischer Begriff ist, über dessen Umgrenzung wir uns einigen müssen.

Zunächst ist hier die Frage zu erörtern: Ist es gerechtfertigt, dass der Kliniker in geeigneten Fällen die Spontanheilung eines *Ulcus serpens* abwarten kann oder haben die klinischen Erfahrungen ergeben, dass unter allen Umständen eine abwartende Haltung unzulässig ist?

Ich kenne die Stellungnahme der einzelnen Kliniker zur Frage der Spontanheilung der *Ulcerata serpentina* nicht, — dieselbe dürfte wohl keine einheitliche sein — und trete ganz energisch dafür ein, dass im Interesse unserer Kranken nicht das Geringste versäumt wird.

Aber es fragt sich doch, ob in den Fällen, bei denen eine Spontanheilung abgewartet werden kann, die Narben nicht viel durchscheinender werden, als wenn wir mit dem Thermokauter vorher erholungsfähiges Gewebe noch zerstört haben.

Ich kann mir also sehr wohl vorstellen, dass wir durch eine objektive Beantwortung der Frage der Spontanheilung einer Anzahl von Kranken direkt durchaus nützen können.

Ich bin zunächst aus diesem Grunde auf die Seite derjenigen getreten, welche die Spontanheilung des *Ulcus serpens* fortdauernd untersuchen werden.

Aber auch bei diesen Fällen, bei welchen wir die Verantwortung übernehmen können, die Spontanheilung, wenn auch vielleicht nur eine Zeitlang, abzuwarten, können wir nicht ganz ohne therapeutische Agentien bleiben.

Wir müssen uns daher in zweiter Linie darüber einigen, welche Massnahmen wir noch bei der Frage der Spontanheilung gelten lassen dürfen, ohne diesen Faktor in unserer Berechnung in störender Weise zu modifizieren.

Es muss meines Erachtens auch in Fällen der Spontanheilung der aseptische Verband, Atropin und die Exstirpation des Tränensackes gestattet sein, weil wir diese Massnahmen in Rücksicht auf den Kranken nicht entbehren können.

Wir können diese Massnahmen um so mehr gelten lassen, als dieser Faktor in unserem Exempel ja immer derselbe ist.

Bei der Frage nach dem Wert der Serumtherapie im Vergleich zu den Ergebnissen der Spontanheilung handelt es sich nur darum, ob die Zufuhr des Spezifikums in den Organismus von einem erkennbaren Nutzen gefolgt ist.

Vor allem aber haben wir uns klar zu machen, was wir alles zu notieren haben werden, wenn wir untersuchen wollen, inwieweit die Ausbreitung eines Infektionsherdes in der Kornea durch Zufuhr spezifischer Schutzstoffe in den Organismus eingeschränkt und aufgehalten wird im Vergleich zu den Fällen, in denen der Körper sich selbst überlassen wird.

Es ist klar, dass die Frage nach den Beziehungen zwischen Tiervirulenz der Pneumokokken und dem klinischen Bild des *Ulcus serpens* am sichersten nur bei therapeutisch nicht beeinflussten Ulzera zu erbringen sein wird, und dass die definitive Entscheidung hierüber erst durch die statistische Kontrolle der Spontanheilung des *Ulcus serpens* an der Hand der Virulenzprüfung der Pneumokokkenstämme gefällt werden kann.

Wie haben wir diese Statistik zu führen?

Bei jedem *Ulcus serpens* können wir eine negative und eine positive Phase unterscheiden, wobei wir unter negativer Phase denjenigen Zeitabschnitt in Verbindung mit der jeweiligen Grösse des *Ulcus serpens* bezeichnen, in welchem das *Ulcus serpens* noch keine Anstalten zur Heilung macht, sondern noch weiter schreitet. Schliesslich kommt auch für jedes Geschwür die positive Phase, der Zeitpunkt, wo die Heilung einsetzt.

Aber — und das halte ich für sehr wesentlich zu betonen — wir können nicht bei allen Ulzera abwarten, bis das Geschwür schliesslich von selbst ausheilt, sondern müssen uns darüber einigen, was wir klinisch in unserem Falle als Spontanheilung anzuerkennen haben.

Hier kann einzig und allein die Erscheinung massgebend sein, ob das Geschwür vom Moment der klinischen Aufnahme weiter schreitet, stehen bleibt oder sich reinigt.

Den Grenzpunkt zwischen negativer und positiver Phase bei der Spontanheilung müssen wir also willkürlich auf die ersten Tage der klinischen Beobachtung festsetzen.

Der Eintritt in das regressive Stadium bei einem *Ulcus serpens* kann mit dem jeweiligen Aufnahmestage zusammenfallen, braucht es aber nicht, und wo dies nicht der Fall ist, wo wir sehen, dass auch nach der ersten klinischen Beobachtung ein Weiterschreiten des Prozesses stattfindet, da können wir nicht von Spontanheilung in unserem Sinne sprechen.

Denn es ist ja gerade die Aufgabe der Serumtherapie, die Spontanheilung, die sonst später eintreten muss, früher zu erreichen. Wenn wir uns hierüber geeinigt haben, so ist es nunmehr leicht, die Aufgabe, welche in der klinischen Beurteilung des Faktors der Spontanheilung zu lösen ist, zu definieren.

Es ist zu entscheiden: In einem wie grossen Prozentsatz der Fälle können wir beim *Ulcus serpens* damit rechnen, dass die Geschwüre vom Moment ihrer klinischen Aufnahme von selbst ohne therapeutisches Zutun abheilen? In welchen Stadien tritt dieser spontane Stillstand der Infektion ein und bei welchen Virulenzgraden der Pneumokokkenstämme?

Über die Breite dieser Spontanheilung beim *Ulcus serpens* sind wir noch völlig im unklaren und es ist ganz selbstverständlich, dass hierüber das Material eines einzelnen nicht hinreichend Auskunft geben kann. Denn wir sind wieder in Rücksicht auf das Wohl der Kranken genötigt, die Fälle, bei denen wir die Beobachtung der Spontanheilung verantworten können, auszusuchen.

Erst wenn diese Fragen an einem umfangreichen Material beantwortet sind, werden sich die Chancen und Leistungen der Serumtherapie nunmehr in einer mathematischen Weise und zwar so genau bestimmen lassen, wie dies noch bei keiner Serumtherapie erreicht worden ist, nicht einmal von der Serumtherapie der Diphtherie. Injizieren wir einem Diphtheriekranken antitoxisches Serum, so wissen wir nicht, ob der Kranke nicht die Infektion schliesslich auch spontan überwunden haben würde. Nur der Rückgang der Mortalität gibt hier noch den zuverlässigsten Indikator ab. Beim *Ulcus serpens* dagegen können wir Millimeter für Millimeter den Fortschritt der Infektion messen.

Beim Diphtheriekind können wir wohl ebenfalls die Kultur gewinnen, aber wir würden finden, dass die Diphtheriestämme alle dasselbe Gift bilden, dessen Produktion in Kulturen wieder von mannigfachen Faktoren abhängig ist.

Mit einem Wort: Bei der Diphtherie würden wir nur sehr schwer, wenn überhaupt einen Massstab finden, einer wie schweren Infektion der Organismus ausgesetzt war.

Beim *Ulcus serpens* dagegen können wir jetzt in jedem Falle die Virulenz des betreffenden Infektionserregers bestimmen, dieselbe mit dem spontanen Verlaufe der Krankheit einerseits, mit dem Einfluss der Serumtherapie andererseits vergleichen.

Auf diese Weise müssen wir erfahren:

1. In einem wie grossen Prozentsatz der Fälle kommt eine Spontanheilung in unserem Sinne vor und

2. in einem wie grossen Prozentsatz, bis zu welcher Grösse des *Ulcus* und bis zu welchen Virulenzgraden können wir auf die Wirkung der Serumtherapie rechnen?

Ich selbst kann nur wieder zu diesen Fragen den ersten Beitrag liefern und berichte zunächst über die Fälle, welche bis dahin zur Prüfung der Spontanheilung dienen sollten:

Beitrag zur Frage der Spontanheilung von Pneumokokkeninfektionen der menschlichen Kornea.

Spankuch, Michael, 20 J., Steinhauer aus Winterhausen.

Verletzung am 15. IV. 07 links. Nach 2 Tagen Entzündung, keine stärkeren Schmerzen.

18. IV. Klinische Aufnahme. Ziliarinjektion, parazentral nach aussen kleines Infiltrat von Kleinstecknadelkopfgrösse. Reinkultur von Pneumokokken.

19. IV. Infiltrat nicht grösser geworden, zeigt keine Neigung zur Progression.

20. IV. Noch immer Pneumokokken, aber keine Spur von Progression.

22. IV. Entlassung nach schneller spontaner Abheilung des Infiltrates. Visus $\frac{6}{12}$.

Virulenz des Stammes: 0.

Frau Reichert, Barbara, 72 J., aus Würzburg.

Verletzung durch Glassplitter vor 7 Tagen. Vom 2. Tage ab Schmerzen. Kommt in die Poliklinik mit einem Infiltrat unten aussen, verweigert die klinische Aufnahme, erscheint erst am 2. VI. 07 zur Aufnahme.

Aufnahmebefund: R.: Ulcus serpens 4:5 mm gross, Progressionswall hat gerade die Pupille erreicht, stark progredient aussehend, sofort Kauterisation, die am 2. Tage der klinischen Aufnahme noch einmal erneuert werden muss. Von da ab langsame Heilung.

Virulenz 1:40.

Henneberger, Georg, 74 J., Bauer aus Unterressfeld.

Seit 9 Tagen Schmerzen am linken Auge nach einer leichten Verletzung, bisher nur mit Verband draussen behandelt.

3. V. 07. Kommt mit vollkommen vereiterter Kornea und beginnender Panophthalmie in die Klinik. Sofortige Exenteration.

Virulenz 1:130.

Mohr, Wilhelm, 23 J., Bauer aus Köhlsheim.

Verletzung vor 6 Tagen, Schmerzen seit 4 Tagen.

26. VI. 07. Aufnahme. Parazentral nach unten und aussen dicht neben dem Pupillarrand ein punktförmiges Infiltrat mit soeben exulzerierter Oberfläche. Irishyperämie, aber kein Hypopyon. Reinkultur von Pneumokokken.

28. VI. Keine Spur Neigung zur Progression.

1. VII. Entlassung mit kleiner Trübung und reizlosem Auge.

Virulenz 0.

So klein diese Beobachtungsreihe über die Spontanheilung des Ulcus serpens auch ist, so lehrreich ist dieselbe bereits. Dieselbe zeigt, dass in den beiden Fällen, wo es nur zu einem Infiltrat gekommen war, welches schnell wieder abheilte, entsprechend ihrer Gutartigkeit auch keine Tiervirulenz der Pneumokokken nachweisbar war.

Die Beobachtung zeigt weiter, dass bei einer Virulenz von 1:40 in 5—6 Tagen schon ein recht ernstes Ulcus serpens zustande gekommen war, das nicht spontan stillstand und eine zweimalige Kauterisation erforderte.

Die Beobachtung zeigt weiter, dass bei einer Virulenz von 1:130 in 9 Tagen bereits eine vollkommene Vereiterung der Hornhaut zustande kommen konnte.

Und nun wollen wir uns die folgende Reihe von Ulcera serpentina ansehen, bei der die Serumtherapie unter gleichzeitiger Kontrolle der Virulenz der Stämme durchgeführt wurde:

Serumtherapie und Virulenzkontrolle.

Seufert, Wilh.,

Verletzung vor 3 Tagen.

R.: Ulcus serpens parazentral nach aussen von der Pupille, 3:4 mm gross, oberflächlich, kein Hypopyon, Progressionswall nach innen zu. — Subkutan 20 ccm Serum.

1. Tag: Deutlich stärkere Infiltration des Randes, besonders ein Infiltrat am inneren Rande breiter aussehend. Trotzdem gute Prognose zu stellen.

3. Tag: Rand des Ulcus innen heute viel dünner, nur das Infiltrat noch vorhanden. Kein Hypopyon.

Glatte Heilung weiter.

Virulenz der Kultur: 1:40.

Seufert, Ottilie, 52 J., Zimmermannswitwe aus Stralsbäch.

Verletzung vor 2 Tagen.

24. VII. 06. Fast zentral Ulcus serpens, 3—4 mm gross, Grund belegt, Rand aussen unten progredient, Hypopyon strichförmig. — Subkutan 10 ccm Serum.

25. VII. Lokale Reaktion, Rand aussen unten etwas dichter.

26. VII. Rand auffallend abgeschmolzen, bis auf zwei punktförmige Herde. Kein Hypopyon mehr.

28. VII. Die beiden Infiltrate ebenfalls resorbiert.

3. VIII. Entlassung, spiegelnde Fazette, Visus 6/30 — 20.

Virulenz der Kultur: 1:50.

Gräf, Philipp, Maurer aus Würzburg.

22. IX. 06. Kommt in die Poliklinik mit einem zentralen Ulcus serpens von 2—3 mm Durchmesser, das ganze Geschwür eitrig belegt, schmales Hypopyon, verweigert die klinische Aufnahme.

24. IX. Kommt erst heute wieder und entschliesst sich zur Aufnahme. Ulcus sehr viel schlechter geworden, 4:5 mm Durchmesser. Hypopyon gestiegen, 2—3 mm hoch. — Subkutan 20 ccm Serum. Abends deutliche Lokalreaktion, stärkere Infiltration des Randes.

25. IX. Ulcus nicht weiter geschritten, deutlich besser aussehend, Hypopyon geringer; nachmittags: Ulcus sieht sauber aus, weitere Besserung.

26. IX. Kaum noch Hypopyon, Ulcus in deutlicher Reinigung.

28. IX. Entlassung in poliklinischer Behandlung. Ulcus vollkommen gereinigt. Visus: $\frac{6}{60}$.

Virulenz der Kultur: 1:50.

Bauer, Elisabeth.

Verletzung vor 4 Tagen.

19. 2. 06. Zentral: Ulcus serpens 2:4 mm gross, Rand innen progredient, Hypopyon 1 mm. Subkutan 20 ccm Serum.

19. II. Befund derselbe, vielleicht lokale Reaktion, jedenfalls keine Progression.

21. II. Auffallende Besserung, Rand vollkommen sauber, Grund durchscheinend, Hypopyon resorbiert.

Von da ab glatte Heilung, 27. II. Entlassung mit spiegelnder Delle.

Virulenz der Kultur: 1:50.

Rauch, Michael, 50 J., Steinbrecher aus Eibelstadt.

Verletzung vor 2 Tagen.

15. II. 07. R.: Im Zentrum der Kornea ein frisches Ulcus serpens, 3:4 mm gross, Umgebung der Kornea stark getrübt, Rand dicht gelb eitrig, Spur Hypopyon. — Subkutan 20 ccm Serum.

16. II. Kein Weiterschreiten, Grund und Rand noch sehr stark infiltriert, Lokalreaktion. Gestern Abend war das Hypopyon gestiegen nach der Injektion.

17. II. Rand oben viel lichter und zarter, unten noch infiltriert.

18. II. Deutliche Reinigung des Geschwüres, Hypopyon nur noch Spur.

19. II. Hypopyon geschwunden, Prozess vollkommen überwunden. Glatte Heilung weiter. Entlassen nach Exstirpation des Thränensackes.

Virulenz der Kultur: 1:50.

Hummel, Babette, 75 J., Zimmermannswitwe aus Kitzingen.

Verletzung unbekannt, Schmerzen seit 4 Tagen.

18. XI. 06. R.: Im inneren unteren Quadranten ein linsengrosses Ulcus serpens mit stark infiltriertem Rand, Progression nach der Pupille zu, Hypopyon 3 mm.

Subkutan 20 ccm Serum.

19. XI. Deutliche lokale Reaktion, Rand stärker infiltriert.

10. XI. Auffallende Besserung, Rand oben fast ganz abgeschmolzen, Grund des Ulcus sauber.

Weitere glatte Heilung. 30. XI. Entlassung, Visus 6/60.

Virulenz der Kultur: 1:120.

Wolf, Johann, 54 J., Maurer aus Versbach.

Verletzung vor drei Tagen.

4. VIII. 06. L.: Fast zentral Ulcus serpens 2:3 mm gross, dicht infiltrierter Rand und Grund, Hypopyon 1/2 mm hoch. Subkutan 10 ccm Serum.

5. VIII. Stärkere lokale Reaktion, Grund und Rand rings herum aufgeworfen aussehend. Hypopyon dasselbe.

6. VIII. Ulcus wie abgeschmolzen, Hypopyon verschwunden. Von da ab glatte Füllung des Substanzverlustes. Entlassung am 17. VIII. Visus 6/30.

Virulenz der Kultur: 1:140.

Müller, Leo, 54 J., Pflasterer aus Nördlingen.

10. IV. 07. L.: Seit 2 Tagen Schmerzen nach Verletzung. Zentral Ulcus serpens 2:3 mm, Rand rings herum infiltriert. Spur Hypopyon. — Subkutan 20 ccm Serum.

11. IV. Früh deutliche lokale Reaktion, Rand und Grund des Geschwüres stärker infiltriert, Hypopyon nicht mehr sichtbar. Auch nachmittags ist die stärkere leukozytäre Reaktion sichtbar vorhanden.

12. IV. Früh: Untere Hälfte des Ulcus beginnt sich auffallend zu reinigen, noch Spur Hypopyon. Man kann mit der Nadel die ganze nekrotische Masse abheben, dieselbe haftet nur noch am oberen Rande des Geschwüres. Die Untersuchung ergibt gegenüber dem Aufnahmebefund eine unverkennbare Abnahme der Pneumokokken, Heilung mit Sicherheit vorausgesagt.

13. IV. Ulcus heute vollkommen gereinigt, spiegelt. Hypopyon verschwunden.

14. IV. Heute am oberen Rand des Ulcus noch ein kleinstes Infiltrat. Nochmals 30 ccm Serum der Sicherheit halber.

15. IV. Von jetzt an glatte Heilung.

20. IV. Entlassung. Visus

Virulenz der Kultur: 1:150.

Wagner, Maria, 36 J., Bauernfrau aus Uffenhofen.

6. XII. 06 Aufnahme. Verletzung vor 6 Tagen. L.: Ulcus serpens parazentral nach oben, 4:5 mm gross, progredienter Rand nach unten. Oberflächliche Form, kein Hypopyon.

Subkutan 20 ccm Serum.

7. XII. Deutliche Verstärkung der Infiltration am Rand. Kein Hypopyon.

8. XII. Noch unentschieden, kein Hypopyon, Rand an einzelnen Stellen etwas dünner.

10. XII. Heute in deutlicher [Reinigung, Ulcus in ganzer Ausdehnung sauber, Rand viel dünner.

11. XII. Weitere Heilung, Rand heute ganz fortgeschmolzen.

13. XII. Ideal klare Kornea an Stelle des Ulcus.

15. XII. Entropiumoperation.

23. XII. Entlassung nach vollkommener Heilung.

Virulenz der Kultur: 1:200.

Trabold, Johann Joseph, 59 J., Bauer aus Reicholdsheim.

Verletzung vor 4 Tagen.

23. II. 07. Aufnahme abends 8 Uhr. L.: Peripher Ulcus serpens 4:5 mm gross, progredienter Rand nach innen, Hypopyon 2 mm. — Subkutan 20 ccm Serum.

24. II. Deutliche lokale Reaktion, die abends noch stärker wird.

25. II. Unverkennbare Besserung, Rand vollkommen abgeschmolzen.

26. II. Ulcus gereinigt.

6. III. Entlassung, Visus 4/60.

Virulenz der Kultur: 1:200.

Bohm, Margarete, 65 J., Bauerswitwe aus Hettstadt.

Verletzung vor 3 Tagen.

1. VIII. 06. Aufnahme: Zentral 2:3 mm grosses Ulcus serpens, progredienter Rand nach unten innen, 1 mm Hypopyon. — Subkutan 20 ccm Serum.

5. VIII. Deutliche starke lokale Reaktion, Progressionsrand wallartig aufgeworfen, stark infiltriert, Chemosis der Konjunktiva, Hypopyon etwas zugenommen.

6. VIII. Infiltrierter Rand ganz auffallend weggeschmolzen, kaum noch Spur Hypopyon. Keine Pneumokokken mehr.

11. VIII. Entlassung mit spiegelnder Fazette. Visus: Finger 5 mm später mehr.

Virulenz der Kultur: 1:200.

Rabenstein, Johann, 61 J., Steinhauer aus Uffenheim.

Verletzung vor 4 Tagen.

28. XI. 06. L.: Parazentral nach unten neben alter Makula ein frisches Ulcus serpens 2:4 mm gross, Progressionsrand nach unten, stark infiltriert, Hypopyon 2 mm.

Subkutan 20 ccm Serum.

Abends deutliche stärkere lokale Reaktion.

29. XI. Hypopyon fast ganz verschwunden, Rand auffallend lichter.

30. XI. Infiltration des Randes unten nur noch ganz gering.

3. XII. Ulcus vollkommen gereinigt.

15. XII. Nach Tränensackexstirpation entlassen.

Virulenz der Kultur: 1:1200.

Meyer, Adam, 45 J., Glaspacker.

Verletzung wahrscheinlich vor 10 Tagen.

Schmerzen seit 6—7 Tagen.

20. VI. 07: R.: Zentral Ulcus serpens, 5:6 mm gross, schwerere Form, ausserordentlich dicht infiltrierter Rand ringsherum, Hypopyon 4 mm. — Subkutan 20 ccm Serum.

11. VI. Deutliche Lokalreaktion, Ränder stärker aufgeworfen, Hypopyon dasselbe.

12. VI. Unverkennbare Abschmelzung des oberen Randes.

13. VI. Auch der untere Rand beginnt sich zu reinigen, besteht aber aus sehr tiefen einzelnen Herden. Bisher Eindruck zweifelloser Besserung. Der Sicherheit halber noch 20 ccm Serum.

15. VI. Geschwürsrand überall gereinigt, Hypopyon aber noch immer 4 mm hoch. Punktion der Kammer zur Entfernung des Hypopyons. Weitere Heilung ungestört.

Virulenz der Kultur: 1:1500.

Langmann, Barbara, 79 J., aus Wüstenfelden.

Verletzung vor 5 Tagen.

18. IV. 07. L.: Parazentral 3:4 mm grosses Ulcus serpens, dünner progredienter Rand nach oben. Spur Hypopyon. — Subkutan 20 ccm Serum.

19. IV. Deutliche lokale Reaktion, Rand sowohl wie Grund stärker infiltriert.

20. IV. Typischer Verlauf, Rand oben abgeschmolzen, nur zwei feinste tiefe Pünktchen noch vorhanden, Hypopyon verschwunden.

21. IV. Reinigung vollendet.

Entlassung. Visus 4/60.

Virulenz: 1:1200.

Drechsler, Margarete, 58 J., aus Castel.

Verletzung vor 5 Tagen.

15. VI. 07. R.: Zentral Ulcus serpens, 5:4 mm gross, Grund und Rand dicht infiltriert, enorme Mengen Pneumokokken, Hypopyon 2 mm. Dakryozystitis, — subkutan 20 ccm Serum, Bild eines schweren Ulcus serpens, — subkutan 20 Serum.

16. VI. Exstirpation des Tränensackes. Ulcus dichter rings am Rand infiltriert, Grund ebenso, Kokken auffallend weniger.

17. VI. Ulcus noch von demselben Aussehen, Rand und Grund noch stark belegt, Hypopyon etwas gestiegen, mikroskopisch noch immer Kokken anscheinend im Abnehmen, aber schon einzelne Exemplare mit enormer Kapsel! — Nochmals 20 ccm Serum.

19. VI. Ulcus schreitet jetzt deutlich fort, Kapselkokken im Zunehmen. Sofortige Kauterisation.

Es besteht eine schwere eitrig Konjunktivitis, die Kauterisation musste wiederholt werden. Darauf verschwanden mikroskopisch und kulturell die Pneumokokken. Allein nach einigen Tagen ergibt sich, dass eine Sekundärinfektion mit virulenten Staphylokokken sich angesiedelt hat, die Kornea schmolz seit dem Auftreten derselben unaufhaltsam eitrig ein. Schliesslich Exenteration.

Virulenz der Kultur: 1:30000.

Benkert, Christian, 36 Jahre, Messgehilfe aus Ochsenfurt.

Verletzung nicht bekannt, 8 Tage ausserhalb mit Tropfen behandelt.

10. I. 07 Aufnahme: L.: Zentral Ulcus serpens 4:5 mm gross, oberflächlich, progredienter Rand nach aussen, kein Hypopyon. — Subkutan 20 ccm Serum.

11. I. Lokale Reaktion, schmales Hypopyon, Rand aussen breiter und stärker infiltriert.

12. I. Auffallende Besserung, Rand aussen abgeschmolzen, Hypopyon verschwunden.

13. I. Aussen vollkommen gereinigt, innen noch ein einzelner Herd.

14. I. Gestern nachts wieder Schmerzen, innen und unten neue runde, jetzt auffallend in die Tiefe gehende Herde.

15. I. Drei periphere Herde grösser, Schmerzen, kaum Spur Hypopyon, mikroskopisch und kulturell negativ.

16. I. Ulcus in rapider Ausbreitung, heute werden zum ersten Male grosse Kapselbazillen (Friedländer) gefunden. Sofortige Kauterisation.

In den nächsten 2 Tagen muss wieder kauterisiert werden, da jetzt das Ulcus unaufhaltsam weiterschreitet. Es werden ferner noch 2 Punktionen der Kammer nötig und erst am 15. II. kann der Patient mit grossem Leukom entlassen werden.

Virulenz der Kultur: 1:30000.

Wasser, Gregor, 28 J., Dienstknecht aus Königshofen.

Verletzung vor 4 Tagen.

28. I. 07. R.: Im temporalen unteren Quadranten ein Ulcus serpens 4:5 mm gross, Progressionsrand nach oben und nasal. Hypopyon 2 mm. — 10 ccm Serum.

29. I. Keine Änderung. Nochmals 10 ccm Serum.

30. I. Grund und Rand stärker belegt, Prozess macht einen bösartigen Eindruck, nochmals 20 ccm Serum.

1. II. Ulcus nach oben hin weiter geschritten, Hypopyon 3 mm hoch geworden. — Sofort Kauterisation.

3. II. Nochmalige Kauterisation. Trotzdem schreitet das Ulcus immer weiter.

4. II. Wieder Kauterisation und Punktion der Kammer.

Erst von jetzt ab langsame Heilung. Entlassung am 9. III. mit grossem Leukom.

Virulenz der Kultur: 1:150000.

Fall	Virulenzgrad der P.K.-Kultur	Erfolgte eine Spontanheilung?	Erfolgte die Heilung nach Anwendung von Serum?
Spankuch	○	Ja	—
Mohr	○	Ja	—
Reichert	1:40	Nein	—
Seufert, W.	1:40	—	Ja
Seufert, O.	1:50	—	Ja
Gräf	1:50	—	Ja
Bauer	1:50	—	Ja
Rauch	1:50	—	Ja

Fall	Virulenzgrad der P.-K.- Kultur	Erfolgte eine Spontan- heilung?	Erfolgte die Heilung nach Anwendung von Serum?
Hummel	1 : 120	—	Ja
Henneberger	1 : 130	Nein	—
Wolf	1 : 140	—	Ja
Müller	1 : 150	—	Ja
Wagner	1 : 200	—	Ja
Trabold	1 : 200	—	Ja
Bohm	1 : 200	—	Ja
Rabenstein	1 : 1200	—	Ja
Langmann	1 : 12 000	—	Ja
Mayer	1 : 15 000	—	Ja
Drechsler	1 : 30 000	—	Nein
Benkert	1 : 30 000	—	Nein
Wasser	1 : 150 000	—	Nein

Die Betrachtung dieser neuen Reihe von *Ulcera serpentina* ergibt folgendes:

Zunächst war bei den ungünstig verlaufenden und klinisch bösartigen Geschwüren der Kornea die Tiervirulenz der betreffenden Pneumokokkenstämme eine höhere als bei der ganzen anderen Gruppe von Fällen.

Seitdem ich diesen Zusammenhang zwischen hoher Tiervirulenz der Pneumokokken und Bösartigkeit der *Ulcera serpentina* feststellen konnte, glaube ich bezüglich des *Ulcus serpens* nicht mehr bedingungslos an den Satz, dass wir von der Tierpathogenität keine Rückschlüsse auf den Menschen machen dürfen, sondern bin der Überzeugung, dass wir in der Virulenzprüfung wenigstens ein Kriterium gefunden haben, an dem wir für die Malignität eines *Ulcus serpens* eine experimentelle Kontrolle haben.

Denn wie sollen wir uns sonst die ganze Serie von *Ulcera* erklären können?

Tatsache ist, dass die weisse Maus ein verhältnismässig gleichmässig empfängliches Tier für Pneumokokken darstellt, wie wir es uns kaum besser wünschen können. Es handelt sich um Differenzen von vielen Hunderten von tödlichen Dosen bei den verschiedenen Stämmen.

Ich glaube daher, dass es unzulässig ist anzunehmen, dass bei den Fällen mit ungünstigem Verlauf einzig und allein ein Mangel

an geeigneten Abwehrvorrichtungen im menschlichen Organismus vorgelegen hat.

Diese Annahme wird wenigstens zum Teil dadurch entkräftet, dass selbst nach Zufuhr von Schutzstoffen der bösartige Verlauf nicht gehemmt werden konnte.

Ich bin vielmehr der Überzeugung — und glaube hierin von den Sachverständigen unterstützt zu werden, — dass in solchen Fällen auch der Krankheitserreger von vornherein über eine höhere Pathogenität oder Aggressivität verfügt. Und diese erhöhte Virulenz muss ihren Ausdruck auch im Tierversuch finden.

Und ich möchte daher die Fachgenossen gebeten haben, nun auch ihrerseits Erfahrungen über den Zusammenhang zwischen Tiervirulenz der Pneumokokken und dem klinischen Bild des *Ulcus serpens* zu sammeln.

Denn hier allein kann der Hebel einsetzen für eine Einigung über den Wert der spezifischen Prophylaxe und Therapie des *Ulcus serpens*.

Es braucht nur das Vorkommen von besonders virulenten Stämmen am Auge in den einzelnen Bezirken verschieden zu sein, sofort müssten sich die Prozentzahlen der Erfolge wesentlich verschieben. Wir wissen aber noch gar nichts über diese regionären Verteilungen. Es ist daher auch aus diesem Grunde die Virulenzkontrolle ein notwendiges Postulat, das von den Fachgenossen erfüllt werden muss.

Was diese regionären und zeitlichen Differenzen in der Virulenz der Pneumokokken angeht, so kann ich den Fachgenossen sogleich den ersten Beitrag liefern.

Alle bisher mitgeteilten Fälle von *Ulcus serpens* habe ich noch in Würzburg untersucht und beobachtet. Mein Erstaunen war kein geringes, als ich nach der Übersiedlung nach Greifswald mit genau derselben Versuchsanordnung, unter genau denselben Kulturbedingungen an den ersten hiesigen *Ulceria serpentina* die Virulenz kontrollierte:

Drei hierhergehörige Fälle, deren Kulturen ich bereits erwähnt habe, sind folgende:

Fall: Kunkel, Heinrich, 52 J.

Aufnahme 7 Tage nach der Verletzung, nach 6 tägiger Behandlung durch den Arzt.

R.: Schwerste Form des *Ulcus serpens*, von der Hornhaut steht nur innen noch eine schmale Zone. Hochgradige Chemosis. Eine Kauterisation müsste die ganze Hornhaut verschorfen. Es wird der Versuch mit subkutaner Seruminjektion gemacht. Es ist aber in den nächsten Tagen noch eine Punktion der Vorderkammer und zuletzt die Querspaltung erforderlich. Ausgang in *Applanatio corneae*. Die nähere Beschreibung dieser Fälle erfolgt an anderer Stelle.

Virulenz: 1:150000000.

Fall: Well, Philippine.

Aufnahme 8 Tage nach der Verletzung.

R.: Bild des schwersten *Ulcus serpens* mit starker Chemosis. Die ganze obere Hälfte der Hornhaut bereits zerstört, dichter gelber Infiltrationswall nach unten und am oberen Limbus. Hypopyon 3 mm.

Nach Tränensackexstirpation Versuch mit der Serumtherapie. Injektion von 20 ccm Serum subkutan.

Am nächsten Tage keine weitere Progression, abends aber Spontanperforation und starke Aufquellung der Umgebung. Von da ab Heilung unter Staphylobildung, die eine spätere Aufnahme und Exenteration erforderte.

Virulenz: 1:15000000.

Fall: Heller, Albertine, 64 J.

Aufnahme am 6. Tage nach der Verletzung. L.: die ganze Hornhaut ist eitrig eingeschmolzen bis auf eine minimale Randzone. Es wird von jedem serumtherapeutischen Versuch abgesehen und sofort die Punktion gemacht. Der Prozess ist unaufhaltsam. Nach abermaligem Versuch der Querspaltung erfolgt die Exenteration.

Virulenz: 1:140000000.

In diesen Fällen handelte es sich um klinisch sehr schwere Erkrankungen und es zeigte sich, dass dem klinischen Bild entsprechend die Virulenz der hiesigen Pneumokokkenstämme ein wesentlich höherer war, als ich sie im Würzburger Bezirk getroffen hatte.

Dort habe ich es bis dahin niemals zu sehen bekommen, dass eine Pneumokokkenkultur von einem *Ulcus serpens* noch in einer



Verdünnung von 1:10000000 und noch mehr die Mäuse getötet hätte.

Und es ist mir jetzt klarer, warum unsere serumtherapeutischen Erfolge in Würzburg damals vielfach bessere gewesen sind als in anderen Bezirken: Dort hat es sich nur selten um so schwere Infektionen gehandelt wie beispielsweise hier bei den soeben berichteten Fällen.

Immer dringender schält sich auf diese Weise aus allen diesen Beobachtungen die Forderung heraus:

Wenn wir die Breite der Pneumokokkenserumtherapie des *Ulcus serpens* richtig und gerecht beurteilen wollen, so müssen wir nicht bloss wissen, ob Pneumokokken vorhanden waren, sondern um was für Infektionen es sich bei den einzelnen Fällen gehandelt hat.

Darauf vor allem kommt es an. Es kann ein Kliniker gar leicht den Eindruck bekommen, dass dieses oder jenes Mittel ihm zufriedenstellende therapeutische Resultate beim *Ulcus serpens* gebracht hat. Seine klinischen Beobachtungen können dabei ganz richtig sein.

Aber das eine steht für mich fest: Heilen grössere Reihen von *Ulceris serpentina* leicht ab, so hat er keine schweren Infektionen vor sich gehabt.

Nur wenn wir in allen Fällen die Schwere der Infektion festgestellt haben, wenn wir einen Teil der *Ulceris* sich selbst überlassen, bei anderen den Verlauf vergleichend beurteilen, können wir zur definitiven Entscheidung über den Wert eines Mittels gelangen.

Selbstverständlich ist kaum anzunehmen, dass dieser Zusammenhang zwischen Tiervirulenz und Malignität des *Ulcus serpens* ausnahmslos bestehen wird.

Es ist vielmehr, wie ich erörtert habe, denkbar, dass bei einem marantischen Individuum, bei ungenügender Abwehrfähigkeit des Organismus etc. auch Pneumokokkenstämme von geringer oder selbst fehlender Tiervirulenz schwere und vielleicht einmal schwerste Ulzera machen können.

Und es ist mir sehr lieb, dass ich noch gerade beim Abschluss dieser Arbeit Gelegenheit bekommen habe, über einen derartigen hierhergehörigen Fall berichten zu können:

Wannemacher, Wilhelm, 43 J., Kutscher aus Swinemünde.

Verletzung am 31. XII. 08, Aufnahme am 3. I. 1909.

L.: Parazentral nach innen Ulcus serpens, 2:2 mm gross. Hypopyon 3 mm hoch. — Reinkultur von Pneumokokken. Subkutan 20 ccm Serum und Trockenserum auf das Geschwür. — Tränensackexstirpation. Der Ulcus heilt auch glatt ab, wir hielten den Prozess für glänzend überwunden: Spiegelnde Delle.

Am 10. I. 09, also 7 Tage nach der Aufnahme, von neuem Schmerzen und Rezidiv eines Ulcus serpens, wieder mit Pneumokokken. Es wird wieder Serum gegeben, aber jetzt ist kein Effekt erkennbar. Am 14. I. nimmt vielmehr die Infiltration des Randes zu, er wird kauterisiert. Am 16. I. nochmalige Kauterisation und Punction der vorderen Kammer erforderlich. Von da ab ausserordentlich träge Regeneration. Inneres Pupillengebiet vollkommen frei, auch die ganze obere Hälfte der Hornhaut erhalten. Visus später befriedigend.

Dieser Pneumokokkenstamm Wannemacher wurde nun genau untersucht, sowohl seine erste Abimpfung wie die vom Rezidiv. Alle unsere biologischen und kulturellen Merkmale sprachen für einen Pneumokokkus. Aber dieser Stamm tötete auch in einer Menge von 0,4 ccm noch keine Maus. In Rücksicht auf die fehlende Tiervirulenz lag der Gedanke an einen Streptokokkus ja sehr nahe. Wir mussten denselben aber für einen Pneumokokkus halten. Die Grenzen zwischen beiden Formen, den Streptokokken und Pneumokokken sind keine sehr scharfen.

Wir müssen daher wohl die Tatsache anerkennen, dass es gelegentlich Pneumokokken-Stämme geben wird, welche nicht tierpathogen sind und doch einmal beim Menschen ernste Hornhautinfektionen herbeiführen können.

Aber ich glaube voraussagen zu können, dass bei genauer Einhaltung der Prüfungsvorschriften diese Erscheinung nicht die Regel bilden wird. Und falls es sich herausstellen sollte, dass nur in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle dieser Zusammenhang zwischen Tiervirulenz und Malignität, geringer Virulenz und relativer Gutartigkeit des Geschwüres besteht, so wird es jetzt zum ersten Male möglich werden, auf einem einheitlichen statistischen Wege die Frage nach dem Umfang der spezifischen Prophylaxe und

Therapie dieser wichtigen sozialen Augenerkrankung des Menschen zum Abschluss zu bringen.

Die soeben mitgeteilte Reihe von *Ulcera serpentina* bringt weiterhin den definitiven Beweis dafür, dass dem Pneumokokkenserum eine gewisse Heilwirkung bei der Pneumokokkeninfektion der menschlichen Kornea zuerkannt werden muss.

In den Fällen, bei denen der Ausgang nach dem Urteil der Beobachter in der Klinik ein guter zu nennen war, setzte nach der Seruminjektion eine prompte leukozytäre Reaktion und ein auffallend schnelles Abschmelzen des Progressionsrandes mit Reinigung des Geschwüres ein.

Jetzt handelt es sich hierbei aber nicht mehr um den mehr oder weniger subjektiven Eindruck einer Heilwirkung.

Jetzt sehen wir im Vergleich mit den spontan verlaufenden Fällen, dass innerhalb einer ganz bestimmten Virulenzbreite der Erreger die Infektion nach Zufuhr des spezifischen Serums überwunden wurde, was bei den unbehandelten Fällen von analoger Virulenz der Krankheitserreger nicht eingetreten war.

Ich will noch gar kein Gewicht darauf legen, dass nach diesen Fällen diese Virulenzbreite, bei der die Heilwirkung nach Zufuhr des Serums erfolgte, sich zwischen stattlichen Werten bewegt hat.

Wir werden erst auf Grund eines viel umfangreicheren Materiales diese therapeutische Breite der Serumwirkung genauer festlegen können.

Aber soviel werden die Fachgenossen wohl mit mir aus diesen klinischen Beobachtungsreihen entnehmen, dass jetzt der Weg gefunden ist, auf dem wir für die Beurteilung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* zum Ziele kommen werden.

Injizierten wir früher bei einem kleinen Pneumokokkeninfiltrat das Serum und erfolgte darauf eine prompte Heilung, so wussten wir nicht, ob wir dieses Resultat dem Serum zuschreiben durften. Bestätigt sich jetzt die Tatsache, dass in solchen Fällen infolge mangelhafter Virulenz ein Wachstum der Kokken in der lebenden Hornhaut an sich schon unmöglich war, so lernen wir zunächst denjenigen Prozentsatz von Hornhautinfektionen kennen, bei dem das Serum unnötig gewesen ist.

Auch diese Feststellung gehört zu einer gerechten Beurteilung meiner Bestrebungen.

Aber ebenso muss ich darauf dringen, dass beim deutlich ausgesprochenen *Ulcus serpens* die Virulenzbestimmung sowohl bei spontan verlaufenden wie spezifisch behandelten *Ulceras* ausgeführt wird. Denn hier liegt der prinzipielle Beweis für eine Heilwirkung des von mir angegebenen Mittels, wie er schöner kaum erbracht werden kann.

Die klinische Betrachtung der Geschwüre allein kann uns einen solchen exakten zahlenmässigen Ausdruck für die Malignität der Geschwüre nicht geben.

Und es ist eine ganze Reihe von Fragen, die jetzt lösbar werden.

Lebt ein Kliniker in einem Bezirk, in dem die milden Infektionen häufig sind, so wird er gute Heilresultate sehen.

Besondere Vorsicht in unseren therapeutischen Schlussfolgerungen müssen wir ferner üben, wenn Fälle, die wochenlang verschleppt sind, erst im späten Studium aufgenommen werden.

Wieder lässt sich durch unsere Versuche zeigen, dass sich die pathogene Kraft des Erregers beim *Ulcus serpens* mehr und mehr nach einem Höhestadium erschöpft.

Aber auch im Gesamtorganismus werden, wie wir wissen, von dem lokalen Krankheitsherd am Auge Immunitätsprozesse schliesslich ausgelöst, welche auf die Abheilung der Hornhautinfektion zurückwirken.

Der Faktor der Spontanheilung wird sich örtlich und zeitlich sehr verschieden gestalten. Aber der Weg ist jetzt da, ihn zu finden. Die klinische Beobachtung der Fälle hat die Lösung dieser Frage nicht vollbringen können. Denn wir wissen, trotzdem das *Ulcus serpens* seit Dezennien beobachtet wird, noch immer nicht, wie viel *Ulceras* spontan heilen.

Erst der Vergleich der objektiven Veränderungen am Auge mit der Virulenz des Krankheitserregers bei serumtherapeutisch behandelten und nicht behandelten Fällen vermag uns einen annähernden Begriff von dem Prozentsatz zu geben, bei dem wir eine Wirkung des Serums nicht einwandfrei beweisen können, weil die Vorgänge der Spontanheilung zu sehr im Vordergrund stehen.

Wie häufig hat der Kliniker ferner *Ulceras* von mittlerer Intensität? Wie gross ist dabei die therapeutische Breite der Serumwirkung? Bis zu welcher Grösse der Geschwüre, bis zu welcher Zeitdauer der Erkrankung kommt sie zur Geltung? Bei welchen Serumdosierungen tritt sie in die Erscheinung?

Aber auch bei den schwersten Fällen sind wichtige Aufgaben zu lösen.

Könnte uns das Serum bei den malignen Fällen nicht wenigstens unterstützen? Das ist auch eine Seite dieser Therapie.

Können wir es wahrscheinlich machen, dass die spezifischen Schutzstoffe, die wir injizieren, bei der Heilung mitbeteiligt waren?

Wie häufig hat der Kliniker solche virulenteste Infektionen zu behandeln? Wie ändern sich hierbei die Chancen der Therapie mit der Zeitdauer der Erkrankung? Der Sachverständige weiss, dass zur Prophylaxe einer solchen Infektion, wie der Tierversuch zeigt, oft nur geringe Mengen eines spezifischen Serums ausreichen können, während schon wenige Stunden nach der Infektion oft die hundertfache Serummengung nicht mehr ausreicht. Wie liegen diese Verhältnisse bei den virulentesten Augeninfektionen?

Es scheint mir am Platze, einmal auszusprechen, dass meistens zu hohe Anforderungen an ein Serum gestellt werden. Wir haben keine Zaubermittel, auch das Serum ist kein solches, noch dazu, wo es seine Wirkung in dem gefässlosen Hornhautgewebe erfüllen soll.

Ich werde später mein eigenes Urteil über die Serumtherapie des *Ulcus serpens* auf dem Kongress in Budapest ausführlich an der Hand unseres Materiales begründen.

Ich will es aber hier schon andeuten: Wer es nur mit den schwersten Infektionen zu tun hat, kann nur bescheidene Leistungen der Serumtherapie sehen und erwarten. Wir lernen aber jetzt die Ursachen dieser Grenzwerte kennen. Was naturnotwendig ist, müssen wir hinnehmen, jedes therapeutische Können hat seine Grenzen.

Ich habe es von Anfang an klar genug erkannt und immer wieder betont, dass die prophylaktische Wirkung der Serumtherapie in der Augenheilkunde stets der therapeutischen Leistung überlegen sein muss.

Alle diese Fortschritte in der Beurteilung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* sind im wesentlichen zunächst dadurch erzielt worden, dass wir gelernt haben, den Krankheitserreger des *Ulcus serpens* dauernd unter Kontrolle zu behalten.

Aber noch blieb die Aufgabe zu lösen, nun auch noch dem spezifischen Mittel, dem Pneumokokkenserum selbst eine grössere Aufmerksamkeit zu widmen.

Für den Krankheitserreger gaben wir jetzt eine einheitliche Prüfungsart. Nun musste mir daran gelegen sein auch das Mittel selbst noch möglichst einheitlich zu gestalten.

Das war bisher keineswegs der Fall. Zur Behandlung der oben mitgeteilten Fälle von *Ulcera serpentina* kamen verschiedene Aderlassproben zur Verwendung, die naturgemäss unter einander nicht gleichwertig sein konnten.

Dies ist auch der Grund, warum wir aus den bisherigen Resultaten prinzipiell wohl auf eine Heilwirkung schliessen dürfen. Aber keineswegs sind damit etwa schon definitiv die Grenzen dieser Heilwirkung festgelegt.

Schon der Umstand, dass wir nicht einmal wissen, welche Serummengen bei den einzelnen Virulenzgraden der *Ulcera*, bei der verschiedenen Ausdehnung derselben zur Erzielung einer Heilwirkung nötig sind, mag die Fachgenossen darauf hinweisen, dass diese Therapie wohl im Prinzip von mir vollendet ist, dass aber im einzelnen sich hier noch ein dankbares klinisches Untersuchungsfeld öffnet.

Aber auch das Serum an sich musste einer erneuten experimentellen Prüfung unterworfen werden.

Damit komme ich zum zweiten — und wie wir sehen werden — zum schwierigeren Teil meiner Arbeit.

Die Bedeutung der Opsoninforschung und der Theorie des Bakteriotropismus für die Serumtherapie des *Ulcus serpens*.

Die zweite grosse Forschungsrichtung der neueren und neuesten Zeit, mit der sich die Serumtherapie des *Ulcus serpens* auseinandersetzen hatte, wird von der sogenannten Opsoninforschung repräsentiert.

Diese Opsoninforschung vertritt die Lehre, dass die Leukozyten den vorzüglichsten Ort der Bakterienzerstörung darstellen, dass aber für diese Funktion der Leukozyten eine Einwirkung des Serums auf die Bakterien unumgänglich nötig sei, damit überhaupt eine Aufnahme der Infektionserreger durch die Zellen zustande kommen kann.

Diese Lehre stimmt also in der Wertschätzung der Leukozyten bei der Heilung einer Infektion mit der Metschnikoff'schen Phagozytentheorie überein, sie unterscheidet sich aber von der

letzteren dadurch, dass nicht der Leukozyt allein den Kampf gegen die Krankheitserreger ausficht, sondern einer Beeinflussung der Bakterien durch bestimmte Serumbestandteile bedarf.

Auch die Theorie des Bakteriotropismus gipfelt in dem Satze, dass die Einwirkung bestimmter Körper des Serums auf die Bakterien die unerlässliche Vorbedingung für die Aufnahme der Bakterien durch die Zellen ist, wenn auch, wie wir noch sehen werden, die Theorie der Opsonine und Bakteriotropine sich in wichtigen Punkten von einander unterscheiden.

Beide Theorien bedeuten insofern einen Fortschritt unserer Kenntnisse von dem Wesen der Infektion und Immunität, als durch sie eine Reihe von Unklarheiten der Metschnikoff'schen Phagozytentheorie beseitigt sind und andererseits eine gleichmässige Wertschätzung der Körpersäfte und Körperzellen angestrebt wird, während bisher auf der einen Seite dem Serum allein, auf der anderen Seite den Zellen allein die massgebende Bedeutung zugesprochen worden ist.

Warum war es notwendig, dass sich die Serumtherapie des *Ulcus serpens* auch noch mit dieser Lehre auseinandersetzen musste? Die Antwort lautet: aus wissenschaftlichen und klinisch praktischen Gründen.

Das *Ulcus serpens* der menschlichen Kornea repräsentiert eine Krankheit, bei der auf den ersten Blick gerade die Eiterzellen eine grosse Rolle spielen.

Denn das erste Zeichen der Pneumokokkeninfektion in der Kornea ist ja das Erscheinen der eitrigen Infiltration.

Wir müssen daher für das ganze Verständnis der Pathologie des *Ulcus serpens* und auch seiner spezifischen Therapie erfahren, welche Tätigkeit die Leukozyten bei dieser Infektionskrankheit spielen.

Dass hier noch sehr viel zu tun übrig bleibt, besonders wenn man den Massstab der neuen Forschungen an diese Frage legt, bedarf keiner besonderen Begründung und wird uns sofort einleuchten, wenn wir die Fragen formulieren, die jetzt in den Vordergrund des Interesses treten müssen.

Dass die Tätigkeit der Leukozyten auch in der Kornea bei der eitrigen Infiltration eine mannigfache sein muss, ist bereits bekannt.

Seit Leber's Untersuchungen kennen wir unter anderem die histolytische Tätigkeit der Leukozyten bei den Hornhaut-Infektionen.

Ausserdem ist bekannt, dass wir auch beim *Ulcus serpens* — ich will mich zunächst vorsichtig ausdrücken — der Erscheinung der Phagozytose der Pneumokokken begegnen.

Gerade hier hat jetzt die Forschung einzusetzen.

Denn die Erscheinung der Phagozytose ist jetzt durch die Oponinforschung einer genaueren Analyse zugänglich geworden und dadurch ist eine ganze Reihe von bedeutsamen klinischen Fragen lösbar geworden.

Unter diesen Fragen ist folgende die wichtigste geworden:

Heilt ein *Ulcus serpens*, sei es spontan, sei es unter therapeutischen Einflüssen, dadurch, dass die Pneumokokken in Phagozyten aufgenommen werden?

Gerade bei dieser Krankheit, bei der die Vorgänge sich so frei vor unseren Blicken abspielen, bei der wir in der Lage sind, uns von denselben jederzeit im mikroskopischen Bild zu überzeugen, muss diese Frage einer hinreichenden Beantwortung jetzt fähig werden, wenn wir die moderne Forschung zu Hilfe nehmen.

Aber auch wichtige therapeutische Probleme stehen hier zur Diskussion. Wir werden noch sehen, dass die Behauptung ausgesprochen ist, dass das Pneumokokkenserum nur dadurch wirke, dass es eine Phagozytose der Pneumokokken herbeiführe.

Würde dies zutreffen, dann müsste der Augenarzt in der Prüfung der Phagozytose bei seinen spezifisch behandelten *Ulcerata serpentina* einen weiteren Massstab in die Hand bekommen, an dem er die Wirksamkeit oder Unwirksamkeit der spezifischen Serumtherapie kontrollieren könnte.

Wir hätten dann nichts weiter nötig als in den Fällen, bei denen wir nach der Serumapplikation eine deutliche Besserung der Krankheitserscheinungen beobachten, die Phagozytose der Pneumokokken systematisch zu kontrollieren und wir würden dann durch vergleichende Untersuchungen von spontan verlaufenden, gutartigen wie bösartigen Fällen in kurzer Zeit auch auf diesem Wege noch die Entscheidung darüber erreichen, ob wir im Pneumokokkenserum ein spezifisches Heilmittel in die Hand bekommen haben.

Konnten wir also an der Hand der Aggressinforschung bisher durch die genaue Virulenzbestimmung der einzelnen Pneumokokkenstämme einen Faktor in die Berechnung der Serumtherapie des *Ulcus serpens* einführen, der sich auf den Krankheitserreger bezieht, so würden wir, falls die obigen Voraussetzungen zutreffend sein würden, nunmehr mit der Prüfung der Phagozytose einen weiteren Faktor kennen lernen, der sich auf das spezifische Mittel bezieht.

Wir sehen also, dass die Forschungen über Opsonine und Bakteriotropine nicht bloss einen theoretischen Wert haben, sondern gerade für die ophthalmologische Frage der Pathologie, Prophylaxe und Therapie des *Ulcus serpens* eine grosse Bedeutung erlangt haben.

Die Lösung dieses ophthalmologischen Problemles gipfelt in der Beantwortung der zwei Fragen:

1. Kommt beim *Ulcus serpens* die Infektion dadurch zum Stillstand und zur Heilung, dass die Pneumokokken von Phagozyten aufgenommen und vernichtet werden? Und zweitens: Besteht die Wirkung des Pneumokokkenserums darin, dass durch dasselbe die Phagozytose herbeigeführt wird?

Bei oberflächlicher Betrachtung könnte es scheinen, dass zur Beantwortung der einen und auch der zweiten Frage nichts weiter nötig gewesen wäre, als bei einer Reihe von *Ulcus serpens*-Fällen die Phagozytoseverhältnisse systematisch zu kontrollieren.

Ich hoffe, dass das Studium der folgenden Untersuchungen jeden Ophthalmologen davon überzeugen wird, dass diese beiden Fragen etwas gründlicher untersucht werden mussten.

Zunächst ist dazu wieder wie bei der Aggressinforschung ein kurzer Überblick über die bisherigen Forschungen über Opsonine und Bakteriotropine erforderlich, weil sich nur so die Fragen herauschälen lassen, die den Ophthalmologen interessieren müssen.

Überblick über die Opsoninforschung.

Die Begründung der Opsonintheorie, nach welcher, wie erwähnt, die Bakterien durch die Körpersäfte zur Aufnahme in die Leukozyten vorbereitet werden, ist das Verdienst von Wright.

Andeutungen von derartigen Vorstellungen treffen wir zwar schon früher bei einer Anzahl von Autoren, wie Bordet, Leva-

diti, Sawtschenko. Und besonders hatte Leishmann eine wichtige Vorarbeit für Wright geliefert¹⁾.

Leishmann hatte untersucht, ob im Gehalt des Serums an Metschnikoff'schen Stimulinen ein Massstab für die Immunität gefunden werden könne, den er bei bestimmten Krankheiten in der Prüfung der Agglutination und Bakterizidie vergeblich gesucht hatte. Er mischte Blut und Bakteriensuspension zu gleichen Teilen und untersuchte nach einiger Zeit mit seiner Modifikation der Romanowskifärbung die Phagozytose, zählte die intrazellulären Keime und berechnete die Durchschnittszahl, die auf den Leukozyten kam.

Während Leishmann jedoch in seinen Versuchen eine Bestätigung der Annahme Metschnikoff's von Stimulinen erblickte, gelang es Wright den Sachverhalt besser zu durchschauen.

Wright erreichte dies dadurch, dass er die Phagozytose nicht nur im Gesamtblut untersuchte, sondern Zellen und Plasma bzw. Serum getrennt mit den Bakterien in geeigneten Kombinationen prüfte.

Er tat dies, um die Beantwortung der folgenden zwei Fragen zu erreichen:

1. Kommt die Phagozytose ohne Mitwirkung der Flüssigkeit zustande oder aber haben die Zellen die Mitwirkung der Blutflüssigkeit notwendig?

2. Wenn aber Zellen und Flüssigkeit zusammenarbeiten müssen, besteht dann die Wirkung der Blutflüssigkeit in einer Beeinflussung der Zellen nach Metschnikoff oder in einer Beeinflussung der Bakterien?

Zum Verständnis der Wright'schen Arbeiten ist die Berücksichtigung zweier Zahlen erforderlich.

Unter „Phagocytic count“ versteht Wright die Durchschnittszahl der in Zellen aufgenommenen Bakterien. Dieser Durchschnittswert wird auf Grund der Auszählung von 20—30 Leukozyten berechnet. Er bringt die Intensität der Phagozytose zum Ausdruck. Und der „Opsonische Index“ gibt an, um wie viel kleiner oder

¹⁾ Leishmann, W. B., Note on a method of quantitatively estimating the phagocytic power of the leucocytes of the blood. Brit. med. journ. 1902. I. S. 73.

Derselbe, Some experiments in connection with stimulin. Transact. path. soc. London 1905. Bd. 56.

grösser der „phagocytic count“ ist als der im normalen Fall. Wir können mit Sauerbeck¹⁾ den phagocytic count absoluten und den opsonic index relativen Index nennen.

Was nun die erste Frage angeht, so zeigte Wright zunächst für den Staphylokokkus, dass die Phagozytose nur dann erfolgt, wenn die Zellen mit dem Blut oder Serum zusammengebracht wurden. Er fand ferner, dass nach Erwärmen des Serums auf 60—65° die Phagozytose ausblieb. Konnte aber das Serum erst eine Viertelstunde auf die Bakterien einwirken, und wurde es dann erhitzt, so blieb die Phagozytose unbeeinflusst.

Damit war auf indirektem Wege auch die zweite Frage dahin beantwortet, dass die Opsoninwirkung des normalen Serums durch eine Beeinflussung der Bakterien und nicht der Zellen zustande kommt. Aus diesen Versuchen musste hervorgehen, dass die Opsonine von den Bakterien in Anspruch genommen werden und dass dieselben nach ihrer Bindung gegen die Inaktivierungstemperatur nicht mehr empfindlich sind.

Später ist dann auch noch auf direktem Wege und zwar durch die Ehrlich'sche Absorptionsmethode der Nachweis erbracht worden, dass in der Tat die Bakterien die Opsonine an sich verankern. Diese Versuche wurden zuerst von Bulloch und Atkin²⁾ ausgeführt. An sie schliessen sich die von Hektoen und Ruediger, Löhlein und anderen an. Die Versuche über die Absorptionstemperaturen bedürfen noch der Erweiterung, jedenfalls ist die Absorption meistens bei 37° ausgeführt, Löhlein hat eine solche auch bei 0° feststellen können.

Die Frucht dieser Versuche besteht für uns in der Erkenntnis, dass Stimuline im Sinne von Metschnikoff, welche die Zellen zur Phagozytose reizen sollen, nicht existieren.

Wright dehnte dann diese Untersuchungen in konsequenter Weise auf die verschiedensten Bakterien aus.

Er unterscheidet folgende Klassen der Bakterien:

1) Sauerbeck, Lubarsch-Ostertag 1907.

2) Bulloch und Atkin, Experiments on the nature of the opsonic action of the blood serum. *Proced. Royal Soc.* 1905.

Hektoen und Ruediger, Studies of phagocytosis. *The Journal of Infection Diseases.* 1905, p. 128.

Löhlein, Sur la phagocytose in vitro de microbes pathogènes. *Annal. Inst. Pasteur,* 1905.

1. Bakterien mit „eminenter“ Empfindlichkeit gegenüber bakterizider bzw. bakteriolytischer und opsonischer Serumwirkung: *Vibrio cholerae*, Typhusbazillus.

2. Bakterien mit „gewisser“ Empfindlichkeit gegenüber bakterizider oder bakteriolytischer, „eminenter“ dagegen gegenüber der opsonischen Serumwirkung: *Bacterium coli* und dysenterie.

3. Bakterien mit fehlender Empfindlichkeit gegenüber der bakteriziden, „eminenter“ dagegen gegenüber der opsonischen Serumwirkung: Staphylokokkus, Pneumokokken, Pestbazillus.

4. Bakterien mit fehlender Empfindlichkeit gegenüber der bakteriziden, sowie gegenüber der opsonischen Serumwirkung: Diphtheriebazillus, Xerosebazillus.

Im Verlaufe dieser Studien drängte sich Wright immer mehr die Überzeugung auf, dass den Opsoninen nicht wie den Agglutininen eine nebensächliche Bedeutung bei der Infektion und Heilung zukommt, dass die Opsoninwirkung des Serums vielmehr die wesentlichste Erscheinung sei.

Zu dieser Überzeugung wurde Wright durch Beobachtungen über den Opsoningehalt des Serums im Verlaufe der Immunisierung geführt.

Er fand, dass bei Patienten, die an Staphylokokkenkrankheiten und Tuberkulose leiden, der opsonische Index herangesetzt ist und zwar ist Wright geneigt, diesen niedrigen Index als Ursache der Erkrankung anzusehen. Wurden aber die Menschen in präventiver Weise mit Staphylokokken- und Tuberkulose-Impfstoffen vorbehandelt, so stieg der Opsonintiter. Auf die Injektion erfolgt zunächst eine Herabsetzung der Phagozytose. Wright bezeichnet diese Phase als negative Phase, erst dann erfolgt der Anstieg der Phagozytose, die positive Phase. Für den Praktiker handelt es sich darum, diese Phasen in der richtigen Weise auszuwerten. Die negative Phase darf nicht so stark sein, dass sie für den Patienten gefährlich ist.

Bei diesen Untersuchungen tauchte naturgemäss eine ganze Reihe von Fragen auf.

1. Frage: Sind die Opsonine durchweg die Ursache der Phagozytose?

Wright selbst und seine Nachfolger haben aus ihren Versuchen den Schluss gezogen, dass die Zellen ohne Unterstützung durch das Serum ihre phagozytierende Wirkung nicht ausüben können.

Demgegenüber ist aber von der Kritik zunächst darauf hingewiesen worden, dass von den Phagozyten auch solche korpuskuläre Elemente aufgenommen werden, bei denen Opsoninbeziehungen keine Rolle spielen können. Hierher gehört die Einverleibung von Tusche, Karmin etc. Aber auch für die Bakterien selbst ist gezeigt worden, dass die Anschauung von Wright nicht allgemein zutrifft. So hat Sauerbeck¹⁾ gesehen, dass auch gewaschene Leukozyten Bakterien aufnehmen und speziell hat Löhlein in einer besonders auf diesen Punkt gerichteten Untersuchung nach Mischung von Bakterien mit mehrfach gewaschenen Leukozyten Phagozytose beobachten können.

Wir können daher zunächst einmal feststellen, dass die Wright'sche Anschauung wohl für viele, aber nicht für alle Bakterien gilt und wir wollen nach Löhlein's Untersuchungen betonen, dass es Bakterienarten geben kann, die auch ohne Serumzusatz phagozytiert werden, ferner solche, bei denen selbst der Serumzusatz keine Phagozytose herbeiführen kann.

Meines Erachtens muss diese Frage für jede Bakterienart noch sehr genau untersucht werden.

Auch Wright hat dann mit Reid zusammen für den Tuberkelbazillus die Möglichkeit einer Spontanphagozytose zugegeben und gefunden, dass die Phagozytose von der molekulären Konzentration der Suspensionsflüssigkeit sehr abhängig ist.

Trotz dieser Einschränkungen bleiben die Haupttatsachen, welche Wright aufgedeckt hat, bestehen.

Selbst über den Bereich der Bakterien hinaus sind Opsonine aufgefunden worden, so von Hektoen für Blastomyzeten und Protozoen, von Barrat für Erythrozyten.

Die nächste Frage bezieht sich auf die Spezifität der Opsonine.

In der gesamten Antikörperforschung ist von jeher die Frage diskutiert worden, ob es sich bei einer gefundenen Antikörperwirkung um eine einheitliche Substanz handelt oder ob deren viele vorliegen. Die Frage ist bekanntlich immer in pluralistischem Sinne beantwortet worden. So sind eine Reihe von verschiedenen Agglutininen, Komplementen etc. in einem Serum nachgewiesen.

Es war daher nur naturgemäss, dass auch bei den Opsoninen entschieden werden musste, ob es sich um ein einheitliches oder

1) Sauerbeck, Lubarsch-Ostertag 1907.

viele und spezifische Opsonine handelt. Versuche von Bulloch und Western ergaben, dass es sich auch bei den Opsoninen um spezifische Arten handeln wird. Wright hatte ferner darauf hingewiesen, dass der opsonische Index bei einer Infektion vor allem demjenigen Infektionskeim gegenüber herabgesetzt ist, der als Erreger in Betracht komme und schliesslich fehlt es nicht an Hinweisen darauf, dass umgekehrt bei der aktiven Immunisierung der Index in spezifischer Weise steigen soll.

In diese Kapitel gehört ferner die Angabe von Bulloch und Atkin, Hektoen und Ruediger, dass ein und dasselbe Serum die Bakterien für die Leukozyten verschiedener Tiere phagozytierbar machen kann. Aber das trifft nicht immer zu. Hektoen und Ruediger konnten beobachten, dass ein Streptokokkus durch menschliches Serum wohl für die Leukozyten des Menschen, nicht aber für die des Meerschweinchens opsonabel gemacht wurde.

Auf die weitere Frage, ob Opsonine im Immunserum in vermehrter Menge vorhanden sind und ob die Opsonine des normalen und des Immunserums identisch sind, kommen wir später noch zurück.

Es gehört zum Verständnis dieser Frage erst noch die Mitteilung über die Bakteriotropine, weil hier ein wichtiger Berührungspunkt zwischen Opsoninen und Bakteriotropinen gleichzeitig ein wesentlicher Differenzpunkt zwischen beiden Theorien geworden ist.

Dagegen kann über die nächste Frage, ob die Opsonine ganz neue Körper sind oder ob es sich um eine bisher nicht erkannte Wirkung bekannter Antikörper handelt, das bisherige Ergebnis der Forschung mitgeteilt werden. Wright selbst glaubte, dass hier neue Substanzen vorliegen und zwar schloss er dies aus zwei Gründen. Er sah Opsoninwirkung in solchen Serumarten, welche keine Agglutinine und Bakteriolyse erkennen liessen und konnte sich ferner dort, wo jene Antikörper vorhanden waren, nicht von einem Parallelismus zwischen ihnen und den Opsoninen überzeugen.

Sauerbeck¹⁾ betont aber demgegenüber mit Recht, dass beide Gründe nicht stichhaltig sind, weil sehr wohl ein Bakterium wohl dem opsonischen Einfluss, nicht aber gleichzeitig den anderen Einflüssen ein und derselben Substanz zugänglich zu sein brauche

¹⁾ Sauerbeck, Lubarsch-Ostertag 1907.

und das Fehlen manifester Bakteriolyse noch keineswegs ein Fehlen von Ambozeptoren dartue.

Der Auffassung Wrights steht ferner diejenige von Dean¹⁾ gegenüber. Dean schliesst aus seinen Versuchen, dass ein gewisser Zusammenhang mit den Bakteriolytinen bestehe, dass vor allem dem Immunkörper der grösste Teil der Wirkung zuerkannt werden müsse, das Komplement verstärke einen Teil der opsonischen Wirkung.

Versuche, über die Struktur der Opsonine ins Klare zu kommen, haben ebenfalls bisher zu manchen Widersprüchen geführt.

Hierher gehören beispielsweise die Versuche von Bulloch und Atkin, Hektoen und Ruediger.

Hektoen und Ruediger glauben, es besässen die Opsonine „wie die Toxine und Komplemente zwei Molekülgruppen, eine haptophore, womit sie sich an die Rezeptoren der Bakterien haften, und eine andere, die die opsonifere heissen mag, vermittelt deren sie in den Bakterien eine gewisse Veränderung physikalisch oder chemischer Art hervorrufen, die die Vorbedingung der Phagozytose ist.“ Sie fanden im Gegensatz zu Wright, dass Opsonin nach seiner Bindung an die Bakterien doch noch durch die Inaktivierungstemperatur geschädigt würde.

Löhlein²⁾ [ist für die Verschiedenheit von Opsoninen und lytischen Ambozeptoren eingetreten, er meint, dass nach den Resultaten der Inaktivierung an einen Zusammenhang mit den Agglutininen gedacht werden könne.

Auch Sauerbeck, welcher nicht von der Identifizierung der Opsonine mit den Agglutininen überzeugt ist, meint:

„Nun ist aber auch durchaus denkbar, dass eie Serum Stoffe enthält, die ihrem Bau nach nicht lytische Ambozeptoren, sondern Agglutinine sind, aber die zugehörige Bakterienart infolge bestimmter Besonderheiten nicht agglutinieren, wohl aber opsonieren oder dass sie erst bei hoher Konzentration agglutinieren, während der opsonische Effekt schon in starker Verdünnung sich zeigt.“

¹⁾ Dean, An experimental enquiry into the nature of the substance in serum which influences phagocytosis. *Proced. Roy. Soc.* 1905, S. 506.

Derselbe, Eine Experimentaluntersuchung über die die Phagozytose beeinflussende Substanz im Serum. *Zentralbl. f. Bakt. I. Ref.* 1905.

²⁾ Löhlein, *Zentralbl. f. Bakt. Ref. Bd.* 38, 1906.

Wir können aus dieser kurzen Darlegung entnehmen, dass die Frage noch ungelöst ist, ob die Opsonine neue Körper im Serum sind oder ob sie mit einer bekannten Art identisch sind.

Meiner Überzeugung nach muss dieselbe an jeder einzelnen Bakterienart genauer untersucht werden, Verallgemeinerungen sind hier zunächst nicht statthaft.

Auch die Frage, welche Bedeutung die Virulenz eines Infektionskeimes für die Phagozytierbarkeit besitzt, ist noch unentschieden.

Schon Marchand¹⁾ war die Resistenz virulenter Streptokokken gegenüber der Phagozytose aufgefallen. Dean fand bei zwei verschiedenen Streptokokken wieder denselben opsonischen Effekt. Dagegen sahen Hektoen und Ruediger bei einer Anzahl verschiedener Stämme und Arten, dass avirulente Stämme leichter, virulente Stämme weniger oder gar nicht phagozytiert werden.

Besonders hat Hektoen auf einen Parallelismus zwischen Virulenz und Unmöglichkeit für Opsoninwirkung hingewiesen.

In der ganzen Frage nach der Bedeutung der Phagozytose für die Immunitätsreaktionen müssen wir unsere Aufmerksamkeit nunmehr noch einer anderen Theorie zuwenden, der Lehre vom Bakteriotropismus.

Neufeld und Rimpau²⁾ kamen zu dem Resultat, dass es neben der antitoxischen und bakteriziden Serumart noch eine dritte Art von spezifischer Serumwirkung gibt. Dieselbe steht zwar im Prinzip der bakteriziden Serumwirkung nahe, sie bedarf aber einer direkten zellulären Mitwirkung.

Ihre Versuche knüpfen an folgende ältere Versuche von Denys und Lecleff an: Wurden Leukozyten von normalen und gegen Streptokokken immunisierten Kaninchen mit Streptokokken zusammen im normalen Kaninchenserum aufgeschwemmt, so trat keine Phagozytose ein. Wurde dagegen der Versuch mit dem Serum eines immunisierten Kaninchens gemacht, so trat lebhaftere Phagozytose ein³⁾.

1) Marchand, Arch. de med. exper. Bd. 10, 1898, S. 253.

2) Neufeld und Rimpau, Über die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokken-Immunsersums. Deutsche med. Wochenschr. 1904, Nr. 4.

3) Bordet, Annal. de l'Inst. Pasteur, 1907.

Bordet konnte diesen Reagenzglasversuch von Lecleff und Denys nicht bestätigen, er fand bei dieser Versuchsanordnung keinen Unterschied zwischen normalem Serum und Immunsrum. Neufeld und Rimpau dagegen konnten den Versuch von Lecleff und Denys vollständig bestätigen.

Sie experimentierten mit dem Serum von Kaninchen, die gegen hochvirulente Streptokokken immunisiert waren. Das Serum war an sich weder im frischen Zustand, noch nach Hinzufügen von Komplementen bakterizid.

Wurden aber dem Serum gut gewaschene Kaninchenleukozyten hinzugefügt, so trat in vitro bei 37° schon nach 1/2 Stunde eine lebhafte Leukozytose ein, die im normalen Serum fehlte. Die Streptokokken fielen in den Zellen einer Degeneration anheim, welche vielfach bis zur vollkommenen Auflösung führte.

Neufeld und Rimpau legten sich nun sofort die Frage vor: Wirkt das Serum nach Metschnikoff auf die Leukozyten stimulierend oder wirkt es auf die Bakterien?

Sie schlugen zur Entscheidung den Weg der Ehrlich'schen Absorptionsversuche ein. Dabei ergab sich:

Nur wenn die Streptokokken mit dem spezifischen Serum in Kontakt gewesen waren, trat Phagozytose ein.

Neufeld und Rimpau schliessen aus ihren Versuchen, dass diese Streptokokken dem Serum keine Komplemente, sondern einen relativ hitzebeständigen Stoff entnehmen, wodurch die Aufnahme in die Leukozyten erst bedingt sei. Sie setzten ursprünglich diesen Stoff in Analogie zu den Pfeiffer'schen Immunkörpern oder Ehrlich'schen Ambozeptoren.

Auch im Tierkörper haben die Autoren analoge Erscheinungen beobachtet und zwar bei Mäusen, die mit spezifischem Serum vorbehandelt waren. Bei den Serum-Mäusen zeigten sich sehr ähnliche Vorgänge wie im Reagenzglase. „Schon nach etwa 1/2 bis 3/4 Stunde 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 2—4 Stunden war weitaus die grösste Zahl der Kokken von Zellen aufgenommen und boten z. T. 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.“

Neufeld und Töpfer¹⁾ haben ihre Anschauungen nun auch noch auf die gegen Blutzellen gerichteten Immunsera ausgedehnt und in denselben neben hämolytischen auch hämotrope Substanzen aufgefunden.

Mischten sie spezifisch für Ziegenblut hämolytisches inaktives Serum, das von vorbehandelten Kaninchen stammt, mit Ziegenblutkörperchen und Leukozyten, so sahen sie *in vitro* eine äusserst lebhaft eintretende Phagozytose. Die Phagozytose erreichte nach 1¹/₂ Stunden ihren Höhepunkt. Die Kontrollen zeigten in der Regel nur ganz vereinzelte Phagozytose. Auch im normalen Kaninchen serum sollen derartige hämotrope Substanzen nach Neufeld vorhanden sein, wenn auch in geringerer Konzentration als im entsprechenden Immunsereum. Bei anderen Blutarten wurde von diesem auf Ziegenblut eingestellten Serum die Phagozytose nicht befördert, während es keinen Unterschied machte, ob Kaninchen- oder Meerschweinchen-Leukozyten zur Anwendung kamen. Das Serum verhielt sich also elektiv gegen Blutzellen, nicht aber gegen Leukozyten, und Neufeld und Töpfer schliessen daraus, dass es nicht im Sinne von Metschnikoff stimulierend auf die Phagozyten, sondern verändernd auf die Blutzellen einwirke: Die Blutzellen würden sekundär von den Phagozyten aufgenommen.

¹⁾ Neufeld und Töpfer, Über hämolytische und hämotrope Sera. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 38, S. 456, 1905.

Gestützt wurde diese Anschauung wieder durch analoge Bindungsversuche, wie sie von den Autoren beim Studium der Streptokokken- und Pneumokokkenserum ausgeführt waren. Das Ergebnis derselben bestand darin, dass nicht die Leukozyten, sondern die roten Blutzellen mit dem spezifischen Bestandteil der Sera eine Bindung eingehen. Aus weiteren Versuchen folgerten die Autoren, dass die hämolytischen Antikörper nicht mit den hämotropen identisch sein können. Denn ein auf Meerschweinchenblut eingestelltes, bei Kaninchen gewonnenes Serum beförderte die Phagozytose nicht.

Mit all diesen Untersuchungen, von denen ich nur einen Teil berichten kann, war meines Erachtens die Serumtherapie des *Ulcus serpens* vor eine weitere Aufgabe gestellt.

Es gilt jetzt, die Frage nach der Bedeutung der Phagozytose bei der Pneumokokkeninfektion und ihrer Heilung noch einmal objektiv nachzuprüfen und speziell die ophthalmologischen Gesichtspunkte dabei noch zu berücksichtigen, die naturgemäss bisher nicht in den Kreis der Beobachtung einbezogen wurden.

Bei diesen Untersuchungen habe ich auf das Strengste an folgendem Grundsatz festgehalten.

Wir dürfen nicht wieder in den Fehler verfallen, Vergleiche mit anderen Krankheitserregern anzustellen und Analogieschlüsse aus den Beobachtungen bei anderen Infektionserregern auf die Verhältnisse der Pneumokokkeninfektion zu ziehen.

Wir dürfen nicht vergessen, dass jeder Infektionskrankheit ihre Besonderheiten zukommt und dass wir objektiv bei unserer Frage nur zu betrachten haben, was für die Pneumokokken-erkrankung zutrifft.

Meine Resultate werden zeigen, dass die Resultate ganz anders aussehen, als sie vielfach nach den eben geschilderten Theorien zu erwarten waren. Für ihre Richtigkeit kann ich aber einstehen.

Mögen die Verhältnisse bei den Streptokokkeninfektionen und anderen Erkrankungen liegen wie sie wollen, für uns kommt hier nur die Pneumokokkeninfektion in Betracht.

Das Phänomen der Phagozytose der Pneumokokken *in vitro*.

Ich bin zunächst von Reagenzglasversuchen ausgegangen.

Die Möglichkeit quantitativer Bearbeitung, die Möglichkeit, vor allem die Produkte des lebenden Organismus nach Belieben auszuschalten und einzuschalten, bietet uns hier die beste Gewähr für die genauere Analyse der einzelnen Erscheinungen.

Zu dieser Erkenntnis gelangte ich sehr bald, nachdem anfangs die Deutung der Tierversuche in mancher Beziehung Schwierigkeiten machte. Ich bespreche deshalb zunächst meine Versuche über die Phagozytose *in vitro*.

Da es sich hierbei um Versuchsanordnungen handelt, die bisher in der Ophthalmologie noch wenig zur Anwendung gekommen sind, will ich mit wenigen Worten zunächst auf die Technik dieses Teiles der einschlägigen Untersuchungen eingehen, die ich mir herausgebildet habe.

Technik.

Was zunächst die Gewinnung der Meerschweinchen-Leukozyten angeht, so verfährt man am besten folgendermassen. Das Tier bekommt zunächst 24 Stunden vor dem Versuch 10 ccm 0,85% Kochsalzlösung in die Bauchhöhle injiziert und 6 Stunden vor der Tötung noch einmal dieselbe Dosis. Als Folge dieser peritonealen Reizung sammeln sich hinreichende Mengen von Leukozyten in der Bauchhöhle an. Würde man die Tiere nur kurze Zeit nach der Einspritzung töten, so trifft man nicht genügend polynukleäre Zellen, sondern nur vorwiegend Leukozyten an. Von der Verwendung des vielfach gebrauchten Aleunoratbreies habe ich sehr bald abgesehen, da hierbei meist viel stärkere Fibrinausscheidungen im Exsudat aufzutreten pflegen. Auch mit Bouillon erhält man keine besseren Resultate als mit der einfachen Kochsalzlösung. Nun treten auf diese peritoneale Reizung hin nicht nur Zellen, sondern auch die Antikörper des Serums in die Bauchhöhle über. Wollte man daher das Exsudat als solches zu Phagozytoseversuchen benutzen, so würde man, wie wir noch sehen werden, zu vollkommen unrichtigen Vorstellungen gelangen, weil in demselben neben den Leukozyten gerade die für die Phagozytose notwendigen Substanzen enthalten sind. Die Leukozyten müssen daher von

diesen Substanzen getrennt und befreit werden. Nach dem Entbluten des Tieres wird die Bauchwand eröffnet und ein grosses Quantum sorgfältig auf 38° erwärmter Kochsalzlösung in die Bauchhöhle eingegossen. Die Flüssigkeit wird hin und her geschwenkt und über einem Trichter ausgegossen. Während beim ersten Anblick die eingegossene Flüssigkeit noch fast klar in der Bauchhöhle erscheint, ist man erstaunt, welche Mengen von Leukozyten durch das Schwenken des Bauchinhaltes in die Flüssigkeit übergehen. Nach Reposition der Därme wird diese Prozedur noch zweimal wiederholt und zwar habe ich im ganzen stets 300 ccm Flüssigkeit zur Ausspülung der Bauchhöhle benutzt. Die Erfahrung hat gezeigt, dass dadurch eine hinreichende Verdünnung der im Exsudat vorhandenen Antikörper gewährleistet wird. Es ist dann nur noch notwendig, die gut durchgeschüttelten Leukozyten abzuzentrifugieren. Die Flüssigkeit wird jetzt abgegossen und die am Boden der Zentrifugengläschen befindlichen Zellen werden nun in der erforderlichen Menge einer körperwarmen Kochsalzlösung aufgeschwemmt und gut durchgeschüttelt. Für besondere Fragestellungen ist die Waschung der Leukozyten zu wiederholen. Unter der erforderlichen Menge verstehe ich eine solche, dass die von einem Meerschweinchen gewonnenen Zellen in dem jeweiligen Versuch aufgebraucht werden. Meistens habe ich die gesamten Leukozyten in 5 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt und von dieser ausserordentlich dichten Suspension zu den Versuchsröhrchen 0,5—0,1—0,2 hinzugesetzt. Es mag diese Beschreibung vielen überflüssig erscheinen, ich weiss aber, dass dieselbe andererseits manchem Leser willkommen sein wird. Auch ist die genaueste Angabe der Technik deshalb geboten, weil sich meines Erachtens aus Differenzen der Technik nicht wenige Widersprüche der Autoren erklären können.

Um diese Leukozytensuspensionen nicht zu sehr zu verdünnen, ist es erforderlich, dass sich die Versuche in einem kleinen Volumen Flüssigkeit abspielen müssen. Ich habe darauf geachtet, dass in den kleinen Reagenzröhrchen das Volumen im ganzen höchstens 0,4—0,5 ccm betrug.

Die Röhrchen selbst kommen in ein Wasserbad, das genau auf 38° eingestellt ist. Auch dies halte ich nicht für überflüssig zu erwähnen, weil bei dem üblichen Verfahren die Röhrchen in den Brutschrank zu stellen, keineswegs gleich von Anfang an die

Körpertemperatur in den Flüssigkeiten erreicht wird, die doch für die Zellen *in vivo* allein in Betracht kommt. Aus diesen Röhren werden dann nach der erforderlichen Zeit die Präparate in folgender Weise angefertigt:

Meist setzt sich ein grosser Teil der Leukozyten bald am Glase fest an, es ist daher erforderlich, dass vor der Entnahme die Suspension mittelst der Öse wieder hergestellt wird. Dann entnehme ich mit einer Kapillarpipette einen Tropfen von 0,01, bringe denselben auf den Objektträger und verstreiche denselben gleichmässig über demselben mit der Nadel. Die Präparate kommen zum Trocknen für einige Stunden in den Brutschrank. Ein sorgfältiges Antrocknen ist absolut erforderlich, da sonst trotz Alkoholfixation bei konzentrierterem Serumgehalt der Gemische ein Teil der Zellen verloren gehen kann. Nach Trocknung im Brutschrank kommen die Objektträger für 15 Minuten in absoluten Alkohol und werden nach sorgfältigster Verdunstung des Alkoholes in der Giemsalösung 1:100 bei Zimmertemperatur für 7—10 Minuten gefärbt.

Nach leichtem Abspülen mit Wasser werden sie wieder in dem Brutschrank getrocknet. Nach meinen vielfachen Versuchen ist diese Färbung für unsere Zwecke bei weitem die beste. Die Pneumokokken sind, solange sie normal sind, tiefblau gefärbt, die Kerne der Zellen violett, das Protoplasma mattrosa. Auf diese Weise heben sich einmal die intrazellulären Kokken sehr schön von der Umgebung ab, vor allem ist es, worauf ich grossen Wert lege, möglich geworden, wie wir später sehen werden, auch die Bakteriolyse der extrazellulären Kokken genau zu verfolgen.

Ich berichte nun über die bei diesen Untersuchungen für Pneumokokken gefundenen Tatsachen.

1. Erscheinung: Der Phagozyt allein ist nicht imstande,
einen Pneumokokkus aufzunehmen.

Für das ganze Verständnis der folgenden Versuche wollen wir zunächst die Tatsache vorwegnehmen, dass es Pneumokokkenstämme gibt, welche leicht phagozytierbar sind und solche, welche sich überhaupt nicht in Phagozyten aufnehmen lassen. Wir kommen hierauf noch genauer zurück.

Haben wir nun einen Pneumokokkenstamm vor uns, welcher phagozytierbar ist, so erscheint mir die Frage zunächst am wichtigsten für die ganze Wertschätzung der Phagozytose, für die

Immunität und die Heilung einer Pneumokokkeninfektion: Ist der lebende, aber von umspülenden Substanzen des Blutserums und der Peritonealflüssigkeit getrennte Phagozyt noch imstande, einen Pneumokokkus in sich aufzunehmen oder bedarf entweder der Phagozyt oder der Pneumokokkus einer bestimmten Substanz des Blutes für die Realisierung der Phagozytose? Wir erinnern uns aus der Darstellung der Opsoninforschung, dass Wright zuerst diesen Satz energisch vertreten hat, dass aber im Laufe der Untersuchungen Widersprüche laut geworden sind.

Wie verhält sich die Frage bei den Pneumokokken?

Hier hat sich nun die meines Erachtens fundamentale, von Wright und seiner Schule begründete Tatsache bestätigt, dass der noch lebende, in der oben geschilderten Weise gewonnene Leukozyt als solcher nicht imstande ist, einen Pneumokokkus in sich aufzunehmen.

Man hat zum Nachweis dieser Tatsachen nichts anderes nötig, als in einer Versuchsreihe Leukozyten mit wechselnden Mengen einer Pneumokokkenbouillon zusammen zu bringen. Selbst nach mehreren Stunden ist nichts von Phagozytose zu sehen.

Ich habe diese Tatsache in besonderen hierauf gerichteten Versuchsreihen feststellen können und dieselbe bei jedem Phagozytoseversuch kontrolliert und zwar an so zahlreichen Pneumokokkenstämmen, wie sie wohl nicht so leicht jemand in der Hand gehabt hat.

Diese Tatsache ist auf folgender Tabelle illustriert:

Beispielsweise wurden in einem Versuche allein folgende 6 *Ulcus serpens*-Stämme in dieser Beziehung kontrolliert mit je zwei verschiedenen Leukozytenarten.

Pneumokokken-Stamm	Phagozytose durch gewaschene Kaninchen-Leukozyten	Phagozytose durch gewaschene Meer-schw.-Leukozyten
Bohm	○	○
Bauer	○	○
Rauch	○	○
Wasser	○	○
Trabold, gemein	○	○
Trabold, passage	○	○

Diese Tatsache genügt allein schon, um der Metschnikoffschen Phagozytose theorie bezüglich der Pneumokokken ein anderes Gepräge zu geben.

Sie deutet auf eine innige Anhängigkeit dieser zellulären Reaktion von gelösten Bestandteilen des Serums hin: Nicht mehr die Zelle allein ist imstande, die Aufnahme des Pneumokokkus zu vollbringen, erst wenn bestimmte Bestandteile des Blutserums hinzukommen, vermag die Eiterzelle die Pneumokokken aufzunehmen. Daraus ergibt sich ohne weiteres, dass weder eine einseitige Wertschätzung des Serums noch der Leukozyten gerechtfertigt ist. Beide Faktoren gehören untrennbar bei der Phagozytose reaktion zusammen.

Ich glaube aber auch nicht mehr an die Lehre, dass die Leukozyten die Hauptquelle dieser Opsoninsubstanzen sind.

Für uns Ophthalmologen hat dies, wie wir sehen werden, noch eine besondere Bedeutung.

2. Zur Phagozytose der Pneumokokken ist vielmehr die Gegenwart thermolabiler Serumstoffe erforderlich.

Die Verhältnisse gestalten sich sogleich wesentlich anders, sobald man zu Phagozyten und einem geeigneten Pneumokokkenstamm kleine Mengen eines geeigneten frischen aktiven Serums hinzufügt. Was zunächst die Frage angeht, welcher Pneumokokkenstamm sich als geeignet zur Phagozytose erweist, so wollen wir an dieser Stelle wieder späteren Erörterungen vorausnehmen, dass hierzu vor allem genuine, vom *Ulcus serpens* ohne Tierpassage weitergezüchtete Stämme von geringer Pathogenität geeignet sind, während ein virulenter Stamm, der mehrfach die Maus passiert hat und frisch aus dem Tier gezüchtet ist, *in vitro* unter diesen Bedingungen nicht phagozytiert wird. Ich mache schon hier besonders auf diese Tatsache aufmerksam, weil in den Versuchen jedesmal der Vergleich zwischen solchen verschiedenen Stämmen geprüft wurde und die Abbildungen hierauf Bezug nehmen.

Wird das Serum $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56—60° erwärmt, so bleibt unter allen Umständen die Phagozytose aus.

Nennen wir mit Wright die Substanzen, welche zur Phagozytose notwendig sind, zunächst Opsonine, so bestätigt sich also auch für die Pneumokokken die Tatsache, dass diese Substanzen zum mindesten thermolabile Gruppen aufweisen. Wir wollen schon

jetzt diese Tatsache besonders hervorheben, weil Neufeld, wie wir aus der historischen Entwicklung dieser Lehre gesehen haben, auch für die Pneumokokken angegeben hat, dass die von ihm als bakteriotrop bezeichneten Substanzen der Immunsera thermostabil seien. Für das normale Serum trifft daher die Behauptung Neufeld's zunächst schon nicht zu. Nicht die Gegenwart thermostabiler, sondern thermolabiler Serumbestandteile ist für das Zustandekommen der Pneumokokkenphagozytose erforderlich. Der Einfluss dieser Inaktivierung ist aus folgenden Versuchen sofort zu ersehen:

Kombination: Meerschweinchen-Leukozyten, Meerschweinchen-Serum und Stamm Bohm (*Ulcus serpens*).

Serum-Menge	Serum aktiv: Kultur-Stamm Bohm 0,03	Serum inaktiv: Kultur-Stamm Bohm 0,03
0,05	deutliche Phagozytose	○
0,06	" "	○
0,07	" "	○
0,08	" "	○
0,09	Zunahme derselben	○
0,1	" "	○
0,2	" "	○
0,3	komplette Phagozytose	○

Ein anderer Versuch mit Meerschweinchen-Serum wird auf einer besonderen Tafel illustriert:

Diese Tatsache trifft zunächst für alle Normalsera zu. Ich führe noch ein Beispiel an, bei dem dieselben Stämme mit Rinderserum untersucht worden sind:

Opsonin-Wirkung des normalen Rinderserums auf Pneumokokken. Inaktivierung desselben hebt die Opsonin-Wirkung vollkommen auf. Siehe Tafel am Schluss der Arbeit.

Also auch in diesem Punkte der Thermolabilität der Opsonine des normalen Serums stimmen meine eigenen Erfahrungen mit den Angaben von Wright noch überein.

3. Gehalt der Normalsera an Opsoninen für Pneumokokken.

Nach Feststellung dieser Tatsachen fragte es sich: Wie verhalten sich die verschiedenen Sera bezüglich ihres Gehaltes an Opsoninen für Pneumokokken? Sind diese Substanzen im normalen Serum in gleicher Weise wie im Immunserum vorhanden? Welche Beziehungen bestehen zwischen diesen eigenartigen Substanzen und der Immunität?

Nach den Ergebnissen meiner Untersuchungen muss hierbei zunächst folgendes Moment beachtet werden.

Die meisten Versuche über Phagozytose wurden mit Meerschweinchenleukozyten angestellt. Wir werden nun aber gleich sehen, dass mit dieser Zellart a priori durchaus nicht jedes normale Serum mit Phagozytose zu reagieren braucht, oder mit anderen Worten, dass für Meerschweinchenleukozyten durchaus nicht jedes normale Serum geeignete Opsonine für Pneumokokken zu enthalten braucht. In der Tat hat sich in einwandfreier Weise feststellen lassen, dass es unter den normalen Serumarten nur ganz bestimmte Sera sind, welche mit Meerschweinchenleukozyten phagozytierend wirken. Es ist daher erst für jede Leukozytenart zu untersuchen:

Wie verhält sich das homologe Serum und wie verhalten sich heterologe Sera?

Opsoningehalt heterologer Sera für Meerschweinchen-Leukozyten und Pneumokokken:

Hierbei hat sich zunächst die meines Erachtens wichtige Tatsache herausgestellt, dass unter den folgenden heterologen Serumarten: Pferdeserum, Rinderserum, Hammelserum, Schweineserum, Kaninchenserum, menschliches Serum, Hühnerserum, Gänse- serum, Taubenserum nur das Rinderserum und Hühnerserum mit Meerschweinchenleukozyten die Pneumokokken phagozytabel macht. Ein hierhergehöriger Versuch ist in folgender Tabelle zusammengestellt:

Tabelle:

Spezifische Beziehungen zwischen Opsoninen der Normalsera-Pneumokokken-einerseits und Meerschweinchen-Leukozyten andererseits.

1 Originalstamm von *Ulcus serpens* (Bohm) und 1 Passagekultur.

	Pferdeserum: 0,2 ccm				Rind-Serum: 0,2 ccm			
	Stamm Bohm		Passagekultur		Stamm Bohm		Passagekultur	
	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv
$\frac{1}{2}$ Std.	○	○	○	○	+	○	○	○
1 Std.	○	○	○	○	+	○	○	○
2 Std.	○	○	○	○	+	○	○	○

	Hammelserum				Schweineserum			
	Stamm Bohm		Passagekultur		Stamm Bohm		Passagekultur	
	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv
$\frac{1}{2}$ Std.	○	○	○	○	○	○	○	○
1 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○
2 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○

	Kaninchenserum				Menschliches mütterliches Serum			
	Stamm Bohm		Passagekultur		Stamm Bohm		Passagekultur	
	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv
$\frac{1}{2}$ Std.	○	○	○	○	○	○	○	○
1 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○
2 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○

	Menschliches fötales Serum 0,2				Hühnerserum 0,2			
	Stamm Bohm		Passagekultur		Stamm Bohm		Passagekultur	
	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv
$\frac{1}{2}$ Std.	○	○	○	○	+	○	○	○
1 Std.	○	○	○	○	+	○	○	○
2 Std.	○	○	○	○	+	○	○	○

	Gänseserum 0,2				Taubenserum 0,2			
	Stamm Bohm		Passagekultur		Stamm Bohm		Passagekultur	
	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv
1/2 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○
1 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○
2 Std.	○	○	○	○	○	○	○	○

Der Versuch zeigt, dass aus der ganzen Reihe normaler Serumarten nur das Rinderserum und Hühnerserum imstande gewesen ist, Phagozytose der Pneumokokken herbeizuführen und zwar nur im aktiven Zustand und endlich wieder nur beim genuinen Menschenstamm. Höchstens konnte man beim Hammelserum an einzelnen Stellen der Präparate geneigt sein, etwas Phagozytose anzunehmen, indessen handelte es sich hier um minimale Andeutungen der Erscheinung.

Benutzt man eine andere Leukozytenart, z. B. von Kaninchen, so begegnet man ganz analogen, spezifischen Beziehungen zwischen Serumart und Leukozytenspezies, wie aus folgendem Versuch hervorgeht:

Reaktion der Kaninchen-Leukozyten mit den Opsoninen normaler Sera und verschiedenen Pneumokokken-Stämmen.

0,2 ccm aktiven Serum von	Phagozytose mit Pneumokokken-Stamm					
	Bohm	Bauer	Rausch	Wasser	Trabold genuin	Trabold passage
1. Kaninchen	+	+	+	+	+	+
2. Rind	+	+	+	+	+	+
3. Hammel	○	○	○	○	○	○
4. Meerschwein	+	+	+	+	+	+
5. Schwein		○	○	○	○	○
6. Mensch	○	○	○	○	○	○

Diese Versuche sind prinzipiell so wichtig, dass ich jeden einzelnen vom Künstler nochmals auf das Genaueste kontrollieren liess.

Auf Grund der angefügten Abbildungen wird der Leser sich am besten von diesen Tatsachen eine Vorstellung machen können.

Die Mengenverhältnisse bei diesen Reagenzglasversuchen waren

derart, dass 0,2—0,3 ccm Serum, 0,1 Bouillonkultur und 0,4 ccm Leukozyten-Aufschwemmung gemischt waren.

Zwischen den Pneumokokken, den Leukozyten und den verschiedenen normalen heterologen Serumarten existieren ganz bestimmte Reaktionsbedingungen.

Meerschweinchen-Leukozyten.

Der folgende Versuch zeigt noch einmal für das normale Rinderserum, welches von allen Serumarten das geeignetste ist, dass nur beim aktiven Zustand des Serums die Phagozytose zustande kommt und wieder nur bei den von Menschen herrührenden Stämmen:

Opsonin-Wirkung des normalen Rinderserums mit Meerschweinchen-Leukozyten und verschiedenen P.K.-Stämmen.

Serum-Menge	Stamm Bohm (Ulcus serpens)		Passagekultur		Stamm Wagner (Ulcus serpens)	
	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv	Serum aktiv	Serum inaktiv
0,01	○	○	○	○	teilweise	○
0,05	+ teilweise	○	○	○	+ mehr	○
0,1	+ komplett	○	○	○	+ komplett	○
0,5	+ komplett	○	○	○	+ komplett	○

Meerschweinchen-Leukozyten und homologes Serum.

Das homologe, also vom Meerschweinchen stammende aktive Serum wirkt, wie nicht anders zu erwarten war, auf geeignete Stämme phagozytierend, und zwar verhält es sich hierbei vollkommen analog dem heterologen Rinderserum. Nur solche Pneumokokkenstämme werden von ihm phagozytiert, die auch vom normalen Rinderserum zur Aufnahme in die Leukozyten gebracht werden.

Die beigegebenen Tafeln demonstrieren diese Tatsache:

Phagozytose durch Meerschweinchen-Peritonealexsudat.

Die Tatsache, dass der Meerschweinchen-Phagozyt ohne Gegenwart von thermolabilen Serumsstoffen überhaupt keine Pneumokokken in vitro aufnehmen kann, und dass andererseits bei intra-peritonealer Pneumokokkeninfektion, wie wir später noch sehen

werden, die Phagozytose immer erst nach bestimmter Zeit sichtbar wird, musste zur Untersuchung der Frage auffordern, ob die in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens in der Immunitätsforschung tausendfach beobachtete Phagozytose ebenfalls von den Leukozyten gar nicht allein geleistet, sondern erst durch das Übertreten der Opsonine des Serums in die Bauchhöhle ermöglicht wird. Ist das aber der Fall, dann muss der ganze Vorgang der peritonealen Phagozytose, wie er so vielfach von den Anhängern der Metschnikoff'schen Theorie zitiert wird, in einem wesentlich anderen Lichte erscheinen als bisher.

Bei diesen Versuchen wurde folgendermassen verfahren: Nach der üblichen Kochsalzvorbereitung der Tiere wurde die Bauchhöhle beim Eröffnen mit 5 ccm frischer Kochsalzlösung ausgespült und nun teils dieses Exsudat direkt mit verschiedenen Pneumokokkenstämmen zusammengebracht, teils wurde dieses Exsudat zentrifugiert und die abzentrifugierten ausgewaschenen Leukozyten auf die Phagozytose geprüft, teils wurde das zellfreie Exsudat inaktiviert, um zu prüfen, ob dasselbe analog, wie wir es vom Serum nun wissen, seine phagozytierende Fähigkeit einbüsst. Ein Versuch möge das Gesagte illustrieren.

In der Peritoneal-Höhle erfolgt die Phagozytose der Pneumokokken ebenfalls nur durch das Zusammenwirken der Zellen mit den Opsoninen des Serums.

Phagozytose der Pneumokokken in vitro durch
Meerschweinchen-Serum und Peritonealexsudat.

		Phagozytose
1.	0,3 ccm Exsudat direkt mit Zellen und Passagekultur:	○
2.	0,3 " " " " " " Stamm Benke (genuin)	+
3.	0,3 " " " " " " Stamm Bohm (genuin)	+
4.	0,2 ccm Serum desselben Tieres und gewaschene Leukozyten, Passage	○
5.	0,2 " " " " " " " " Benke	+
6.	0,2 " " " " " " " " Bohm	+
7.	0,3 ccm inaktiviertes Exsudat und gewaschene Leukozyten, Passage	○
8.	0,3 " " " " " " " " Benke	○
9.	0,3 " " " " " " " " Bohm	○
10.	Kontrolle aus d. Exsudat nur abzentrifugierte Leukozyten, Passage	○
11.	" " " " " " " " Benke	+ höchst vereinzelt
12.	" " " " " " " " Bohm	+ höchst vereinzelt
13.	Kontrolle, gewaschene Leukozyten	○
14.	" " " " " " " " Benke	○
15.	" " " " " " " " Bohm	○

Wir sehen also: Das aktive Exsudat phagozytiert die Pneumokokken in ganz analoger Weise wie das Serum, durch Inaktivieren erlischt diese Fähigkeit. Die gewaschenen Leukozyten allein nehmen wieder keine Kokken auf und auch bei den abzentrifugierten, aber ungewaschenen Leukozyten ist nur noch eine minimale Phagozytose erkennbar, weil eben nur noch geringste Reste von Opsoninen an ihnen haften können. Gewaschene Leukozyten und Spülflüssigkeit einer normalen Bauchhöhle wirken nicht mehr phagozytierend und endlich sehen wir, dass auch Passagekulturen vom aktiven Peritonealexsudat ebensowenig phygozytabel gemacht werden wie vom Serum.

Alle diese Tatsachen beweisen, dass bei jeder peritonealen Pneumokokken-Infektion die Phagozytose gar nicht von den Leukozyten allein bewerkstelligt wird, sondern immer auf dem Zusammenwirken von Opsoninen des Serums mit den Zellen beruht, die bei der Infektion in die Peritonealhöhle übertreten.

Die Metschnikoff'sche Theorie darf daher zunächst bei den Pneumokokken keineswegs den Schwerpunkt auf die Leukozyten allein legen, sondern muss die gleichzeitige Funktion der Serumkörper anerkennen. Aber noch mehr. Nach Metschnikoff sollen die Leukozyten die Quellen der Schutzstoffe darstellen. Wenn das richtig wäre, warum enthält dann der Phagozyt nicht die phagozytosebedingenden Substanzen?

Kaninchen-Leukozyten und heterologe und homologe Sera.

Nun kommen wir zu der Frage, wie sich die Leukozyten einer anderen Tierart zu den Pneumokokken einerseits und Opsoninen der normalen Sera andererseits verhalten. Ich habe diese Versuche zunächst an Kaninchen-Leukozyten durchgeführt. Dieselben wurden in analoger Weise nach intraperitonealen Kochsalzinjektionen gewonnen.

Auch diese Versuche haben eine neue Tatsache ergeben.

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, reagiert wieder zunächst das normale Rinderserum in dieser Kombination mit deutlicher Phagozytose. In dieser Beziehung verhalten sich Kaninchenleukozyten wie Meerschweinchenleukozyten. Dagegen reagiert

z. B. auch das Meerschweinchenserum mit den Kaninchenleukozyten, während wir im vorhergehenden Abschnitt festgestellt haben, dass umgekehrt das normale Kaninchenserum mit Meerschweinchenleukozyten zusammen keine Phagozytose der Pneumokokken fertig bringt. Es ist diese Erscheinung deshalb von Wichtigkeit, weil sie uns, wie wir noch später sehen werden, lehrt, dass wir ein Pneumokokken-Immunsrum, welches von Kaninchen stammt, gar nicht, wie dies geschehen ist, mit Meerschweinchen-Leukozyten auf Opsonintiter untersuchen können.

Die Versuche weisen ferner darauf hin, dass zwischen Serum und homologen Leukozyten wohl sehr innige Beziehungen bestehen müssen. Kaninchenserum reagiert mit Kaninchenleukozyten, Meerschweinchenserum mit Meerschweinchenleukozyten phagozytierend. Von teleologischen Gesichtspunkten aus ist diese Erscheinung sofort verständlich. Ich habe auch diese Versuche wieder illustrieren lassen.

Analyse der Wirkung der Opsonine des normalen Serums den Pneumokokken gegenüber.

Nach Mitteilung der bisher von mir für die Pneumokokken-Phagozytose in vitro gefundenen Tatsachen gilt es nun, die Analyse der Opsoninwirkung zunächst des normalen Serums genauer durchzuführen.

Denn hochbedeutsame wissenschaftliche und praktische Fragen stehen hier zur Diskussion.

Aus drei Komponenten setzt sich die wiederholt beschriebene Phagozytose der Pneumokokken in vitro zusammen.

Es gilt daher, alle drei Faktoren genauer zu untersuchen.

Ich wende mich zunächst den Leukozyten zu, die Versuche hierüber beziehen sich ausschliesslich auf Meerschweinchenleukozyten.

Wenn wir sehen, dass nach Erfüllung aller Bedingungen die Pneumokokken schon nach einer oder wenigen Minuten in den Zellen aufgefunden werden, so interessiert uns auch die Frage nach dem Mechanismus dieser rapiden Aufnahme. Die Leukozyten sind beweglich, die Pneumokokken haben keine Eigenbewegungen. Wie ist es möglich, dass die Zellen in so kurzer Zeit unter Umständen enorme Massen von Pneumokokken aufnehmen können?

Das gefärbte Präparat hat mir hierüber leider keine Auskunft gegeben. In vielen Tausenden von Präparaten, die ich sowohl wie der Künstler studiert haben, liess sich kein Anhaltspunkt dafür finden, dass die Leukozyten etwa Fortsätze ausstrecken und die Kokken umfliessen und umschliessen.

Eins ist jedenfalls sicher, dass die Phagozyten lebend und ungeschädigt sein müssen.

Folgender Versuch zeigt, dass eine Erwärmung der Leukozyten auf 50° die Phagozytose unmöglich macht.

Tatsachen aus der Opsoninforschung.

Zur Phagozytose der Pneumokokken müssen die Leukozyten ungeschädigt sein.

Aufhebung der Phagozytose durch Erwärmung der Leukozyten.

Rind-Serum	Stamm	Phagozytose	Stamm	Phagozytose
0,2 ccm	Bohm (Ulcus serpens)	○	Bohm	komplett
0,2 "	Wagner " "	○	Wagner	"
0,2 "	Heublein " "	○	Heublein	"

Ferner habe ich Versuche darüber gemacht, inwiefern durch Zusatz von Giften die Phagozytose beeinflusst wird.

Setzt man zu den Röhrchen geringe Mengen von Chloroform oder macht man die Versuche mit Phenolkochsalslösung, so bleibt die Phagozytose aus. Offenbar sind die Leukozyten hier sehr empfindlich und es eröffnet sich in der experimentellen Beeinflussung der Phagozytose ein grosses und dankbares Untersuchungsfeld, dessen Bearbeitung uns aber von unserem Ziele zu weit entfernen würde. Nur darauf möchte ich aufmerksam machen, dass grössere Mengen von phenolhaltigem Serum nicht zu derartigen Versuchen geeignet sind und sehr leicht hierdurch Fehlerquellen unterlaufen könnten.

Folgende Versuche mögen die störende Wirkung des Phenols und Chloroforms demonstrieren:

Beeinflussung der Phagozytose durch chemische Gifte:

Phenol	Phagozytose	Chloroform	Phagozytose
Kultur + Karbolkochsalzlösung + Leukozyten	○	Kultur + Chloroform + Leukozyten	○
Kultur + Karbolkochsalzlösung + 0,2 akt. Rinder-Serum und Leukozyten	○	Kultur + Chloroform + 0,2 akt. Rind-Serum + Leukozyten	○

Kontrolle: Kultur + 0,2 Rind-Serum + Leukozyten: komplette Phagozytose.

Bindung der Opsonine an die Pneumokokken.

Die nächste bei der Analyse des Phagozytosemechanismus zu untersuchende Frage war folgende: Wie wirken die Opsonine des Serums?

Nach Metschnikoff soll es Stimuline geben, welche die Leukozyten zur Phagozytose anregen, nach Wright und seiner Schule sollen die Bakterien von den Opsoninen beeinflusst werden.

Dies letztere trifft in der Tat auch für die Pneumokokken zu. Die Opsonine werden von den Pneumokokken und nicht etwa von den Leukozyten gebunden.

Ich habe dies zunächst durch folgenden Absorptionsversuch entscheiden können:

0,5 ccm aktives Rinder-Serum wurde mit 0,5 ccm Pneumokokken-Bouillon-Kultur (Stamm Bohm) 1 Stunde bei 37° digeriert, nach Abzentrifugieren der Kokken wurden fallende Mengen der Flüssigkeit mit frischen Leukozyten und frischer Kultur versetzt.

0,2 ccm (= 0,1 Serum) + Kultur 0,04 + Leukozyten: Keine Phagozytose.

0,1 ccm (= 0,05 Serum) + Kultur 0,04 + Leukozyten: Keine Phagozytose.

Kontrollen: Leukozyten allein + Kultur: Keine Phagozytose.

Die abzentrifugierten Kokken + Leukozyten: Stärkste Phagozytose. (siehe Abbildung).

Nun wurde dieselbe Menge des Rinderserums mit Leukozyten digeriert, die abzentrifugierten Leukozyten zeigten nach einmaliger Waschung in Kochsalzlösung bei Zusatz von Pneumokokken keine

Phagozytose. Es unterliegt also keinem Zweifel, dass die Opsonine von den Pneumokokken, und nicht etwa von den Leukozyten gebunden werden.

Der Kokkus wirkt also durchaus nicht stimulierend auf die Leukozyten. Durch Absorption mit Pneumokokken können dem Serum die Opsonine vollkommen entzogen werden, so dass nach der Absorption und Abzentrifugieren der Kokken das restierende Serum nicht im geringsten mehr phagozytierend wirkt.

Tatsachen aus der Opsoninforschung.

Zur Phagozytose müssen die Opsonine von den Pneumokokken gebunden werden, es gibt keine Stimuline für die Leukozyten.

Veränderungen der Pneumokokken im Tierkörper.

Bevor ich in der Analyse der Opsoninwirkung des normalen Serums fortfahren kann, ist es im Interesse des Verständnisses dieser komplizierten Fragen notwendig, dass wir uns jetzt einmal den Pneumokokken selbst zuwenden.

Wir haben in einem der früheren Kapitel einfach die Tatsache vorweggenommen, dass sich die sämtlichen Pneumokokkenstämme in zwei Gruppen trennen lassen, in solche, welche sich ganz glatt in die Meerschweinchenleukozyten aufnehmen lassen und solche Stämme, welche nicht die geringste Phagozytose aufweisen.

Es gilt nun diese Verhältnisse aufzuklären, denn hier handelt es sich um einen ausserordentlich wichtigen Punkt der ganzen Infektionslehre.

Zunächst teile ich aus meinen Versuchen die Tatsache mit, dass eine einmalige Passage eines Pneumokokkenstammes durch den Mäusekörper bereits hinreichen kann, um denselben vollkommen der Phagozytierbarkeit durch normales Rinderserum und durch normales Meerschweinchenserum zu berauben.

Die auffallendsten Erscheinungen bei derartigen Versuchen sind die morphologischen Veränderungen der Pneumokokken, welche dieselben im Tierkörper durchmachen.

Dieselben sind aus den beigegebenen Abbildungen ohne weiteres zu erkennen. Während an dem genuinen Menschenstamm Kapseln

nur sehr mangelhaft entwickelt sind, sind die aus dem Tierkörper gezüchteten Pneumokokken, wie längst bekannt ist, von mächtigen Kapseln umgeben.

Wir stellen also für die Pneumokokken fest: Bei der Tierpassage erwirbt der Pneumokokkus eine grössere Virulenz, d. h. viel weniger Exemplare sind imstande, ein Tier zum Tode zu bringen. Zweitens sehen wir an diesen Pneumokokken morphologische Veränderungen und drittens verlieren diese Pneumokokken vollkommen die Phagozytierbarkeit.

Diese Beobachtungen schliessen sich an diejenigen an, welche schon früher von Gruber¹⁾, Löhlein²⁾, Bail³⁾ etc. an anderen Bakterien gemacht worden sind.

Was in dieser Beziehung für den tierischen Organismus gilt, trifft auch für den menschlichen Organismus zu. Wir können uns bei Fällen von *Ulcus serpens*, die anfangs milde aussehen, dann aber doch weiterschreiten, und besonders bei den malignen Formen sehr leicht davon überzeugen, dass bei dieser Steigerung der Pathogenität die eben geschilderte biologische Umstimmung der Pneumokokken erfolgt.

Ein typisches Beispiel war der Stamm Pratz, dessen Kultur abgebildet ist. Derselbe bekam morphologisch bei der ersten Tierpassage und auch bei der weiteren Progression des malignen Geschwürs ein Aussehen, dass er an den *Streptococcus mucosus* erinnerte. Und doch handelte es sich bei ihm um einen echten Pneumokokkus, wie später durch die spezifische Schutzwirkung des Serums von mir festgestellt werden konnte.

Dieser Stamm Pratz wurde nach der ersten Abimpfung vom *Ulcus serpens* noch sehr gut durch aktives Rinderserum und Meerschweinchen-Leukozyten phagozytiert. Schon nach wenigen Tagen aber, als das *Ulcus maligne* weiterging, hatte er diese Phagozytierbarkeit durch Rinderserum vollkommen eingebüsst.

1) Gruber, Über Infektion und Resistenz beim Milzbrand. Zentralbl. f. Bakt. Bd. 38, 1906.

2) Löhlein, Zentralbl. f. Bakt. 1906. Referate.

3) Bail, Morphologische Veränderungen der Bakterien im Tierkörper. Wien. klin. Wochenschr. 1906, Nr. 43.

Beziehungen der Opsonine zu den Hämolysinen der normalen Sera.

Jetzt können wir zur weiteren Analyse der Opsoninwirkung des normalen Serums auf die Pneumokokken zurückkehren.

Wir haben gesehen, dass zur Phagozytose die Bindung zum mindesten einer thermolabilen Substanz des Serums an die Pneumokokken notwendig ist. Denn erstens wird die Opsoninwirkung durch Inaktivierung des Serums aufgehoben und zweitens kann man durch elektive Absorption mittelst Pneumokokken einem Serum die phagozytierenden Substanzen entziehen.

Wenn nun hochvirulente Pneumokokken durch Tierpassage die Phagozytierbarkeit eingebüsst haben, so muss meines Erachtens die Frage entschieden werden, wie sich solche Stämme den Opsoninen gegenüber verhalten.

Am nächsten würde die folgende Vorstellung liegen: Phagozytierbare Stämme binden die Opsonine, tierische Pneumokokken werden sich vielleicht so verändert haben, dass sie die Opsonine nicht mehr binden.

Das Gegenteil ist aber der Fall, wie wir gleich sehen werden. Gleichzeitig mit diesem Versuch habe ich nun noch die Prüfung der Frage verbunden, ob die Opsonine mit den Komplementen des Serums etwas zu tun haben.

Die Komplemente sind die einzigen thermolabilen Körper, die wir bisher im Serum genauer kennen, mit Ausnahme weniger Angaben über thermolabile Ambozeptoren. Nun wissen wir jetzt, dass auch die phagozytierenden Substanzen des Serums eine Temperatur auf 50–60° nicht vertragen. Es fragt sich daher: gehen hier mehrere thermolabile Substanzen neben einander her, sind Opsonine von den Komplementen verschieden, oder aber sind diese Substanzen untereinander identisch?

Die Versuche wurden in der Weise angestellt, dass fallende Mengen des Serums mit einer bestimmten Menge frischer Pneumokokkenbouillonkultur 1 Stunde bei 37° digeriert wurden. Nach Abzentrifugieren der Pneumokokken und Abhebern der Flüssigkeit wurde dann geprüft, ob dieselbe einerseits noch phagozytierend wirkt, andererseits, ob dieselbe noch die Hämolysine für bestimmte Blutarten enthielt:

Zunächst teile ich folgenden Versuch mit:

Tatsachen aus der Opsoninforschung.

Durch Absorption des aktiven Rinderserums mit genuinen *Ulcus serpens*-Stämmen wird dem Serum sowohl die phagozytierende wie die hämolytische Wirkung entzogen.

Versuch mit Stamm Bohm.

Menge d. akt. Rind-Serums	Hämolytischer Titre auf 1,0 ccm 5% Meerschwein.-Blut	Hämolytische Wirkung nach Absorption mit 0,2 ccm P.K.-Kultur	Opsonin-Wirkung auf 0,05 Kultur	Opsonin-Wirkung nach Absorption mit 0,2 Kultur
0,04	deutliche Hämolyse	O	+ fast kompl. Phagozytose	O
0,06	fast komplett	O	+ " " "	O
0,08	komplett	O	+ komplette " "	O
.1	"	O	+ " " "	O
0,2	"	O	+ " " "	O

Versuch mit Stamm Pratz, genuin.

Menge d. akt. Rind-Serums	Hämolytischer Titre auf 1,0 ccm 5% Meerschwein.-Blut	Hämolytische Wirkung nach Absorption mit 0,2 ccm P.K.-Kultur	Opsonin-Wirkung auf 0,05 Kultur	Opsonin-Wirkung nach Absorption mit 0,2 Kultur
0,04	deutliche Hämolyse	O	deutliche Phagozytose	O
0,06	fast komplett	O	" " "	O
0,08	komplett	O	fast kompl. Phagozytose	O
0,1	"	O	komplette Phagozytose	O
0,2	"	O	" " "	O

Versuch mit Stamm Pratz, Passage durch Maus.

Menge d. akt. Rind-Serums	Hämolytischer Titre auf 1,0 ccm 5% Meerschwein.-Blut	Hämolytische Wirkung nach Absorption mit 0,2 ccm P.K.-Kultur	Opsonin-Wirkung auf 0,05 Kultur	Opsonin-Wirkung nach Absorption mit 0,2 Kultur
0,04	deutliche Hämolyse	O	O	O
0,06	fast komplett	O	O	O
0,08	komplett	O	O	O
0,1	"	O	O	O
0,2	"	O	O	O

Dieser Versuch ergibt folgende wichtige Resultate:

1. Die genuinen Menschenstämme werden wieder vom aktiven normalen Rinderserum phagozytiert.

2. Bei einer einmaligen Passage durch die Maus können derartige Stämme ihre Phagozytierbarkeit vollkommen einbüßen.

3. Durch Absättigung des Rinderserums mit solchen Pneumokokken lässt sich dem Serum das Opsonin tatsächlich, wie wir schon gesehen haben, vollkommen entziehen, d. h. die Pneumokokken nehmen diese Substanzen in sich auf.

4. Absättigung des Rinderserums mit solchen Stämmen entzieht dem Rinderserum aber auch eine hämolytische Komponente, denn die Hämolysinwirkung des absorbierten Rinderserums wird vollkommen aufgehoben. Man muss daher daran denken, dass, da das Opsonin eine thermolabile Substanz ebenso wie das Komplement ist, das Opsonin mit dem hämolytischen Komplement identisch ist.

5. Die auffallendste Erscheinung ist aber die, dass die nicht phagozytierbaren Passagekulturen ebenfalls die Hämolysinkomponente an sich binden, und trotzdem nicht vom Serum phagozytiert werden können.

Nun gibt es folgende Möglichkeiten: Entweder ist das Opsonin nicht identisch mit dem Komplement, dann müssten die phagozytierbaren Stämme sowohl das Opsonin wie das Komplement verankern. Denn durch die Absorption des Serums mit Pneumokokken verschwindet sowohl die phagozytierende wie die hämolytische Fähigkeit des Serums. Oder das Opsonin ist doch identisch mit dem Komplement. Wie erklärt sich dann die Erscheinung, dass tatsächlich alle Pneumokokkenstämme, wie ich mich überzeugt habe die Hämolysinkomponente verankern, und doch nur die menschlichen genuinen Stämme phagozytiert werden?

Wir können die Lösung dieser für die ganze Pneumokokkenpathologie und damit auch für die Pathologie des *Ulcus serpens* bedeutsamen Frage nur dadurch erreichen, dass wir folgende Möglichkeit experimentell prüfen:

Angenommen, die Passage durch den tierischen Organismus verändere einen Pneumokokkenstamm derartig, dass er wohl das Hämolysinkomplement bindet, aber das Opsonin nicht mehr aufnimmt wie im genuinen Zustand:

Dann muss nach Absättigung des Serums mit dem Passagestamm dasselbe noch einen genuinen Stamm phagozytieren.

Dies ist aber nicht der Fall, wie der folgende Versuch demonstrieren möge:

Die virulenten Pneumokokken binden die Opsonine des Serums noch genau so gut wie die avirulenten Stämme, sind aber trotzdem für die Phagozytose vollkommen unzugänglich geworden:

Versuch:

Absättigung des aktiven Rinderserums mit Passage-Pneumokokken hebt auch die phagozytierende Wirkung auf genuine Stämme auf, und die Passage-Stämme werden trotz Bindung der Opsonine nicht phagozytierbar.

Aktives Rind-Serum	Phagozytose			Hämolyse auf Meersch.-Blut			
	mit 0,2 Passage abgesättigt, Prüfung auf Benke	mit 0,2 Benke abgesättigt, Prüfung auf Benke	Kontrolle der Phagozytierung von Passage	Kontrolle der Phagozytierung von Benke	Hämolyt. Titre nach Absättigung mit Benke	Hämolyt. Titre nach Absättigung mit Passage	Kontrolle des Hämolyt. Titres
0,002	○	○	○	○	○	○	○
0,004	○	○	○	○	○	○	○
0,006	○	○	○	○	○	○	○
0,008	○	○	○	vereinz. Phagozyt.	○	○	○
0,01	○	○	○	" "	○	○	○
0,02	○	○	○	" "	○	○	Spürchen
0,04	○	○	○	Zunahme d. Phagoz.	○	○	Spur
0,06	○	○	○	" "	○	○	deutlich
0,08	○	○	○	Starke Phagozytose	○	○	fast komplett
0,1	○	○	○	" "	○	○	komplett
0,12	○	○	○	" "	○	○	"
0,14	○	○	○	" "	○	○	"
0,16	○	○	○	" "	○	○	"
0,18	○	○	○	" "	○	○	"
0,2	○	○	○	" "	○	○	"

Wir sehen also: ein nicht phagozytierbarer Pneumokokken-Stamm bindet die Opsonine des Serums genau in derselben Weise wie ein phagozytierbarer Stamm und lässt sich trotzdem nicht in die Phagozyten aufnehmen wie ein anderer phagozytierbarer Stamm:

Wir können daraus schliessen: Von der Veränderung, welche der Pneumokokkus bei der Tierpassage erfährt und welche mit

dem Erwerb und der Steigerung seiner Virulenz und Pathogenität einhergeht, wird nicht seine Bindungsfähigkeit für Opsonine des Serums betroffen.

Es müssen vielmehr noch andere Veränderungen sein, welche sich in der chemischen Zusammensetzung des Pneumokokkus bei der Tierpassage abspielen. Gerade diese Veränderungen müssen es sein, auf welchen die Kraft der Pathogenität beruht.

Die mikroskopische Untersuchung ergibt nun, dass der Pneumokokkus innerhalb des tierischen Organismus vor allem eine Steigerung in der Kapselentwicklung aufweist. Wir werden daher wohl kaum fehlgehen, wenn wir auch zur Erklärung der Pathogenität annehmen, dass dieselbe an die Entwicklung oder Vermehrung besonderer chemischer Gruppen im Bau des Pneumokokkus gebunden ist.

Bezeichnen wir diese Gruppen nach der Anschauungsweise der Immunitätsforschung als Rezeptoren, so können wir sagen, dass die spezifische Pathogenität eines Pneumokokkus auf seiner Fähigkeit beruht, innerhalb des Organismus spezifische Rezeptoren der Virulenz zu produzieren. Dieselben sind die Träger seiner Aggressivität. Auf diese Weise lässt sich sehr gut die Aggressinlehre Bail's mit der Vorstellung anderer Autoren in Übereinstimmung bringen.

Nur stelle ich mir nicht vor, dass die Pneumokokken diese Stoffe im Organismus als Sekretionsprodukte abgeben, sondern dass dieselben einen integrierenden Bestandteil der Zellsubstanz der Pneumokokken bilden. Diese Substanzen können unter geeigneten Bedingungen in die Körperflüssigkeiten übertreten.

Das wird z. B. der Fall sein bei den Bail'schen Exsudaten, in denen zahlreiche abgetötete und in Auflösung begriffene Kokken vorhanden sind. Dann haben wir die Aggressine vor uns, die wie Bail gezeigt hat, in der Tat ein Wachstum untertödlicher Dosen im Tierkörper ermöglichen. Derartige Aggressine kann man auch vor allem aus virulenten Kulturen gewinnen, wie Wassermann und andere nachgewiesen haben.

Auf jeden Fall muss die Pathogenität auf der Ausbildung derartiger Substanzen beruhen, denn wir sehen ja, dass Pneumokokkenstämme, die nicht pathogen sind, schnell der Phagozytose erliegen.

Bisher haben wir festgestellt, dass zur Phagozytose kurz gesagt die Bindung thermolabiler Substanzen unbedingt erforderlich ist, dass andererseits Passagekulturen diese Substanzen ebenfalls binden können ohne phagozytiert zu werden. Die folgenden Versuche erbringen nun den Beweis, dass auch aus denjenigen Seris, welche zusammen mit Meerschweinchenleukozyten und Pneumokokken überhaupt nicht phagozytierend reagieren können, die Pneumokokken die thermolabilen Komponenten der Hämolysine binden.

Aufhebung der Hämolysin-Wirkung normaler Sera nach
Absorption mit Pneumokokken.

Hämolysin des Schweinsserum für Meerschweinchen-Blut.

Serum-Menge	Hämolytischer Titre	Absorbiert mit 0,2 ccm Stamm Benke	Absorbiert mit 0,2 ccm Passage- kultur
0,002	O	O	O
0,004	O	O	O
0,006	O	O	O
0,008	O	O	O
0,01	O	O	O
0,02	O	O	O
0,04	Spur	O	O
0,06	deutlich	O	O
0,08	"	O	O
0,1	"	O	O
0,12	"	O	O
0,14	"	O	O
0,16	"	O	O
0,18	fast komplett	O	O
0,2	komplett	O	O
0,22	"	O	O
0,24	"	O	O
0,26	"	O	O
0,28	"	O	O
0,3	"	O	Spur

Hämolysin des Schweineserums für Hammelblut.

Serum-Menge	Hämolytische Titre	nach Absorption mit 0,2 ccm Stamm Benke	nach Absorption mit 0,2 ccm Passage
0,002	O	O	O
0,004	O	O	O
0,006	O	O	O
0,008	O	O	O
0,01	O	O	O
0,02	Spur	O	O
0,04	"	O	O
0,06	deutlich	O	O
0,08	fast komplett	O	O
0,1	komplett	O	O
0,12	"	O	O
0,14	"	O	O
0,16	"	O	O
0,18	"	O	O
0,2	"	O	O

Diese Erscheinung, dass die Pneumokokken auch die Komplemente von Serumarten binden, die mit Meerschweinchenleukozyten nicht phagozytierend wirken, deutet wieder darauf hin, dass diese Bindung allein noch nicht genügt zur Phagozytose, sondern es müssen wieder in den Leukozyten korrespondierende Affinitäten vorhanden sein, welche den spezifischen chemotaktischen Reiz auf die Zellen abgeben.

Die Frage, wie sich nun die Leukozyten aller dieser Tierarten dieser Komplementabsorption gegenüber, und damit in bezug auf die Phagozytose verhalten, habe ich nicht prüfen können. Es würde sich aber wohl bei zukünftigen Untersuchungen herausstellen, dass Serum und homologe Leukozyten in den meisten Fällen bezüglich der Phagozytosemöglichkeit in positiver Weise auf einander eingestellt sind.

Durch alle diese beschriebenen Versuche wurde ich mehr und mehr zu der Erkenntnis geführt, dass die von Wright als Opsonine bezeichneten thermolabilen Substanzen des normalen Serums gar keine neuen Körper sind, sondern mit den uns seit langem bekannten Komplementen identisch sind.

Würde diese Anschauung richtig sein, so würden wir, wie wir sehr bald sehen werden, einen neuen Weg betreten können, auf dem wir in der Erforschung der Pneumokokkenserum-Wirkung weiter kommen müssen.

Es galt daher für die Annahme der Identität der Opsonine mit den Komplementen und speziell mit den hämolytischen Komplementern nach weiteren Beweisen zu suchen.

Die Sache liegt so: Wenn beispielsweise das aktive normale Rinderserum zusammen mit Meerschweinchenleukozyten einen Pneumokokkenstamm phagozytiert und ferner auch auf eine Blutart hämolytisch wirkt, so ist immerhin noch möglich, dass der Pneumokokkus nicht bloss die Komplemente, sondern auch die Ambozeptoren der Normalsera mit bindet. Wir wissen ja mit Sicherheit, dass auch die Hämolysinwirkung durch die Kombination der Ambozeptoren mit der Komplementwirkung zustande kommt. Nun geht bei der Inaktivierung allein infolge der Veränderung des Komplementaufbaues die Hämolysinwirkung verloren. Wird durch die Inaktivierung auch die Phagozytosewirkung aufgehoben, so ist immerhin die Möglichkeit noch keineswegs ausgeschlossen, dass an der gesamten Phagozytosereaktion auch die Ambozeptoren der Normalsera einen ebenso wichtigen Anteil haben wie an der Hämolysinwirkung.

Würde dies der Fall sein, so müsste trotzdem beispielsweise die Anschauung Neufeld's modifiziert werden.

Neufeld behauptete für das Pneumokokkenimmenserum, dass die Pneumokokken durch die Bindung eines thermostabilen bakteriotropen Antikörpers zur Phagozytose befähigt würden. Wir wissen aber jetzt mit Sicherheit, dass hierzu zunächst die Bindung einer thermolabilen Substanz unbedingt erforderlich ist.

Es fragt sich jetzt nur: Werden bei der Opsoninwirkung von den Pneumokokken die thermolabilen Substanzen allein gebunden oder findet ausserdem noch die Bindung einer thermostabilen Substanz statt?

An den Hämolysinen der Normalsera ist diese Entscheidung sehr schwierig und meines Erachtens nicht mit hinreichender Sicherheit zu erbringen, weil wir ja bei der Komplettierung des inaktivierten Serums — es kommt für uns ja nur bei Meerschweinchenleukozyten das Rinderserum in Betracht — immer wieder im homologen Serum kein isoliertes Komplement in den Händen haben

Es mussten daher Versuche mit Meerschweinchenserum, welches sowohl phagozytierend wirkt als auch hinreichend isoliertes Komplement liefert, geeignet sein, Licht auf unsere Frage zu werfen:

Ein hierher gehöriger Versuch ist folgender:

In demselben wurden von beiden Komponenten eines hämolytischen Systemes jede Komponente für sich auf ihre Bindungsfähigkeit mit den Pneumokokken geprüft.

Isolierte Bindung des Meerschweinchsen-Komplementes in den Pneumokokken.

Meerschw.-Serum als Komplement	HämolytischerTitre für 5% Rindblut mit 0,02 ccm Rindblut Ambozeptor von Kaninchen	HämolytischerTitre nach Absorption des Komplementes mit 0,5 ccm Pneumokokken-Kultur. Zusatz von 0,02 ccm Ambozeptor	Rindblut. Ambozeptor d. Kaninchens	HämolytischerTitre mit 0,1 ccm Meerschweinchsen-Komplement	nach Absorption der Ambozeptor mit 0,5 ccm Kultur. Zusatz von 0,1 ccm Komplement
0,001	Spur Hämolyse	○	0,001	Spürchen	○
0,002	Spürchen	○	0,002	"	Spürchen
0,003	"	○	0,003	deutlich	"
0,004	"	○	0,004	"	"
0,005	"	○	0,005	fast komplett	deutlich
0,006	deutlich	○	0,006	"	"
0,007	"	○	0,007	"	fast komplett
0,008	fast komplett	○	0,008	komplett	komplett
0,009	"	○	0,009	"	"
0,01	kompl. Hämolyse	○	0,01	"	"
0,02	"	○	0,011	"	"
0,03	"	○	0,012	"	"
0,04	"	○	0,013	"	"
0,05	"	○	0,014	"	"
0,06	"	○	0,015	"	"
0,07	"	○	0,016	"	"
0,08	"	○	0,017	"	"
0,09	"	○	0,018	"	"
0,1	"	○	0,019	"	"
0,2	"	○	0,2	"	"

Der Versuch ergibt sehr deutlich, dass von diesem gewählten hämolytischen System nur das Komplement, und nicht der Ambozeptor von den Pneumokokken gebunden wird. Da diese Bindung

aber auch die Phagozytose bedingt, so schliesse ich daraus, dass die Opsonine mit den hämolytischen Komplementen zusammenfallen.

Die Opsonine für Pneumokokken sind demnach gar keine neuen Antikörper, wie die Wright'sche Schule annimmt, sondern sind mit den hämolytischen Komplementen des normalen Serums identisch.

Nach dieser Feststellung habe ich dann den Einfluss verschiedener Temperaturen auf diese Bindungsfähigkeit der Pneumokokken den Komplementen gegenüber untersucht. Dabei zeigte sich, dass die komplementbindende Substanz der Pneumokokken hitzebeständig ist, eine Temperatur von 100° aushält.

Und endlich liess sich in Versuchen sehr schön der Parallelismus zwischen Komplementbindung und Opsoninwirkung demonstrieren:

Parallelismus zwischen Komplement- und Opsonin-Wirkung.

Meerschwein. Komplement	Hämolyse bei Verwendung von 0,01 ccm Rindblut-Ambozeptoren vom Kaninchen	Phagozytose
0,001	O	O
0,002	O	O
0,003	O	O
0,004	O	O
0,005	O	O
0,006	O	O
0,007	Spürchen Hämolyse	Sehr vereinzelte Phagozytose
0,008	Spur	Vereinzelt
0,009	deutlich	"
0,01	fast komplett	Zunahme der Phagozytose
0,02	"	"
0,03	"	Starke Phagozytose
0,04	komplett	"
0,05	"	"
0,06	"	"

Bei denselben Mengen aktiven Meerschweinchenserums, bei denen die hämolytische Komplementwirkung erkennbar wird, zeigt sich auch der Beginn der Phagozytosewirkung.

Die Versuche ergeben also unzweifelhaft folgendes: Benutzt man ein lytisches System, das in diesem Falle von einem Kom-

plement des Meerschweinchenserums und einem hämolytischen Ambozeptor des Kaninchenserums gebildet wird, so lässt sich deutlich nachweisen, dass von den Pneumokokken nur das Komplement des Meerschweinchenserums gebunden wird.

Wir wissen jetzt, dass damit gleichzeitig bei einem geeigneten Stamm die Phagozytierbarkeit des Pneumokokkus gewährleistet ist und es ist ja durchaus selbstverständlich, dass der hämolytische Ambozeptor nicht verankert wird, weil demselben seiner Herkunft nach jede spezifische Beziehung zur Bakterienzelle fehlt.

Dieser Versuch spricht meines Erachtens sehr dafür, dass allein schon die Bindung des Komplementes an die Bakterienzelle für die Phagozytosereaktion hinreichend ist.

Freilich weiss ich sehr wohl, dass in der verwendeten Menge des als Komplement dienenden aktiven Meerschweinchenserums ausser den Komplementen noch geringe Mengen auch von Normalambozeptoren enthalten sind. Es gibt kein wirklich ganz isoliertes Komplement. Aber hier ist unserer Erkenntnis eine Grenze gezogen. Wenn daher die Vertreter der Anschauung sagen würden, dass zur Oponinwirkung ausser der thermolabilen Substanz noch geringe Spuren von thermostabilen Gruppen nötig sein könnten, die in jenen geringen Mengen Meerschweinchenserums noch enthalten sein könnten, so kann ich das zunächst beim Normalserum ebensowenig widerlegen, als diese Autoren meine Anschauung widerlegen können, dass die Oponine nur Komplemente seien.

Aber ich glaube, dass meine Anschauung die grössere Wahrscheinlichkeit für sich hat. Die Tatsache bleibt bestehen, dass die Pneumokokken dem Serum die Komplemente und damit gleichzeitig die opsonisch wirksamen Substanzen entziehen.

Ich habe noch einen weiteren Anhaltspunkt für meine Anschauung. Wir sehen, dass nicht nur eine Kokkenart, sondern geradezu fast alle Bakterienarten mit geringen Ausnahmen zur Phagozytose befähigt sind. Wir mögen Bazillen, Kokken, Vibrionen und andere Arten nehmen, alle können schliesslich von den Phagozyten aufgenommen werden. Wenn zu dieser Aufnahme der meisten Bakterienarten eine thermolabile Substanz des Serums erforderlich ist, so müsste es eine ungeheure Zahl von Oponinen geben. Der Weg, dies zu entscheiden, ist durch die Ehrlich'sche elektive Absorption gegeben.

Ich konnte naturgemäss die Frage nicht für alle Bakterienarten untersuchen, weil dies mich von meinem Ziel zu weit abgeführt haben würde. Ich beschränke mich daher auf die Mitteilung der Tatsache, dass beispielsweise die leicht phagozytischen Diplobazillen dem Meerschweinchen-Serum der hämolytischen Komplemente und damit gleichzeitig die Opsonine für Pneumokokken entziehen.

Die bisherigen Versuche führen uns also zu der Erkenntnis, dass die Wright'schen Opsonine des Normalserums für Pneumokokken nichts anderes sind als die uns schon seit langem bekannten thermolabilen Komplemente des Serums.

Ist das aber der Fall, dann kann unmöglich die Wirkung des Pneumokokkenimmuserums, welches wir zur Behandlung der *Ulcera serpentina* verwenden, darin bestehen, dass die Pneumokokken durch dasselbe zur gesteigerten Phagozytose gebracht werden. Denn wir wissen schon seit langer Zeit auf Grund der Versuche von Dungern's, von Sachs etc., dass die Komplemente einer erheblichen Vermehrung bei der Immunisierung nicht fähig sind.

Der Komplementgehalt des Serums ist vielmehr nur ganz geringen Schwankungen unterworfen und das Immuserum enthält dieselbe Menge von Komplement wie das Normalserum.

Wir wissen ferner, dass die Komplemente schon in kurzer Zeit sich verändern und in dem im Handel befindlichen Serum überhaupt nicht mehr in wirksamer Form vorhanden sind.

Ist trotzdem ein solches Serum therapeutisch oder im Tierversuch wirksam, so kann unmöglich eine Opsoninwirkung des Serums vorliegen, es müssten dann, da thermolabile Substanzen zur Phagozytose erforderlich sind, wieder thermolabile Substanzen des Körpers hinzutreten.

Wir werden noch sehen, wie sich die Wirkung des Pneumokokkenserums in Wirklichkeit gestaltet.

Zunächst sind aber noch einige Reagenzglasversuche erforderlich. Es ist der Versuch gemacht worden, der Zugehörigkeit der Opsonine zu anderen Antikörpern, vor allem zu den Agglutininen, das Wort zu reden. Ich bin nun in der Lage, gerade bei den Pneumokokken in schlagender Weise zu zeigen, dass diese Anschauung unzutreffend ist, und dass die Opsonine mit den Agglutininen nicht das geringste zu tun haben.

Ich habe wiederholt jetzt hervorgehoben, dass für die Opsoninversuche *in vitro* mit Pneumokokken und Meerschweinchenleukozyten vor allem 2 Serumarten in Betracht kommen, das Rinderserum und das Meerschweinchenserum.

Nun enthält das normale Rinderserum für einzelne Pneumokokkenstämme gelegentlich Agglutinine in geringer Konzentration. Beim Rinderserum könnte daher wohl der Gedanke an verwandtschaftliche Beziehungen zwischen Opsoninen und Agglutininen noch auftauchen, wenn auch bereits die Tatsache, dass Agglutinine die übliche Inaktivierung des Serums aushalten, die Opsonine nicht, jeden objektiven Betrachter der Phänomene überzeugen wird, dass die Opsonine mit den Agglutininen nichts zu tun haben werden.

Aber am Meerschweinchenserum lässt sich direkt zeigen, dass Agglutinine hier gar nicht in Betracht kommen. Ich habe in den letzten Jahren mehr als 300 Pneumokokkenstämme unter den Händen gehabt, aber kein einziger wurde vom normalen Meerschweinchenserum auch nur spurweise agglutiniert, während die Opsoninwirkung sehr frappant ist. Wir können also für die Pneumokokken die Anschauung mit Sicherheit zurückweisen, dass Opsonine mit den Agglutininen etwas zu tun haben.

Alle diese Versuche über Phagozytose der Pneumokokken *in vitro* dienen nur als Vorarbeit für die weitere Erkenntnis der Pneumokokkenserumwirkung. Sie ermöglichen uns nunmehr einen Schritt weiter zu gehen.

Wenn ein hochpathogener, virulenter oder aggressiver Pneumokokkus, wie wir gesehen haben, der Phagozytose mit Hilfe der Opsonine des normalen Serums gar nicht anheimfallen kann und durch die Phagozyten nicht unschädlich gemacht werden kann, und trotzdem ein normaler Organismus oder ein immunisierter Organismus eine derartige Infektion noch zu überwinden imstande ist, so muss es hierzu eben für den lebenden Körper noch eine andere Möglichkeit geben, die pathogenen Pneumokokken zu überwinden.

Und diese Möglichkeit zu finden, heisst die wahre Immunität gegen Pneumokokken aufdecken.

Ich stelle mir die Pneumokokkeninfektion und ihre Heilung zunächst folgendermassen vor:

Gegen eine Infektion mit einem Pneumokokkus von geringer Virulenz oder fehlender Pathogenität ist der normale Organismus mittelst seines Phagozytosemechanismus von vornherein gerüstet. Derartige Keime verfallen mittelst der Opsonine des normalen Serums der Phagozytose.

Aber auch gegen einen pathogenen Stamm sind nur wenige tierische Organismen von vornherein völlig wehrlos. Der tierische Organismus muss imstande sein, mit besonderen Gegenkörpern die Entfaltung der Virulenzrezeptoren in Schranken zu halten. Wo dies nicht möglich ist, da haben wir es mit einem hochempfindlichen Organismus zu tun, der selbst der Infektion durch wenige Keime erliegt.

Ist es aber in einem anderen Organismus möglich, durch vorhandene oder bei der Infektion und Immunisierung gebildete Antikörper die Virulenzrezeptoren zu binden und ausser Funktion zu setzen, so wird auch in bestimmten Grenzen die Überwindung eines virulenten Pneumokokkus möglich sein. Dann werden selbst derartige virulente Pneumokokken, auch wenn sie nicht phagozytierbar sind, schliesslich den normalen bakteriziden Kräften des Serums erliegen oder zum mindestens wird eine weitere Ausbreitung derartiger Keime verhindert werden.

Ich glaube daher, dass wir es bei der Heilung einer Infektion mit virulenten Pneumokokken, mit einer besonderen Art von Antikörpern zu tun haben, die sich in spezifischer Weise gegen die Virulenzrezeptoren derartiger Keime wenden.

Ich glaube nicht mehr, dass einfache bakterizide Antikörper bei der Pneumokokkenimmunität gebildet werden, wie bei der Bakteriolyse der Choleravibrionen.

Und doch ist in letzter Linie die Pneumokokkenimmunität eine bakterizide, nur ist sie keine direkte, sondern indirekte. Die Bakterizidie wird nicht von Immunkörpern geleistet, sondern von den bakteriziden Stoffen des normalen Serums. Sie wird aber erst ermöglicht durch besondere Antikörper, welche gegen die Virulenz oder Aggressiv-Rezeptoren gerichtet sind. Erst durch die Paralyse dieser Substanzen, auf denen die Pathogenität beruhen muss, wird es dem Organismus möglich, auch solche Kokkenstämme zu überwinden, welche für die Phagozytose nicht zugänglich sind. Der Organismus erreicht nach meiner Überzeugung auf

diesem Umwege bei derartigen Keimen schliesslich dasselbe, was er bei der spezifischen Bakteriolyse anderer Mikroorganismen sofort bezweckt. Ich habe diese Auffassung der Pneumokokken-Immunität deshalb schon an dieser Stelle eingeschaltet, weil wir ja versuchen wollen, das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung weiter zu ergründen und weil dies nur möglich geworden ist durch die Handhaben, welche uns die Opsoninwirkung geboten hat.

Es gilt jetzt an der Hand dieser Hypothese zu neuen Tatsachen weiter vorzudringen.

Phagozytose der Pneumokokken bei der aktiven Immunisierung.

Nach der Untersuchung der Pneumokokkenphagozytose unter der Wirkung der Normalsera und erst nach der Erkenntnis der spezifischen Beziehungen zwischen bestimmten Leukozytenarten, Opsoninen und Kokken, ferner der Differenzen in der Phagozytbarkeit der verschiedenen Pneumokokkenstämme können wir uns nunmehr der Prüfung der Frage von der Bedeutung der Phagozytose bei der Pneumokokkenimmunität zuwenden.

Die erste Frage ist naturgemäss die: Entstehen bei der aktiven Immunisierung wirklich bakteriotrope oder opsonische Substanzen? Reagiert der tierische Organismus bei dieser Vorbehandlung mit einer vermehrten Bildung von derartigen Antikörpern?

Wie wichtig hierbei zunächst die Kenntnis dieser Verhältnisse bei dem normalen Serum geworden ist, ergibt sich aus folgendem: Wir haben beispielsweise gesehen, dass das normale Kaninchenserum wohl mit Kaninchenleukozyten, aber nicht mit Meerschweinchen-Leukozyten phagozytierend wirkt. Würden wir nun ein Kaninchen mit Pneumokokken immunisieren und sein Serum mit Hilfe von Meerschweinchen-Leukozyten auf einen vermehrten Gehalt an bakteriotropen Antikörpern untersuchen, so könnte uns eine etwaige Vermehrung dieser Antikörper vollkommen entgehen und wir würden eventuell zu ganz unrichtigen Schlüssen gelangen. Ganz analog würden diese Verhältnisse liegen, wollten wir beispielsweise das Serum eines gut immunisierten Hammels an der Phagozytose mit heterogenen Leukozyten-Arten bemessen wollen. Wir werden sehen, dass es gerade diese von mir bei den Pneumokokken festgestellte spezifische Beziehung der Opsonine zu bestimmten

Leukozyten gewesen ist, welche mich zu einer einigermaßen befriedigenden Vorstellung von der Wirkung des Pneumokokken-Serums geführt hat.

Die Frage nach der Vermehrung bakteriotroper Pneumokokken-Antikörper bei der aktiven Immunisierung habe ich nun auf zwei Wegen zu prüfen gesucht, einmal durch den Reagenzglasversuch und zweitens im Tierversuch.

Reagenzglasversuche über den Gehalt spezifischer Sera an bakteriotropen und opsonischen Pneumokokkenantikörpern.

Würde die Annahme zutreffend sein, dass nach Vorbehandlung eines Tieres mit Pneumokokken im Serum neugebildete bakteriotrope Antikörper erscheinen, so müsste im Reagenzglasversuch analog wie bei der Hämolytin- und Bakteriolytinbildung das Serum imstande sein, in grösseren Verdünnungen als das normale Serum der gleichen Tierart mit genau der gleichen Bakterienmenge und Leukozytenaufschwemmung noch Phagozytose herbeizuführen:

Es wurden also zahlreiche Kaninchen und Meerschweinchen mit den allerverschiedensten Pneumokokkenstämmen auf die mannigfachste Weise vorbehandelt.

Allein dieser Teil der Versuche erstreckt sich auf mehr als vierhundert Tiere.

Ganz gleichgültig, ob man lebende und abgetötete virulente oder avirulente Stämme benutzt, ob man das Serum nach ein- oder mehrmaliger Immunisierung untersucht, das Resultat ist immer das gleiche, wie einige meiner Versuche demonstrieren mögen:

Bei der aktiven Pneumokokken-Immunisierung erfolgt keine vermehrte Bildung von Opsoninen.

Das Pneumokokken-Serum ist daher kein bakteriotropes Serum.

Phagozytose-Wirkung des Meerschweinchen-Immunsersums nach einmaliger intraperitonealer Immunisierung gegenüber dem homologen Stamm.

Serum vom Meerschweinchen Nr. 267, 10 Tage nach intraperitonealer Injektion von 1,0 ccm, Stamm Trabold (*Ulcus serpens*). Prüfung mit Meerschweinchen-Leukozyten und 0,02 ccm Kultur.

$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°		Zusatz von Meerschweinchen-Leukozyten-Aufschwemmung	Phagozytose nach 2 Std. Immunsersum	Phagozytose nach 2 Std. normales Meerschwein.-Serum
Menge des Serums	Kultur Stamm Trabold (Homol)			
0,001	0,02	0,2 ccm	O	O
0,002	"	"	O	O
0,003	"	"	O	O
0,004	"	"	O	O
0,005	"	"	O	O
0,006	"	"	O	O
0,007	"	"	O	O
0,008	"	"	O	O
0,009	"	"	O	O
0,01	"	"	O	O
0,02	"	"	O	vereinzelt
0,03	"	"	vereinzelt	"
0,04	"	"	"	"
0,05	"	"	etwas mehr	etwas mehr
0,06	"	"	"	"
0,07	"	"	"	"
0,08	"	"	"	"
0,09	"	"	"	"
0,1	"	"	meisten Kokken noch frei	kein Unterschied z. Immunsersum

Phagozytose-Wirkung des Kaninchen-Immunsersums.

9 Tage nach intravenöser Injektion von 1,0 ccm Kultur gegenüber dem homologen Stamm.

$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°		Zusatz von Kaninchen-Leukozyten	Phagozytose nach 2 Std. Immunsersum	Kontrolle: Phagozytose n. 2 Std. normales Kaninchen-Serum
Menge des akt. Ser.	Kultur Stamm Bauer (<i>Ulc. serp.</i>)			
0,001	0,03	0,1	O	O
0,005	"	"	O	O
0,01	"	"	O	O
0,02	"	"	höchst vereinzelt	sehr vereinzelt
0,04	"	"	"	"
0,06	"	"	vereinzelt	"
0,08	"	"	"	vereinzelt
0,1	"	"	"	"
0,2	"	"	etwas mehr	"

Phagozytose-Wirkung des Kaninchen-Immunserums.

9 Tage nach intravenöser Injektion von 1,0 ccm Kultur eines lang in vitro fortgezüchteten und avirulent gewordenen Passage-Stammes.

$\frac{1}{2}$ Std. bei 37°		Zusatz von Kaninchen-Leukozyten	Phagozytose nach 2 Std. Immunserum	Kontrolle: Phagozytose n. 2 Std. normales Kaninchen-Serum
Menge des akt. Ser.	Kultur Stamm			
0,001	0,03	0,1	O	O
0,005	"	"	O	O
0,01	"	"	O	O
0,02	"	"	O	O
0,04	"	"	O	O
0,06	"	"	O	O
0,08	"	"	O	O
0,1	"	"	O	O
0,2	"	"	O	O

Die Versuche ergeben also, dass nach einmaliger und mehrmaliger Vorbehandlung mit Pneumokokkenstämmen im Reagenzglasversuch und mit unserer Versuchsanordnung eine vermehrte Bildung von Opsoninen nicht nachweisbar ist.

Es stimmt dies Ergebnis mit meinen früher mitgeteilten Versuchen vollkommen überein, welche darauf hinwiesen, dass die Opsonine mit den Komplementen identisch sein müssen.

Eine Erscheinung kann wenigstens hier nicht übersehen werden. Verdünnt man derartige frisch gewonnene Immunsera und benutzt sie zu Phagozytoseversuchen in vitro, so nimmt man die erste Andeutung von Phagozytose bei den Verdünnungen wahr, welche auch sonst bei Hämolyseversuchen den Beginn der Komplementwirkung erkennen lassen.

Phagozytoseverhältnisse der Pneumokokken in der Peritonealhöhle des Meerschweinchens.

Wie verhält sich den eben geschilderten Verhältnissen gegenüber die Pneumokokkenphagozytose bei aktiver Immunisierung in vivo? Es ist zwar bekannt, dass das Meerschweinchen den Pneumokokken gegenüber kein besonders empfängliches Tier ist und ganz erhebliche Schwankungen in seiner Disposition zeigt. Und doch sind wir in erster Linie auf dieses Tier hierbei angewiesen.

Die Tatsache steht jedenfalls fest, dass es sehr wohl gelingt, Meerschweinchen gegen tödliche Dosen lebender Pneumokokken zu immunisieren und dass uns kein anderes Versuchstier zur Verfügung steht, um die peritoneale Immunitätsreaktion so bequem studieren zu können.

Zunächst müssen wir auch hier die Frage beantworten: Wie verhält sich das normale Tier bezüglich der Pneumokokken-Phagozytose? Den Peritonealversuchen am Meerschweinchen kommt in der Immunitätsforschung eine fundamentale Bedeutung zu, die ihren Höhepunkt in dem Pfeiffer'schen Phänomen, in der Entdeckung der spezifischen Bakteriolyse erlangt hat. Aber gerade hier beginnen sofort die Ansichten in diametraler Richtung auseinander zu gehen. Nach R. Pfeiffer, seiner Schule und seinen Anhängern ist das Wesentliche für das Pfeiffer'sche Phänomen und damit für die spezifische Bakterienimmunität die extrazelluläre Bakteriolyse der Infektionserreger unter der Wirkung der in den Körpersäften gelösten Antikörper. Nach Metschnikoff ist das wesentlichste Moment die Phagozytose und selbst da, wo seine Schule das Vorkommen der extrazellulären Bakteriolyse nicht bestreiten kann, wird die Herkunft, ein Freiwerden der Antikörper aus den Phagozyten in den Vordergrund gestellt. Für Streptokokken und auch für Pneumokokken wird sogar die Phagozytose allein als der ausschlaggebende Faktor der Immunität angesprochen. (Literatur siehe Metschnikoff.)

Soll die Bedeutung dieser Verhältnisse aber für die Pneumokokkenimmunität richtig beurteilt werden, so müssen wir noch einmal von vorn anfangen und dazu sind zunächst einige Vorbemerkungen zur Technik und Auffassung der Peritonealversuche notwendig.

Technik.

Das Verfahren bei dem Pfeiffer'schen Phänomen besteht bekanntlich darin, dass nach Injektion der betreffenden Substanzen mit Kapillarröhrchen von Zeit zu Zeit Exsudatproben zur Untersuchung entnommen werden. Das Wort Exsudat sollte uns hierbei stets daran erinnern, dass wir bereits beim unvorbehandelten Tiere die Versuche wohl an normalen Tieren, aber nicht mehr an normalen Bauchhöhlen ausführen. Normal ist eine solche

Bauchhöhle nur sehr kurze Zeit nach der Infektion, sehr bald treten infolge der gesetzten Reizwirkung auf das Peritoneum sowohl die löslichen Substanzen des Serums als auch die zellulären Elemente in vermehrter Menge in die freie Bauchhöhle über und das ganze Pfeiffer'sche Phänomen beruht bei der aktiven Immunisierung auf der Wirkung dieser aus dem Blute in die Bauchhöhle übertretenden Substanzen und auch bei der passiven Immunisierung beginnt sehr bald nach der Infektion sich der Reiz auf die Bauchhöhle bemerkbar zu machen.

Um mich hierüber genauer zu orientieren, habe ich Herrn Dr. Hesse veranlasst, in einer unter meiner Leitung angefertigten Arbeit den Übertritt der Antikörper des Blutes in die Bauchhöhle auf die verschiedensten Reize hin quantitativ und zeitlich genau zu verfolgen. Diese Reizwirkung auf das Peritoneum ist für das Verständnis des ganzen Pfeiffer'schen Phänomens von Bedeutung.

Nehmen wir sogleich ein Beispiel: Injizieren wir einem normalen Meerschwein eine Dosis Bakterien, so erfolgt in kurzer Zeit je nach der dadurch bedingten Reizwirkung ein Übertritt der gelösten und zellulären Bestandteile des Blutes und es hängt nun der Ausgang der Infektion von der Menge, Virulenz und Art der Kultur einerseits und ihrer Beziehung zu jenen Substanzen des Serums andererseits ab. Diese Verhältnisse sind ja bei der Typhus- und Cholera-Infektion von jeher eifrig untersucht worden. Aber während sich die hierher gehörigen Phänomene in verhältnismässig kurzer Zeit abspielen, im besonderen die Bakteriolyse sich rapide entwickeln kann, liegen die Verhältnisse bei den Pneumokokken, zu denen wir uns nur allein wenden wollen, ganz anders. Hier sind nur bei ganz avirulenten Stämmen die Prozesse in analoger Weise in kurzer Zeit abgelaufen. Bei virulenteren Stämmen sind wir, wie wir noch sehen werden, genötigt, die Beobachtungen über viel längere Zeit, bis zu Tagen auszudehnen, wenn wir uns ein richtiges Bild von den sich hier abspielenden Infektions- und Immunitätsvorgängen machen wollen.

Nun möchte ich darauf aufmerksam machen, dass wir bei der Pneumokokkeninfektion uns in geeigneten Fällen die Beobachtung etwas bequemer machen können, wenn wir die Bauchhöhle zur geeigneten Zeit bereits in einen Reizzustand versetzt haben. Am bequemsten lässt sich dies durch eine intraperitoneale Injektion von 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung erreichen, die mehrere

Stunden vor der Infektion ausgeführt ist. Dieselbe ist früher bei der Untersuchung der nicht spezifischen Resistenzsteigerung schon mehrfach angewandt worden. Dabei treten, wie Hesse jetzt noch einmal genauer verfolgt hat, die Antikörper des Blutes und die weissen Blutzellen in ganz bestimmter Weise auf diesen Reiz hin in die Bauchflüssigkeit über.

Sind aber auf diese Weise die Substanzen und Elemente in der Bauchhöhle vorhanden, so können wir auch bei den Pneumokokken die Phänomene in kurzer Zeit beobachten z. B. unter Verhältnissen, die wir gleich kennen lernen werden, die Phagozytose schon nach Minuten sehen, die sonst bei Verlauf der Infektion erst nach Stunden sichtbar wird.

Phagozytose und Bakteriolyse, die beiden Grundphänomene auch bei der Heilung der peritonealen Pneumokokkeninfektion des Meerschweinchens.

Untersucht man nun objektiv unter Beachtung der angegebenen Gesichtspunkte beim Meerschweinchen die peritoneale Pneumokokkeninfektion unter mannigfachen Bedingungen, so sind unzweifelhaft Phagozytose und extrazelluläre Bakteriolyse die beiden auffallendsten Phänomene.

Die Phagozytoseverhältnisse werden aus den zahlreichen dieser Arbeit beigegebenen Abbildungen leicht zu ersehen sein. Wer aber, wie dies bei den Pneumokokken fast durchweg bisher geschehen ist, nur seine Aufmerksamkeit der Phagozytose zuwendet, kann leicht die extrazelluläre Bakteriolyse übersehen. Ich muss deshalb grossen Wert darauf legen, dass es mit unserer Färbungsmethode ganz besonders deutlich möglich geworden ist, auch die Degeneration der extrazellulären Pneumokokken genau zu verfolgen, die bisher so gut wie gar nicht — nur von Radziewsky — beachtet worden ist. Dieselbe verdient aber unser grösstes Interesse, weil sie für das ganze Verständnis der Pneumokokken-Immunität und Serumwirkung meines Erachtens von grösster Bedeutung ist. Ich habe die verschiedenen Stadien der extrazellulären Bakteriolyse bei 2000 facher Vergrösserung vom Künstler zeichnen lassen und auf einer besonderen Tafel abbilden lassen.

Ganz gleichgültig, ob die Pneumokokken von einem normalen Organismus überwunden werden, oder im aktiv oder passiv immunisierten Organismus vernichtet werden, immer lassen sich mit

Leichtigkeit verschiedene Typen in dem Prozess der extrazellulären Bakteriolyse erkennen.

Zuerst fällt auf, dass zwischen den Kokken vergrösserte Exemplare auftreten, welche mehr als das Dreifache der Grösse eines normalen Pneumokokkus erreichen. Da ein Vergleich mit der Kultur leicht ergibt, dass derartige Exemplare in der injizierten Kultur fehlen, so können wir zunächst einmal feststellen, dass die Pneumokokken extrazellulär unter der Wirkung der freien Körpersäfte eine Quellung erfahren können.

Noch auffallender sind aber die direkten Auflösungserscheinungen. Es färben sich zunächst im Kokkus nur noch Teile des Protoplasmas, der übrige Teil wird blasser und blasser. Schliesslich wird das Protoplasma immer mehr rarefiziert, so dass nur noch die leeren Hüllen übrig bleiben, bis auch diese unsichtbar werden. Wer nur einmal solche Präparate sorgsam studiert hat, zweifelt keinen Moment, dass wir hier die schönste extrazelluläre Bakteriolyse vor uns haben. Besonders lehrreich sind die Bilder, welche häufig die Ketten der Pneumokokken in ihrer Gesamtheit darbieten. Man trifft hier oft alle Stadien der Bakteriolyse an einer einzigen Kette an. Selbst noch kurz vor dem Tode der Tiere ist eine energische extrazelluläre Bakteriolyse vorhanden, wie jeder zugeben wird, der nach unserem Verfahren solche Exsudate untersucht hat. Der tierische Organismus sucht eben bis zum letzten Atemzuge fast seine bakteriziden Kräfte zur Geltung zu bringen. Radziewsky hat schon lange unter Pfeiffer's Leitung die Tatsache festgestellt, dass bei jeder Infektion Vermehrung und Untergang der Keime miteinander einhergehen und hat diese Verhältnisse auch für den Pneumokokkus am Kaninchenohr festgestellt. Meine Versuche bestätigen auch für die intraperitoneale Infektion den Nachweis dieser extrazellulären Bakteriolyse. Erst wenn man diese Bilder gesehen hat, wird es leicht verständlich, dass diese Exsudate aggressive Eigenschaften bekommen können, indem eben selbst bei hochvirulenten Kulturen ein Teil der Pneumokokken zugrunde geht und damit gerade die Stoffe in Lösung gehen können, welche als Träger der von mir bei der Aggressin-Lehre geschilderten Wirkung dieser Exsudate angesehen werden müssen.

Dieser Gesamtkomplex der extrazellulären Degeneration ist stets gemeint, wenn in folgenden Protokollen der Abkürzung halber von Bakteriolyse die Rede ist.

Erkennt man aber eine extrazelluläre Bakteriolyse der Pneumokokken an — und ihre Existenz ist jeden Augenblick zu demonstrieren — dann können wir uns schon aus diesem Grunde der Vorstellung der Autoren nicht anschliessen, dass die Wirkung des Pneumokokkenserums allein darin bestehen soll, dass die Pneumokokken vom Serum zur Aufnahme in die Phagozyten präpariert würden, um in den Zellen schliesslich abgetötet zu werden.

Sondern eine genauere Verfolgung dieser Vorgänge ergibt unzweifelhaft, dass neben der Aufnahme der Kokken in die Zellen auch eine Degeneration der Kokken in der freien Flüssigkeit einhergeht. Wir wollen hierbei noch vollkommen von den Differenzen der Virulenz der Stämme absehen und uns den definitiven Beweis dafür, dass das Wesen des Pneumokokkenserums nicht etwa auf der Phagozytosebeförderung besteht, noch aufsparen.

Die folgenden Versuche werden zeigen, dass eine Bakteriolyse der Pneumokokken sowohl bei der aktiven als auch der passiven Immunisierung nachweisbar ist.

Nur muss man sie in der richtigen Weise und sorgfältig studieren. Dazu ist in erster Linie erforderlich, dass man sich nicht analog den Verhältnissen der Choleraimmunität damit begnügt, nur 1—2 Stunden diese Vorgänge zu verfolgen, sondern man muss die Beobachtung des Versuches über längere Zeit ausdehnen.

Auf Grund dieser Beobachtungen müssen wir ein für alle Male die Tatsache anerkennen, dass für die Pneumokokken sowohl eine intra- als extrazelluläre Bakteriolyse existiert.

Die Sache liegt von vornherein nicht so, dass, wie die Metschnikoff'sche Schule meint, die Phagozytose das allein ausschlaggebende Moment darstellt.

Es fragt sich nur: In welchen Beziehungen stehen beide Phänomene und unter welchen Bedingungen treten dieselben in die Erscheinung?

Phagozytose der Pneumokokken bei der intraperitonealen Infektion des Meerschweinchens und bei Berücksichtigung verschiedener Virulenzgrade.

Auf Grund der früher von mir geschilderten Tatsache, dass das aktive Meerschweinchenserum zu denjenigen Serumarten gehört, welche opsonisch für die Pneumokokken wirken, und dass es ferner

zwei Arten von Pneumokokken oder richtiger zwei Zustände des Pneumokokkus gibt, musste erwartet werden, dass auch in der Bauchhöhle des normalen Meerschweinchens die Phagozytierbarkeit respektive ihr Fehlen bei bestimmten Stämmen sofort in die Erscheinung treten würde. Denn infolge der Infektion müssen die Antikörper des Serums wie die Phagozyten in die Bauchhöhle übertreten und ist der betreffende Stamm überhaupt zur Phagozytose geeignet, so muss derselbe in die Leukozyten aufgenommen werden.

Dass dies der Fall ist, mögen zunächst folgende Versuche demonstrieren:

Phagozytose von P.K. (Ulcus serpens-Stämme) beim normalen Meerschweinchen.

	Stamm Wirt (Ulcus serpens) 1,0 ccm	Stamm Rahmstein (Ulcus serpens) 1,5 ccm	Stamm Bohm (Ulcus serpens) 1,0 ccm Mäusevirulenz 1:200	Stamm Heublein (Ulcus serpens) 1,0 ccm
$\frac{1}{2}$ Std.	Spärlich Lymphozyten	Nur Kokken, noch keine Zellen	Wenig Lymphozyten spärlich Eiterzellen, Kokken noch gut erhalten	Fast ausschliesslich Lymphozyten, einzelne Eiterzellen
$\frac{3}{4}$ Std.	Wenig Leukozyten, Eiterzellen erschienen, noch keine Phagozytose, deutliche extrazelluläre Bakteriolyse	Dasselbe	Dasselbe	Dasselbe
1 Std.	Eiterzellen zunehmend, deutliche Phagozytose u. extrazelluläre Bakteriolyse	Eiterzellen erschienen, Beginn der Phagozytose	Zunahme der Eiterzellen, Beginn der Phagozytose, aber auch extrazelluläre Bakteriolyse	Jetzt Phagozytose, aber auch extrazelluläre Bakteriolyse
$1\frac{1}{2}$ Std.	Zunahme der Phagozytose	Dasselbe	Dasselbe	Dasselbe
2 Std.	Nur noch vereinzelte freie Kokken, starke Phagozytose	Zunahme der Phagozytose und extrazellulären Bakteriolyse	Vermehrte Phagozytose	Kokken in den Zellen blasser, Phagozyten in dichten Haufen, vollgepfropft
3 Std.		Fast keine freien Kokken mehr, alle in Phagozytosen	Noch immer freie Kokken, aber abnehmend, stärkere Phagozytose	Fast nur Eiterzellen, starke Phagozytose

	Stamm Wirt (Ulcus serpens) 1,0 ccm	Stamm Rahmstein (Ulcus serpens) 1,5 ccm	Stamm Bohm (Ulcus serpens) 1,0 ccm Mäusevirulenz 1:200	Stamm Heublein (Ulcus serpens) 1,0 ccm
5 Std.			Nur noch sehr vereinzelte freie Kokken in starker Bakteriolyse, sonst in Phagozyten	Noch einzelne freie Kokken, dieselben in Bakteriolyse, Phagozyten nicht mehr so zahlreich

Während man in solchen Fällen bei gewöhnlicher Infektion die erste Phagozytose meistens nach Ablauf von 1 Stunde und mehr zu sehen bekommt, kann man in der durch vorherige Kochsalzinjektion gereizten Bauchhöhle die Phagozytose ganz ausserordentlich beschleunigen, wie folgender Versuch demonstrieren möge: Es ist geradezu fabelhaft, wie schnell dann, sobald der Stamm überhaupt phagozytierbar ist, die Aufnahme der Kokken erfolgt. Schon nach wenigen Minuten sind die Zellen vollgepfropft. Nun wissen wir jetzt, dass auch im normalen Rinderserum solche opsonisch wirksamen Substanzen vorhanden sind. Es enthielt dementsprechend das eine Tier die Kultur zusammen mit 1 ccm normalen Rinderserums, um zu sehen, ob dadurch der Eintritt der Phagozytose noch beschleunigt ist. Wir sehen, dass dies in der Tat zutrifft. Zwar gehört diese Darreichung dieses normalen Serums bereits in das Kapitel der passiven Immunisierung, aber gleichwohl soll dieser Versuch hier bereits demonstriert werden:

Phagozytose in der durch Kochsalz gereizten Bauchhöhle normaler Meerschweinchen.

Die Tiere hatten 6 Stunden vor der Infektion 10 ccm 0,85% = NaCl-Lösung intraperitoneal erhalten.

	Stamm Benkert (Ulcus serpens) 0,5 + 1,0 NaCl, Virulenz 1:2000	Stamm Benkert 0,5 ccm + 1,0 aktives Rinder-Serum
5 Min.	Keine Phagozytose	Schon sehr starke Phagozytose, nur noch vereinzelte freie Kokken
10 Min.	Bereits einzelne mit Kokken gefüllte Eiterzellen	Keine Kokken mehr frei
20 Min.	Zunahme der Phagozytose	.
30 Min.	Fast komplette Phagozytose	.

Verwendet man aber hochvirulente Stämme, so tritt sofort die Phagozytose in den Hintergrund. Ja, sie ist überhaupt nicht sichtbar.

Intraperitoneale Infektion mit hochvirulenter Passagekultur

	I 0,001 Kultur	II 0,005 Kultur	III 0,01 Kultur	IV 0,05 Kultur	V 0,1 Kultur
1 Std.	Sehr wenig Zellen. Kokken noch zu sehen	Vereinzelte Kokken. Wenig Zellen. Keine Phagozytose	Echte Eiterzellen. Mehr Kokken. Nirgends Phagozytose	Mehr Zellen. Viel Kokken. Nirgends Phagozytose	Schon mit Zellen. Sehr mit Kokken. Keine Phagozytose
4 Std.	Zunahme der Kokken und der Eiterung. Deutlich Bakteriolyse, aber keine Phagozytose	Überall neben der Erscheinung der extrazellulären Bakteriolyse Vermehrung der Kokken. Keine Phagozytose.			
12 Std.	Zunahme der Kokken, aber noch deutliche Bakteriolyse. Keine Phagozytose † 2. Tag	Keine Phagozytose, aber Bakteriolyse. Zunahme d. Kokken † 2. Tag	Auch hier Bakteriolyse neben Vermehrung der Kokken † 2. Tag	Starke Vermehrung der Kokken. Keine Phagozytose † 14 Std.	Schwer krank, dichte Reinkultur. Keine Phagozytose † 20 Std.

Es musste nun von erheblichem Interesse sein, schon in Rücksicht auf die Immunisierungsmöglichkeit zu erfahren, wie sich die nicht phagozytischen Passagestämme dann verhalten, wenn sie durch Hitze abgetötet sind.

In der Organisation solcher Stämme muss eine tiefgreifende Änderung eingetreten sein. Wir wissen jetzt, dass auch solche Stämme die Opsonine noch an sich verankern und trotzdem sich nicht in die Leukozyten aufnehmen lassen.

Kann durch Hitzeeinwirkung dieser erworbene Schutz gegen die Leukozyten wieder überwunden werden?

Der folgende grosse Versuch zeigt, dass dies nicht der Fall ist. Man kann die nicht phagozytischen Stämme durch Hitze abtöten, ihre Phagozytbarkeit bleibt weiterhin aufgehoben, sie werden allmählich vom Organismus gelöst und resorbiert, aber nicht von den Leukozyten aufgenommen:

Vollkommenes Fehlen der Phagozytose bei der auf 50°
erwärmten und abgetöteten Passagekultur.

Zeit nach der intra- peritoneal Injektion	Nr. 81	Nr. 234.	Nr. 247.
	1/2 Std. auf 50° erhitzte Passagekultur: 0,1 ccm	0,5 ccm	1,0 ccm
2 Std.	Keine Spur Phagozytose. Noch Lymphozyten, aber schon überwiegend polynukleäre Zellen, Kokken sehr vereinzelt, in jedem Gesichtsfeld 1—2 Kokken, an denselben noch keine Bakteriolyse	Keine Spur Phagozytose. Fast keine Lymphozyten mehr, nur Eiterzellen, in jedem Gesichtsfeld 10—20 Kokken	Keine Spur Phagozytose. Lymphozyten einzeln, Eiterzellen sehr zahlreich. Kokken ungefähr ebensoviel wie beim vorigen Tier mit beginnender Bakteriolyse
4 Std.	Kokken noch nicht verschwunden, so vereinzelt wie vorhin, geringe Bakteriolyse. Keine Spur Phagozytose.	Kokken an Zahl noch dieselben, beginnende Bakteriolyse, Zunahme der Eiterzellen, keine Spur Phagozytose	Kokken an Zahl noch nicht geringer, vereinzelt Bakteriolyse erkennbar, Zunahme der Eiterzellen, keine Spur Phagozytose
6 Std.	Kokken fast verschwunden, in jedem 5. Gesichtsfeld noch einen.	Durchschnittlich noch 3—5 Kokken mit Bakteriolyse, keine einzige Phagozytose	Noch immer im Gesichtsfeld 12—15 Kokken, Bakteriolyse überall erkennbar, keine Spur Phagozytose
21 Std.	Keine Kokken mehr, ganz andere Zellformation, Eiterzellen vereinzelt, dafür zahlreiche grosse runde Zellen (Makrophagen)	Keine Kokken mehr, dieselbe unveränderte Zellformation	Keine Kokken mehr, dieselbe unveränderte Zellformation

Fortsetzung des Versuches.

	Nr. 254	Nr. 195
	2,0 ccm 50° abgetötete Passage	4,0 ccm abgetötete Passage
2 Std.	Sehr reichlich Kokken, Eiterzellen erschienen, noch Lymphozyten dazwischen, keine Spur Phagozytose	Bild insofern bei dieser grossen Kultur etwas abweichend, als neben den Eiterzellen schon sehr zahlreiche grosse mononukleäre Zellen erschienen sind. Geringe Bakteriolyse, keine Spur Phagozytose

	Nr. 254	Nr. 195
	2,0 ccm 50° abgetötete Passage	4,0 ccm abgetötete Passage
4 Std.	Kokken in auffallender Weise an Zahl abgenommen mit deutlicher Bakteriolyse	Noch 30—40 Kokken im Gesichtsfeld, deutliche Bakteriolyse, nie eine Andeutung von Phagozytose
6 Std.	Weitere Abnahme der Kokken, noch 1—2 im Gesichtsfeld, Bakteriolyse, aber keine Spur von Phagozytose	Rasche Abnahme der Kokken, noch 3—5 im Gesichtsfeld, starke Bakteriolyse, keine Spur Phagozytose
8 Std.	Noch dasselbe wie bei 6 Std.	Noch dasselbe wie bei 6 Std., keine weitere Abnahme der Kokkenzahl, aber starke Bakteriolyse
21 Std.	Keine Kokken mehr, überwiegend mononukleäre Zellen	Keine Kokken mehr, überwiegend mononukleäre Zelle

An der Hand dieser Kontrolluntersuchungen über die intraperitoneale Pneumokokken-Phagozytose beim normalen Meerschweinchen und bei verschiedenen Virulenzgraden der Stämme musste sich nunmehr die Frage entscheiden lassen, welche Rolle die Phagozytose bei der aktiven Immunisierung des Meerschweinchens spielt.

Wir haben bisher festgestellt:

Einen avirulenten oder wenig virulenten Stamm überwindet das Meerschwein leicht, und zwar muss hierbei anerkannt werden, dass solchen Stämmen gegenüber die Phagozytose eine Hauptrolle spielt. Wir kennen auch bereits den Grund für diese Erscheinung. Solche Stämme sind von vornherein, wie wir aus den Reagenzglasversuchen über Phagozytose mit normalem Serum wissen, so organisiert, dass sie in wenigen Minuten mit den Opsoninen des Serums eine Verbindung eingehen und dadurch zur sofortigen Aufnahme in die Meerschweinchenleukozyten befähigt werden. Infizieren wir ein Tier intraperitoneal mit einem solchen a priori phagozytiefähigen Stamme, so treten nicht bloss auf diesen Reiz die Leukozyten in die Bauchhöhle über, sondern gleichzeitig die thermolabilen Substanzen des Blutes (Komplemente, Opsonine). Die Leukozyten allein würden auch solche Stämme, wie wir jetzt wissen, nicht aufnehmen. Aber weil eben neben den Leukozyten jene Serumstoffe mit austreten aus den Gefässen, kann die Phagozytose erfolgen.

Würde nun die aktive Pneumokokkenimmunität zunächst darin bestehen, dass in vermehrter Weise im Serum Opsonine angehäuft würden, so müssten bei Meerschweinchen, welche mit solchen Stämmen immunisiert sind, diese Pneumokokken entweder schneller oder in noch grösseren Mengen von den Phagozyten des Meerschweinchens aufgenommen werden.

In den Reagenzglasversuchen mit derartigen Immuseris konnte ich mich hiervon nicht überzeugen, wie steht es jetzt *in vivo*?

Und bei virulenten Stämmen zeigt das normale Tier, wie wir gesehen haben, keine Phagozytose, es geht zugrunde und wir beobachten an ihm nur Anzeichen einer extrazellulären Bakteriolyse, die aber nicht ausreicht, um die Vermehrung aufzuhalten. Besteht das Wesen der Pneumokokkenimmunität nun wieder in der vermehrten Entwicklung von Opsoninen oder bakteriotropen Substanzen im Serum, dann müsste, da auch die virulenten Stämme an sich die Opsonine binden können, ohne freilich phagozytiert zu werden, nach Vorbehandlung mit derartigen virulenten Stämmen ebenfalls eine Phagozytose nachweisbar sein.

Die Entscheidung dieser beiden Fragen war also zu erbringen:

1. Versuch.

Einmalige intraperitoneale Vorbehandlung von Meerschweinchen mit 0,5 ccm Original-Stamm Bohm (Mäusevirulenz 1:200).

Prüfung nach 12 Tagen mit dem homologen Stamm 1,0 ccm.

	Nr. 702	Nr. 765	Nr. 700	Nr. 762	Nr. 706 Kontrolltier
¹ / ₄ Std.	Vereinzelte Lymphozyten, keine Eiterzellen, Kokken schön, keine Bakteriolyse	Noch keine Eiterzellen, nur Lymphozyten vereinzelt, Kokken schön erhalten	Keine Eiterzellen, spärliche Lymphozyten, keine Bakteriolyse	Dasselbe Bild	Spärliche Lymphozyten, keine Eiterzellen, Kokken sehr schön
¹ / ₂ Std.	Noch wenig Zellen, vereinzelte Eiterkörperchen. Beginn der Bakteriolyse, noch keine Phagozytose	Noch Lymphozyten allein. Bakteriolyse erkennbar, keine Phagozytose	Eine Eiterzelle mit Phagozytose, aber auch hier an den freien Kokken Bakteriolyse	Einige Eiterzellen, wenige davon mit Kokken beladen, Kokken nicht mehr so zahlreich, deutliche Degeneration der freien Kokken	Kokken zahlreicher als bei den unbehandelten Tieren, keine Bakteriolyse, erste Eiterzellen erschienen, meistens noch Lymphozyten

	Nr. 702	Nr. 765	Nr. 700	Nr. 762	Nr. 706 Kontrolltier
1 Std.	Massenhaft Eiterzellen erschienen, Phagozytose vorhanden, aber auch freie Bakteriolyse	Zahlreiche Phagozytose, nur noch wenig freie Kokken, an denselben deutliche Bakteriolyse	Reichliche Phagozytose neben freier Bakteriolyse	Reichlich Phagozytose, aber auch noch freie Kokken, an denselben Bakteriolyse	Noch keine Phagozytose, Kokken zeigen aber teilweise Bakteriolyse
2 Std.	Sehr reichlich Phagozytose, aber noch freie Kokken mit Bakteriolyse	Zunahme d. Phagozytose	Zunahme d. Phagozytose	Zunahme d. Phagozytose, nur noch wenig freie Kokken mit Bakteriolyse	Auch hier Beginn der Phagozytose. An den freien Kokken auch hier analoge Degeneration
5 Std.	Nur noch sehr vereinzelt freie Kokken, sonst alle in Phagozyten	Keine freien Kokken mehr, Reste von Phagozytose	Keine freien Kokken mehr, Zahl der Phagozyten geringer	Keine freien Kokken mehr, Zahl der Phagozyten geringer	Auch hier keine freien Kokken mehr, Zahl der Phagozyten abgenommen

2. Versuch.

Einmalige intraperitoneale Vorbehandlung von Meerschweinchen mit 0,5 ccm Original-Stamm Bohm (Mäusevirulenz 1:200)

Prüfung nach 10 Tagen mit dem homologen Stamm 1,0 ccm.

	Nr. 777	Nr. 797	Nr. 744	Nr. 772	Nr. 729 Kontrolltier
$\frac{3}{4}$ Std.	Meist noch Lymphozyten. Erscheinen d. Eiterzellen, noch keine Phagozytose, Kokken schön erhalten	Einzelne Eiterzellen neben vielen Lymphozyten noch keine Phagozytose	Erste Phagozytosen, aber auch an den freien Kokken Bakteriolyse	Wenig Eiterzellen, noch keine Phagozytose, freie Bakteriolyse erkennbar	Kokken schön erhalten, noch keine Eiterzellen, nur Lymphozyten
1 $\frac{1}{2}$ Std.	Ganz vereinzelt Phagozytose, deutliche Bakteriolyse	Etwas mehr Phagozytose, aber auch freie Bakteriolyse	Phagozytose hier am stärksten, nur noch wenig Kokken frei, an denselben Degeneration	Sehr reichliche Phagozytose auch hier, nur noch wenig freie Kokken	Auch hier schon deutliche Phagozytose, freie Kokken, etwas Degeneration

	Nr. 777	Nr. 797	Nr. 744	Nr. 772	Nr. 729 Kontrolltier
2 ¹ / ₂ Std.	Zunahme d. Phagozytose, Bakteriolyse der freien Kokken	Phagozytose zugenommen, extrazelluläre Bakteriolyse sehr stark	Keine freien Kokken mehr, alle in Phagozyten	Nur noch sehr vereinzelte freie Kokken, mit Degeneration, sonst starke Phagozytose	Auch hier Zunahme d. Phagozytose, aber noch viel freie Kokken
5 Std.	Noch spärliche Reste von freien stark degenerierten Kokken, sonst Phagozytose	Keine freien Kokken mehr, Zahl der Phagozytosen abgenommen	Nichts mehr, vollkommen abgelaufen	Nichts mehr von Kokken, noch ganz vereinzelte Phagozytose	Noch vereinzelte freie Kokken, fast abgelaufen, Reste von Phagozytose

3. Versuch.

Einmalige intraperitoneale Vorbehandlung von Meerschweinchen mit 1,0 ccm Original-Stamm Heublein.

Prüfung nach 8 Tagen mit dem homologen Stamm 1,0 ccm.

Zeit	Nr. 780	Nr. 712	Nr. 785	Nr. 714 Kontrolltier
³ / ₄ Std.	Eiterzellen erschienen, noch keine Phagozytose, Bakteriolyse angedeutet	Auch hier schon Eiterzellen, noch keine Phagozytose	Teils Lymphozyten, teils Eiterzellen mit vereinzelter Phagozytose	Fast ausschliesslich Lymphozyten, Kokken noch schön
1 ¹ / ₄ Std.	Deutliche Bakteriolyse der freien Kokken, sehr vereinzelte Phagozyten	Bakteriolyse nicht so ausgesprochen, erste Phagozyten	³ / ₄ Eiterzellen, ¹ / ₄ Lymphozyten. Deutliche Phagozytose, freie Kokken, stark degeneriert	Noch sehr wenig Eiterzellen, keine Phagozytose
1 ³ / ₄ Std.	Zunahme der Phagozyten gering, aber deutliche Abnahme der freien Kokken	Zunahme der Phagozytose, noch viel freie Kokken mit Bakteriolyse	Ganz vereinzelte Lymphozyten, sonst Eiterzellen mit Phagozytose	Jetzt auch hier Phagozytose, viel freie Kokken mit Bakteriolyse
2 ¹ / ₂ Std.	Kaum noch vereinzelte freie Kokken, Zahl der Phagozyten im Abnehmen	Noch viel freie Kokken, Phagozyten spärlich	Nur Eiterzellen und vereinzelte grosse Zellen, Phagozytose	Phagozytose auch hier im Zunehmen, noch viel freie Kokken
5 Std.	Einzelne freie Kokken, Reste von Phagozyten	Reste freier Kokken in Bakteriolyse, keine Phagozyten mehr sichtbar	Nichts mehr von Kokken und Phagozyten, abgelaufen	Noch einzelne freie Kokken in Degeneration, keine Phagozyten mehr, fast abgelaufen

Ich habe diese Phagozytoseversuche beim Meerschweinchen nach aktiver Immunisierung bei über hundert Tieren ausgeführt. Dieselben führen zu folgendem Resultat:

Injiziert man den Meerschweinchen einmal lebende genuine, vom menschlichen *Ulcus serpens* frisch gezüchtete Pneumokokkenstämme, so geht sowohl bei den vorbehandelten Tieren wie bei den normalen Kontrolltieren die Phagozytose neben der Bakteriolyse der freien Kokken einher.

Der einzige Unterschied besteht darin, dass bei den Tieren, welche einige Tage vor dem Versuch eine intraperitoneale Infektion mit dem homologen Stamm durchgemacht haben, die Eiterzellen früher in der Bauchhöhle erscheinen als beim Kontrolltiere und demgemäss eine kurze Zeit lang die Phagozytose etwas stärker aussieht.

Wie ist diese Erscheinung zu erklären?

Hier kommt erstens die Annahme in Betracht, dass infolge der ersten intraperitonealen Infektion eine grössere Durchlässigkeit der Gefässwände für Zellen und Antikörper des Blutes, eine schnellere Reaktionsfähigkeit des Peritoneums zurückgeblieben ist.

Aber auch eine andere Erklärung muss noch herangezogen werden. Wenn bei der aktiven Immunisierung irgendwelche spezifischen Antikörper gebildet sind, so müssen sich diese Affinitäten zwischen Kokken und Antikörpern bei der Infektion bemerkbar machen. Infolgedessen wird beim aktiv immunisierten Tiere eine leichtere Zerstörung, ein vermehrter Zerfall der Kokken eintreten. Dadurch können aber Zerfallsprodukte der Kokken schneller frei werden, die wieder ihrerseits einen vermehrten chemotaktischen Reiz auf die Eiterzellen ausüben.

Wir werden noch sehen, dass diese Verhältnisse zur Erklärung der Lokalreaktion am Auge beim *Ulcus serpens* nach der Seruminjektion berücksichtigt werden müssen.

Dass aber das schnellere Erscheinen der Leukozyten beim intraperitoneal infizierten Tier noch keineswegs den Schluss auf eine vermehrte Bildung von Opsoninen gestattet, davon kann man sich durch folgenden Versuch überzeugen. In demselben sollte die Frage beantwortet werden, ob auch nach subkutaner aktiver Immunisierung die Leukozyten beim vorbehandelten Tier schneller in der Bauchhöhle erscheinen.

Erscheinen auch nach einmaliger subkutaner Vorbehandlung mit genuinen Stämmen, die Phagozyten im Peritoneal-Raum schneller als beim Normaltier?

Reaktion mit homologen Stämmen.

Zeit	Nr. 150. 10 Tage nach subkut. Injektion von 1,0 Stamm Bauer	Nr. 145. 10 Tage nach subkut. Injektion von 1,0 Stamm Bauer	Nr. 266. Kontrollier 1 ccm Stamm Bauer	Nr. 149. 10 Tage nach subkut. Injektion von 1,0 Stamm Rauch	Nr. 200. 10 Tage nach subkut. Injektion von 1,0 Stamm Rauch	Nr. 117. Kontrollier 1,0 ccm Stamm Rauch
10 Min.	Nur Lymphozyten	Nur Lymphozyten	Nur Lymphozyten	Nur Lymphozyten	Nur Lymphozyten	Nur Lymphozyten
30 Min.	Nur Lymphozyten	Die ersten polynukleären Zellen mit vereinzelter Phagozytose	Auch hier die ersten Eiterzellen erschienen	Nur Lymphozyten	Ganz vereinzelte Eiterzellen mit Phagozytose	Auch hier vereinzelte Eiterzellen und eine Phagozytose
1 Std.	Beginn d. Phagozytose, aber noch überwiegend Lymphozyten	Einzelne Phagozytosen, aber überwiegend Lymphozyten	Überwiegend auch hier Lymphozyten, einzelne Eiterzellen mit Phagozytose	Noch keine Eiterzellen, nur Lymphozyten	Einzelne Phagozyten	Einzelne Phagozyten
1 1/2 Std.	Zunahme d. Eiterzellen, noch immer Phagozytose vereinzelt	Zunahme d. Eiterzellen, Phagozytosen reichlicher	Zunahme d. Eiterzellen, Phagozytosen reichlicher	Einzelne Phagozyten erschienen	Zunahme d. Eiterzellen mit Phagozytose	Zunahme d. Eiterzellen mit Phagozytose

Kein Unparteiischer wäre imstande gewesen, bei diesem Versuch an der Schnelligkeit der Phagozytose die vorbehandelten Tiere herauszufinden.

Bevor wir nun weiter gehen, schalte ich hier einige Versuche ein, welche zeigen mögen, dass eine einmalige Vorbehandlung mit Originalstämmen von geringer Virulenz unzuverlässig ist in der immunisierenden Wirkung gegen etwas virulentere Originalstämme:

Ein Beitrag, dass eine einmalige Vorbehandlung mit Pneumokokken-Original-Stämmen von geringer Virulenz beim Meerschweinchen unzuverlässig ist in der immunisierenden Wirkung gegen etwas virulentere Original-Pneumokokken-Stämme:

Einmalige intraperitoneale Vorbehandlung von Meerschweinchen mit 0,5 ccm Originalstamm Bohm (Mäusevirulenz 1:200).

Prüfung nach 9 Tagen mit heterologen Stämmen.

	Nr. 751. Prüfung gegen Stamm Müller, 0,5 ccm	Nr. 779 Kontrolle	Nr. 734. Prüfung gegen Stamm Heublein 0,5 ccm	Nr. 796 Kontrolle
15Min.	Überwiegend Lymphozyten, vereinzelt Eiterzellen, keine Phagozytose, keine Bakteriolyse	Dasselbe	Fast keine Zellen, Kokken schön erhalten	Dasselbe
30Min.	Erscheinen der Eiterzellen, Beginn der Phagozytose und freien Bakteriolyse	Auch hier vereinzelt Phagozyten	Wenig Zellen, keine Phagozyten, Degeneration der freien Kokken	Sehr wenig Zellen
1 Std.	Massenhaft Phagozytose, Eiterzellen in Haufen, auch Bakteriolyse	Weniger Eiterzellen, aber auch Phagozytose	Erscheinen der Phagozyten, aber noch sehr viel freie Kokken	Etwas mehr Eiterzellen, auch hier deutliche Phagozytose
2 Std.	Keine freien Kokken mehr, sehr reichlich Phagozytose	Nur noch vereinzelt freie Kokken, auch sehr starke Phagozytose	Zunahme d. freien Kokken, reichlich Eiterzellen, spärliche Phagozytose	Auch hier wohl Zunahme d. freien Kokken
4 Std.	Keine freien Kokken mehr, Zahl der Phagozyten abgenommen	Ganz vereinzelt freie Kokken und Phagozytose	† nach 4 Tagen	† nach 5 Tagen

Einmalige intraperitoneale Vorbehandlung mit Originalstamm Seufert 1,0.

Prüfung nach 10 Tagen mit Originalstamm Müller 1,0.

	Nr. 724	Nr. 793	Nr. 799	Nr. 799 Kontrolle
$\frac{3}{4}$ Std.	Erste Phagozytose und freie Bakteriolyse	Dasselbe	Dasselbe	Noch keine Phagozytose, auch hier Bakteriolyse aber nicht so ausgesprochen
$1\frac{1}{2}$ Std.	Starke Zunahme der Phagozytose	Sehr starke Phagozytose, aber auch freie Bakteriolyse	Sehr starke Zunahme der Phagozytose, auch Degeneration der Kokken	Auch hier grosse Phagozytose und Degeneration der Kokken
$2\frac{1}{2}$ Std.	Noch einzelne freie Kokken, sonst alle in Phagozyten	Auffallend viel freie Kokken in Nestern, Zunahme derselben, daneben Phagozytose	Nur noch wenig freie Kokken, sonst Phagozytose	Fehlt
5Std.	Keine freien Kokken mehr, Reste von Phagozytose, fast abgelaufen	Deutliche Vermehrung der freien Kokken, daneben noch Phagozytose † nach 18 Std.	Keine freien Kokken mehr, alle in Phagozyten	Zunahme d. freien Kokken, noch etwas Phagozytose † nach 30 Std.

Einmalige intraperitoneale Vorbehandlung mit Originalstamm Seufert.

Reaktion auf heterologischen Stamm Müller nach 12 Tagen.

	Nr. 711. 0,5 Seufert n. 12 Tg. 1,0 Müller	Nr. 788. 0,5 Seufert n. 12 Tg. 1,0 Müller	Nr. 775. 0,5 Seufert n. 12 Tg. 1,0 Müller	Nr. 739 Kontrolle
$\frac{3}{4}$ Std.	Erscheinen der Leukozyten, Degeneration der freien Kokken sichtbar, noch keine Phagozytose	Schon Phagozytose, auch Kokken-Degeneration	Dasselbe	Noch keine Phagozytose, auch freie Degeneration der freien Kokken, aber viel weniger ausgesprochen. Wenig Eiterzellen

	Nr. 711. 0,5 Seufert n. 12 Tg. 1,0 Müller	Nr. 788. 0,5 Seufert n. 12 Tg. 1,0 Müller	Nr. 775. 0,5 Seufert n. 12 Tg. 1,0 Müller	Nr. 739 Kontrolle
1 ¹ / ₂ Std.	Zunahme d. Phagozytose. Degeneration an den freien Kokken	Zunahme d. Phagozytose. Bakteriolyse deutlich sichtbar	Deutliche Phagozytose und freie Bakteriolyse daneben	Jetzt auch Phagozytose und Bakteriolyse
2 ¹ / ₂ Std.	Massenhaft Phagozytose, nur noch vereinzelte freie Kokken	Keine freien Kokken mehr, sehr starke Phagozytose	Noch sehr viel freie Kokken, auch Phagozytose	Dasselbe
5Std.	Keine freien Kokken mehr. Reste von Phagozytose. Fast abgelaufen	Nur noch Reste von Phagozytose, fast abgelaufen	Freie Kokken in deutlicher Zunahme, dabei auch Phagozytose † 2. Tag	Zunahme d. freien Kokken, aber auch lebhaft Phagozytose † 2. Tag
			Bei beiden Tieren kann nach 5 Stunden an der Vermehrung der Kokken der Tod vorausgesagt werden.	

Wenn aber auch nach einmaliger aktiver Immunisierung in vivo keine vermehrte Opsoninbildung nachweisbar ist, können sich die Verhältnisse bei mehrmaliger Vorbehandlung nicht ganz anders gestalten?

Es wäre ja immerhin möglich, dass der tierische Organismus nur sehr schwer und erst auf mehrere Reize hin derartige Substanzen produzieren kann.

Ich habe deshalb auch über diese Frage sehr viele Versuche angestellt.

Ich kann mich aber kurz fassen:

Auch nach mehrmaliger Vorbehandlung mit genuinen Menschenstämmen und bei Innehalten verschiedener Prüfungszeiten ist im Peritonealversuch eine Vermehrung der Opsonine nicht nachweisbar.

Zur Illustration teile ich folgende Versuche mit:

3malige Vorbehandlung mit *Ulcus serpens*-Kulturen.
 Reaktion gegen heterologen Stamm aus Panophthalmie.
 9 Tage nach der letzten Immunisierung.

	Nr. 711.	Nr. 788.	Nr. 799.	Nr. 751.	Nr. 716.
	31. VIII. 0,5 cem Seufert 12. IX. 1,0 cem Müller 21. IX. 0,5 cem Müller intraperitoneal 3. X. 1,0 cem Wirt Panophthalmie	31. VIII. 0,5 cem Seufert 12. IX. 1,0 cem Müller 21. IX. 0,5 cem Müller subkutan 3. X. 1,0 cem Wirt	31. XIII. 0,5 cem Müller/intra- 12. IX. 1,0 cem Müller/perit. 21. IX. 0,5 cem Müller sub- kutan 3. X. 1,0 cem Wirt	28. VIII. 0,5 cem Bohm intra- 7. IX. 0,5 cem Müller/perit. 21. IX. 0,5 cem Müller sub- kutan 3. X. 1,0 cem Wirt	Kontrolle 3. X. 1,0 cem Wirt
1/2 Std.	Spärliche Lymphozyten, keine Phagozytose	Wenig Lymphozyten, keine Phagozytose	Sehr wenig Lympho- zyten, keine Phagozy- tose	Dasselbe	Dasselbe
3/4 Std.	Spärliche Eiterzellen er- schienen, Beginn der Phagozytose. Freie Kokken sehr degeneriert	Extrazelluläre Bakte- teriolyse, spärliche Ei- terzellen, Beginn der Phagozytose	Deutliche extrazelluläre Bakteriolyse. Wenig Eiterzellen, kaum Pha- gozytose	Extrazelluläre Degene- ration an fast allen Kokken, fast kaum Pha- gozytose	Extrazelluläre Bak- teriolyse
1 Std.	Viel Eiterzellen, Phago- zytose stärker, aber die meisten Kokken noch frei. Schöne extrazellu- läre Bakteriolyse	Noch wenig Eiterzellen, sehr starke extrazellu- läre Bakteriolyse	Phagozytose sehr spär- lich. Deutliche extra- zelluläre Bakteriolyse	Kaum Phagozytose. Sehr starke extrazellu- läre Bakteriolyse	Auch hier jetzt Pha- gozytose und extra- zelluläre Bakterio- lyse. Kein Unter- schied zu den ande- ren Tieren
1 1/2 Std.	Zunahme der Phagozy- tose, aber auch der extrazellulären Bakte- riolyse	Noch wenig Eiterzellen, sehr starke extrazellu- läre Bakteriolyse	Phagozytose sehr spär- lich. Deutliche extra- zelluläre Bakteriolyse	Zunahme der Phagozy- tose, die meisten Kok- ken aber noch frei	Auch hier jetzt Pha- gozytose und extra- zelluläre Bakterio- lyse. Kein Unter- schied zu den ande- ren Tieren
3 Std.	Zunahme der Phagozy- tose, aber noch sehr viel freie Kokken mit extrazellulärer Bakte- riolyse	Dasselbe	Dasselbe	Dasselbe	Kein Unterschied gegenüber den vor- behandelten Tieren

Phagozytose in der Bauchhöhle, 2 Monate nach der letzten aktiven Immunisierung.

Reaktion gegen einen frischen *Ulcus serpens* — Stamm Rahmstein 1,5 ccm.

	Nr. 471. Passage vorbehandelt 14. IX. 0,001 subkut. 26. IX. 0,04 "	Nr. 706. Bohm vorbehandelt 10. IX. 1,0 3. X. 1,0 subkut.	Nr. 751. Polyvalent 28. VIII. 0,5 Bohm 7. IX. 0,5 Müller 21. IX. 0,5 Müller sub. 3. X. 0,5 Wirt "	Nr. 752. Kontrolle
1/2 Std.	Kokken schlecht gefärbt, reichlich, auch noch keine Eiterzellen	Eiterzellen erschienen, ganz vereinzelte Phagozytose	Nur Lymphozyten, reichlich Kokken, keine Phagozyten	Nur Kokken, noch keine Zellen
1 Std.	Beginn der Phagozytose, aber auch extrazelluläre Degeneration	Mehr Zellen, Phagozyten in kleinen Haufen mit einzelner Phagozytose	Leukozyten erschienen, Beginn der Phagozytose auch extrazelluläre Degeneration	Eiterzellen erschienen, auch freie Phagozytose zu sehen
2 Std.	Deutliche Abnahme der Zahl der Kokken, die aber nicht allein auf die Rechnung der Phagozytose zu setzen ist, Phagozytose zugenommen, aber auch extrazelluläre Degeneration	Deutliche Abnahme der freien Kokken, Zunahme der Phagozytose	Vielleicht hier am stärksten Phagozytose? doch noch viel freie Kokken	Zunahme d. Phagozytose u. extrazelluläre Degeneration. Abnahme der Kokken, ein Unterschied zu den anderen Tieren nicht erkennbar
3 Std.	Nur noch sehr vereinzelte freie Kokken, Phagozytose etwas mehr. Sonst fast völlig abgelaufen	Dasselbe	Besonders schön zum Studium der extrazellulären Degeneration geeignet, dieselbe überwiegt entschieden die Phagozytose in diesem Falle	Fast keine freien Kokken mehr, alles in Phagozyten Kein Unterschied gegenüber den anderen Tieren

Resultat: Bei den mehrmals mit *Ulcus serpens*-Stämmen vorbehandelten Meerschweinchen war gegenüber den Kontrollen kein irgendwie bemerkenswerter Unterschied zu erkennen. Man wäre nicht imstande gewesen zu entscheiden, welches die vorbehandelten Tiere sind. Bei allen Tieren fiel wieder auf, dass der Pneumo-

kokkenstamm, welcher zur Reaktion diente und Originalstamm war, sehr schnell extrazelluläre Degeneration aufwies, die anscheinend mehr zu bedeuten hat als die Phagozytose.

Nun bleibt nur noch die Erledigung der Frage übrig, ob denn die Vorbehandlung der Meerschweinchen mit virulenter Passagekultur etwa eine vermehrte Bildung von Opsoninen herbeiführt, sei es gegen Passagestämme, sei es gegen Originalstämme.

Zur Beantwortung derselben dienen die folgenden Versuche:

Einmalige Vorbehandlung mit lebender Passagekultur.

Reaktion 10fach lat. Dosis.

10 Tage nach dem Überstehen der Infektion.

	Nr. 916 0,2 ccm Passagekultur	Nr. 917 0,2 ccm Passagekultur	Nr. 713. Kontrolle 0,2 ccm Passagekultur
1/4 Std.	Nur Lymphozyten, keine Phagozytose	Etwas mehr Eiterzellen, keine Phagozytose	Nur Lymphozyten
1/2 Std.	Mehr Eiterzellen, keine Phagozytose	Sehr reichlich Eiterzellen, keine Phagozytose	Zellen noch sehr spärlich, vereinzelte Eiterzellen, viel weniger als bei den anderen Tieren
1 Std.	Zunahme der Eiterzellen, aber keine Phagozytose	Starke Zunahme der Eiterzellen, keine Phagozytose	Zellen noch spärlich
2 Std.	Enorme Eiterung, aber nirgends Phagozytose, dafür schönste Bakteriolyse	Keine Phagozytose, Zahl der Eiterzellen aber viel grösser	Auch hier Vermehrung der Eiterzellen, keine Phagozytose
4 Std.	Abnahme der Kokkenzahl, keine Phagozytose	Deutliche Abnahme der Kokken. Keine Phagozytose. Eiterzellen im Zerfall	Zweifellose Zunahme der Kokken. Keine Phagozytose, wohl liegen die Kokken dicht an den Zellen
24 Std.	Kokken haben abgenommen, deutliche freie Bakteriolyse, sind jedoch nach 23 Stunden noch sicher in vereinzelt Exemplaren vorhanden. Keine Phagozytose	Hier kaum noch einzelne Kokken vorhanden. Keine Phagozytose	Ganz enorme Zunahme der Kokken, dichte Reinkultur. Tier fast sterbend. † nach 30 Std.

Resultat des Versuches: Bei den mit virulenten Kulturen immunisierten Meerschweinchen nimmt die Zahl der Pneumokokken im Peritonealexsudat schon nach wenigen Stunden deutlich ab, aber selbst nach 23 Stunden sind immer noch vereinzelt Kokken aufzufinden, ohne dass dieselben aber zur weiteren Vermehrung kommen. Bei den immunisierten Tieren sind ferner deutliche Degenerationen der Kokken zu erkennen. Die Kokken färben sich zweifellos schlecht, bisweilen erkennt man in den leeren Kapseln nur noch Bruchstücke blau gefärbter Substanz zum Unterschied gegenüber dem Kontrolltiere. Von Phagozytose ist während des ganzen Prozesses bei den vorbehandelten Tieren nichts zu sehen, was zu der Vorstellung verleiten könnte, dass die Pneumokokken durch Phagozytose verschwänden.

Gleichzeitig mögen diese Versuche demonstrieren, dass die Immunisierung durch hochvirulente Stämme viel wirksamer ist als die Vorbehandlung mit *Ulcus serpens*-Stämmen.

In dem folgenden Versuche waren die Tiere mit Passagekultur immunisiert, die durch Erhitzen auf 60° abgetötet war, es sollte geprüft werden, wie bei solcher Vorbehandlung die Reaktion auf lebende Passagekultur verlief:

Vorbehandlung mit 60° Passage.
Reaktion auf lebende Passage.

	Nr. 732. 26. VIII. 1,0 Pas- sage 60° 5. IX. 1,0 60° Passage 14. IX. 0,2 Passage	Nr. 707. 26. VIII. 1,0 Pas- sage 60° 5. IX. 1,0 60° Passage 14. IX. 0,2 Passage	Nr. 721/792. 5. IX. 1,0 Passage 60° 14. IX. 0,2 Passage	Nr. 725. Kontrolle 14. IX. 0,2 Passage
³ / ₄ Std.	Eiterzellen erschienen, Kokken schön, keine Degeneration, keine Phagozytose	Dasselbe	Kokken an Zahl auffallend viel weniger, dieselben deutlich degeneriert. Keine Phagozytose, sehr viel Eiterzellen	Noch keine Eiterzellen, nur Lymphocyten, Kokken schön
1 ¹ / ₂ Std.	Zunahme d. Eiterzellen, Beginn der Phagozytose, freie Kokken deutlich degeneriert	Zunahme d. Eiterzellen, vereinzelt Phagozytose, Degeneration nicht so auffallend, doch vorhanden	Auffallend wenig Kokken, dieselben degeneriert, keine Phagozytose	Eiterzellen in geringen Mengen, keine Phagozytose, Kokkendegeneration sehr vereinzelt

	Nr. 732. 26. VIII. 1,0 Pas- sage 60° 5. IX. 1,0 60° Passage 14. IX. 0,2 Passage	Nr. 707. 26. VIII. 1,0 Pas- sage 60° 5. IX. 1,0 60° Passage 14. IX. 0,2 Passage	Nr. 721/792. 5. IX. 1,0 Passage 60° 14. IX. 0,2 Passage	Nr. 725. Kontrolle 14. IX. 0,2 Passage
2 ¹ / ₄ Std.	Kokkenzahl wohl noch nicht abgenommen, Phagozytose etwas mehr abnehmend	Dasselbe, Phagozytose vereinzelt	Auffallende Abnahme der Kokken, kaum noch freie vorhanden, Sehr viel Makrophagen	Kokkenzahl unverändert, keine Phagozytose
3 ¹ / ₄ Std.	Deutliche Abnahme der freien Kokken, Degeneration derselben, Phagozytose hier und da vereinzelt	Auch hier Abnahme der freien Kokken, aufgequollene Kokken in Phagozyten	Nur noch sehr vereinzelt freie Kokken	Noch keine Zunahme der Kokken! Degeneration der freien Kokken, keine Phagozytose
5 ¹ / ₄ Std.	Ganz vereinzelt freie Kokken, sehr degeneriert aussehend, Phagozytose höchst vereinzelt	Plötzlich Zunahme d. Kokken! Keine Phagozytose. Schon immer den Eindruck, dass hier der Prozess nicht funktioniert	Vollkommen abgelaufen, keine Kokken mehr, keine Phagozyten	Befund unverändert, noch keine Zunahme der Kokken, 707 hat viel mehr
24 Std.	Immer noch einzelne freie Kokken, sogar etwas mehr einzelne Phagozyten	Zunahme nicht weiter gegangen, keine Kokken u. keine Phagozytose, Kampf noch nicht entschieden	Nichts mehr von Kokken, anderes Zellbild, lauter runde grosse Zellen	24 Std. Kokken jetzt enorm zugenommen, dabei vereinzelt Phagozytose. Kokken z. T. degeneriert aussehend
30 Std.	Noch nicht entschieden, noch freie Kokken u. etwas Phagozytose	Noch nicht entschieden, noch verhältnismässig viel freie Kokken und auch Phagozytose		† nach 32 Std. Reinkultur, wenig Zellen

Die Passagekultur hatte an Virulenz etwas nachgelassen. Dementsprechend erfolgte die Zunahme der Kokken beim Kontrolltiere erst nach 24 Stunden und bei einem der immunisierten Tiere war die Reaktion schon nach 5 Stunden abgelaufen, während bei den anderen der Kampf lange hin und her schwankte.

Nirgends kann man sich überzeugen, dass die Entscheidung durch die Phagozyten herbeigeführt wird.

Es musste nun interessant sein, zu erfahren, ob denn vielleicht die abgetötete Passagekultur bei einer solchen Immunitätsreaktion von den Phagozyten beseitigt werde.

Die lehrreiche Entscheidung bringt der folgende Versuch:

Vorbehandlung mit abgetöteter Passage.
Reaktion auf abgetöteter Passage.

5. IX. Zeit	1,0 Passage 60° 1 Std.	1,0 Passage 60° 1 Std.	Kontrolle 1,0 Passage 60° 1 Std.
10Min.	Geringe Mengen Lymphozyten, keine Eiterzellen. Reichlich Kokken, diese sehr schlecht gefärbt	Ebenfalls geringe Mengen Lymphozyten, Kokken reichlich, sehr blass, ganz vereinzelt Eiterzellen	Lymphozyten spärlich, keine Eiterzellen, Kokken reichlich
20Min.	Noch reichlich blasse Kokken, keine Eiterzellen, nur Lymphozyten	Erscheinen der Eiterzellen, Phagozytose nicht sichtbar, anscheinend Abnahme der Kokken	Nur Lymphozyten, reichlich Kokken
40Min.	Vorwiegend Lymphozyten, ganz vereinzelt Eiterzellen, Kokken noch reichlich, Phagozytose nicht zu erkennen	Leukozyten deutlich zugenommen, Kokken noch in derselben Zahl, wie bei 20 Min. Phagozytose nicht erkennbar	Noch immer keine Eiterzellen, Kokken unverändert
60Min.	Zunahme der Eiterzellen auch hier, Phagozytose nicht erkennbar, Kokken anscheinend weniger	Wieder lebhaftere Zunahme der Eiterzellen, Kokken noch in derselben Menge, Phagozytose nicht erkennbar	Sehr spärlich Eiterzellen, meistens Lymphozyten, Kokken unverändert
1 1/2 Std	Enorme Zunahme der Eiterzellen, Abnahme der Kokken, Phagozytose nicht zu erkennen	Enorme Zunahme der Eiterzellen, Kokken weniger, doch noch deutlich vorhanden, keine Phagozytose zu sehen	Eiterzellen langsam zunehmend, doch noch viele Leukozyten, Kokken wie bei den anderen Tieren, keine Phagozytose

Resultat: Handelt es sich um einen virulenten Pneumokokkenstamm, der von vornherein der Phagozytose nicht zugänglich ist, so wird derselbe auch bei den mit dieser Kultur aktiv immunisierten Tieren nicht durch die Phagozytose beseitigt. Wenn nun aber, wie in den früheren Versuchen gezeigt wurde, mit solchen abgetöteten Kulturen eine Immunität gegen virulente, nicht phagozytierbare Pneumokokkenstämme herbeigeführt werden kann, dürfen wir dann der Phagozytose eine bedeutende Rolle bei der Pneumokokkenimmunität zuschreiben?

Wir können das Gesamtergebnis der Versuche über die Phagozytose der Pneumokokken bei der aktiven Immunisierung des Meerschweinchens dahin zusammenfassen:

Eine vermehrte Bildung von Opsoninen oder bakteriotropen Substanzen ist im Meerschweinchenorganismus weder bei der Vorbehandlung mit Originalstämmen noch mit Passagestämmen erkennbar. Gerade bei den pathogenen Stämmen, bei denen es darauf ankäme, sehen wir die Überwindung der Infektion beim immunisierten Tier ohne jede Phagozytose vor sich gehen.

Mithin kann das Wesen der aktiven Pneumokokkenimmunität nicht auf einer etwaigen vermehrten Bildung von Opsoninen oder bakteriotropen Substanzen beruhen.

Ich habe mich bei der Untersuchung dieser Verhältnisse deshalb so lange aufgehalten, weil meines Erachtens dieser Feststellung eine prinzipielle Bedeutung zukommt.

Wenn die aktive Pneumokokkenimmunität nicht auf Opsonine oder Bakteriotropine zurückgeführt werden kann, und wir diesen Zustand der Immunität durch Einführung von Immuneserum in einen anderen Organismus übertragen, so kann auch die passive Pneumokokkenimmunität nicht durch Bakteriotropismus erklärt werden. Dann muss die Wirkung des Pneumokokkenimmuneserums eine andere sein.

Der Untersuchung dieser Frage wollen wir uns nun zuwenden.

Phagozytose der Pneumokokken bei der passiven Immunisierung und das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung.

Der ganze vorige Abschnitt diente zum Beweise der Anschauung, dass das Wesen der aktiven Pneumokokkenimmunität, d. h. der durch den Immunisierungsvorgang erworbenen Fähigkeit des

tierischen Organismus eine Infektion mit virulenten Pneumokokkenstämmen zu überwinden, unmöglich darin bestehen kann, dass die Phagozytose hierbei eine Hauptrolle spielt.

Wenn wir sehen, dass die Virulenz eines Pneumokokkus neben eigentümlichen morphologischen Veränderungen (Kapselbildung) ihren Ausdruck darin findet, dass ein solcher Stamm für die Phagozytose durch Normalserum unzugänglich wird, wenn wir weiter sehen, dass trotzdem infolge der aktiven Immunisierung ein solcher Stamm im Innern des immunisierten und dann infizierten Organismus ohne die Phagozytose allmählich vernichtet und unschädlich gemacht wird, so müssen wir von nun an ein für alle Mal anerkennen, dass der Phagozytosemechanismus auch unter Berücksichtigung seiner Modifikation durch die Opsoninforschung unmöglich die Ursache der erworbenen Pneumokokkenimmunität sein kann. Von den Reagenzglasversuchen angefangen hat sich bisher Glied für Glied der Beweiskette angegliedert, dass das eigentliche Wesen der erworbenen Pneumokokkenimmunität durch etwas anderes repräsentiert werden muss, dass hinter dem Mechanismus der Phagozytose und Opsonine noch die wahre Immunität verborgen sein muss. Diese wahre Immunität gilt es jetzt weiter aufzuklären.

Bei jeder Immunität müssen wir die Veränderungen der Zellindividuen und der Blutflüssigkeit berücksichtigen.

Die ersteren werden uns ihrem Wesen nach wohl noch lange verborgen bleiben, wenn auch in der Frage der lokalen Immunität der Gewebe durch die Untersuchungen von Wassermann und Citron¹⁾ bereits weitere Fortschritte erzielt sind.

Wir müssen uns zunächst mit dem Studium der Veränderungen der Blutflüssigkeit begnügen.

Wir können nun den Beweis, dass die erworbene Pneumokokkenimmunität nicht durch die Phagozytose, nicht durch bakteriotrope Substanzen bedingt sein kann, am Immunserum nach 2 Richtungen führen.

Zunächst soll hier auch bei der passiven Immunisierung wieder der Nachweis geliefert werden, dass die Seruminjektion keine vermehrte Pneumokokken-Phagozytose herbeiführt.

¹⁾ Wassermann u. Citron: Die lokale Immunität der Gewebe und ihre praktische Wichtigkeit. Deutsch. med. Wochenschr. 1905. Nr. 15.

Dieselben: Über die Bildungsstätte der Typhus-Immunkörper. Ein Beitrag zur Frage der lokalen Immunität der Gewebe. Zeitschr. f. Hyg. 1905.

Hierbei muss zunächst darauf hingewiesen werden, dass zur Entscheidung über die Wirkung des Pneumokokkenserums kein an sich phagozytierbarer Stamm benutzt werden darf. Meines Erachtens hat sich die Anschauung, dass die Wirkung des Pneumokokkenimmenserums auf einen Gehalt an bakteriotropen Substanzen beruhe, nur dadurch entwickeln können, dass die betreffenden Autoren nicht sorgsam genug die einzelnen Pneumokokkenstämme für ihre Versuche ausgewählt haben.

Benutzt man einen Pneumokokkenstamm, der an sich zur Phagozytose befähigt ist, als Reaktionsobjekt auf ein Pneumokokkenserum, so tritt leicht scheinbar eine stärkere Phagozytose ein, weil mehr Pneumokokken zerfallen, mehr chemotaktische Substanzen frei werden, welche die Leukozyten anlocken. Aber das ist nicht das Wesen der Pneumokokkenimmunität, höchstens könnte darin eine Teilkomponente der Serumwirkung bei geeigneten Stämmen gesehen werden.

Die folgenden Versuche erbringen zunächst den Beweis, dass genuine, leicht phagozytierbare Stämme nicht geeignet sind, uns über das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung etwas Entscheidendes auszusagen.

Und zwar sind diese Versuche wieder mit homologen und heterologen Serumarten angestellt worden.

a) Versuche mit homologen, von Meerschweinchen nach Vorbehandlung mit Pneumokokken gewonnenem Serum:

Stamm Müller.

1,5 Serum, 24 Std. später 0,5 Kultur.

a) Normales Meerschweinchen, b) Immuserum.

	Nr. 724. N.M.S. 1,5 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 793. 1,5 P.K.S. 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 799. Kontrolle 0,5 Kultur
$\frac{1}{2}$ Std.	Spärliche Lymphozyten, Kokken frei	Spärliche Lymphozyten, Kokken frei	Fast gar keine Zellen, Kokken frei
1 Std.	Zellen noch spärlich, keine Phagozytose	Zellen noch spärlich, deutliche Phagozytose	Noch spärliche Zellen, Kokken frei
2 Std.	Reichlich Eiterzellen, massenhaft Phagozytose, wenig freie Kokken	Etwas mehr Eiterzellen, massenhaft Phagozytose, vereinzelte Kokken noch frei	Etwas mehr Eiterzellen, massenhaft Phagozytose

	Nr. 724. N.M.S. 1,5 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 793. 1, 5P.K.S. 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 799. Kontrolle 0,5 Kultur
2 ¹ / ₂ Std.	Keine freien Kokken mehr, massenhaft Phagozytose	Keine freien Kokken mehr, Phagozytose noch vorhanden	Massenhafte Phagozytose, keine freien Kokken mehr
4 Std.	Keine freien Kokken mehr, höchstens vereinzelte Phagozytose, fast abgelaufen	Keine Kokken mehr frei, vereinzelte Phagozytose, fast abgelaufen	Keine freien Kokken mehr, höchst vereinzelte Phagozytose, fast abgelaufen

Stamm Heublein.

1,5 Serum subkutan, 24 Std. später 1,0 Kultur intraperitoneal.

a) Normales Meerschweinchen, b) Immunserum.

	Nr. 712. 1,5 N.M.S. subkutan, 24 Std. später 1,0 Kultur intrap.	Nr. 780. 1,5 P.M.S. subkutan, 24 Std. später 1,0 Kultur	Nr. 785. Kontrolle 1,0 Kultur intrap.
¹ / ₂ Std.	Einzelne Eiterzellen vorhanden, Kokken frei	Meisten Zellen Lymphozyten, sehr spärlich Eiterzellen, Kokken noch frei	Meistens Lymphozyten, Kokken frei
1 Std.	Etwas mehr Eiterzellen, meisten Kokken frei, ganz vereinzelte Phagozytose	Dasselbe	Zunahme d. Eiterzellen, Kokken frei, keine Phagozytose
2 ¹ / ₂ Std.	Zellen zunehmend, meisten Kokken frei, keine Zunahme d. Phagozytose	Auffallende Zunahme der Eiterzellen, Phagozyten vorhanden	Zunahme d. Eiterzellen, Kokken weniger? Keine Steigerung der Phagozytose
3 ¹ / ₂ Std.	Massenhaft Eiterzellen, Phagozytose kaum stärker, meisten Kokken frei	Entschieden weniger Kokken als beim vorigen Tier, doch sieht man keine häufigere Phagozytose	Auch hier Abnahme d. Kokken ohne vermehrte Phagozytose
6 Std.	Nur noch wenig freie Kokken mit Degenerations-Erscheinungen, sehr vereinzelte Phagozyten	Auch hier an den noch vorhandenen wenigen freien Kokken deutliche Auflösungs-Erscheinungen, keine Phagozyten mehr	Eiterzellen in starker Auflösung, freie Kokken noch sehr spärlich, mit Degenerations-Erscheinungen keine Phagozytose sichtbar
10 Std.	Eiterzellen gut aussehend, keine Kokken mehr, keine Phagozytose	Zellen gut aussehend, keine Kokken mehr, keine Phagozytose	Eiterzellen nach der Auflösung, keine freien Kokken mehr, keine Phagozytose

b) Versuche mit heterologem Serum von einem mit Pneumokokken immunisierten Hammel, das gegen virulente Stämme schützte.

Stamm Seufert.

1,5 Serum subkutan, 24 Std. später 0,5 Kultur intraperitoneal.

a) Normales Meerschweinchen, b) Immunserum.

	Nr. 711. N.H.S. 1,5 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 748. 1,5 ccm P.K.S. 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 757. Kontrolle
$\frac{1}{2}$ Std.	Zellen spärlich (Lymphozyten), Kokken frei	Zellen sehr spärlich (Lymphozyten), Kokken frei	Fast gar keine Zellen, Kokken frei
$1\frac{1}{2}$ Std.	Eiterzellen erschienen, Phagozytose vorhanden am stärksten	Eiterzellen erschienen, Phagozytose unterschiedlich, an manchen Zellen reichlich, an manchen spärlich	Noch spärliche Zellen, Kokken frei, aber auch Phagozytose sichtbar
2 Std.	Eiterzellen noch spärlich, Phagozytose spärlicher	Eiterzellen noch spärlich, deutliche Phagozytose	Eiterzellen spärlich, deutliche Phagozytose
$2\frac{1}{2}$ Std.	Eiterzellen massenhaft zugenommen, keine freien Kokken mehr, schöne unveränderte Zellen	Massenhafte Zunahme der Eiterzellen, keine freien Kokken mehr, Phagozytose nur noch vereinzelt	Zunahme d. Eiterzellen, Phagozytose vorhanden, keine freien Kokken mehr
4 Std.	Eiterzellen massenhaft, keine freien Kokken mehr, noch vereinzelte Phagozyten	Keine freien Kokken mehr, sehr viel Eiterzellen, vereinzelte Phagozytose, fast abgelaufen	Abgelaufen, keine Kokken mehr, keine Phagozyten

Stamm Bohm. I. Versuch.

1,5 ccm Serum subkutan, 24 Std. später 0,5 Kultur intraperitoneal.

	Nr. 734. Norm. Hammel- serum	Nr. 702. Pneumokokken- serum	Nr. 765. Norm. Hammel- serum	Nr. 700. Pneumokokken- serum	Nr. 757. Kontrolle
1 Std.	Wenig Zellen, Kokken frei neben denselben, aber einzelne Phagozyten	Zellen zahlreich, starke Phagozytose, Zellen in Haufen, fast gar keine freien Kokken mehr	Wenig Zellen, Kokkengrösstenteils frei, teilweise Phagozytose	Zellen in Haufen, starke Phagozytose, doch noch viele Kokken frei und Bakteriolyse	Zellen spärlich, Kokken noch grösstenteils frei, doch auch Phagozytose

	Nr. 734. Norm. Hammel- serum	Nr. 702. Pneumokokken- serum	Nr. 765. Norm. Hammel- serum	Nr. 700. Pneumokokken- serum	Nr. 757. Kontrolle
3 Std.	Zellen reichlich, gut aussehend, keine freien Kokken mehr, Phagozyten fast spärlich	Massenhaft Zellen in Auflösung, nur noch einzelne Phagozyten	Keine Kokken, aber auch sehr viele Phagozyten starke Bakteriolyse	Noch einzelne freie Kokken, Zellen zahlreich, gut aussehend, Phagozytose deutlich	Zunahmed. Eiterzellen mit starker Phagozytose, aber auch freie Kokken
5 Std.	Abgelaufen, keine freien Kokken mehr, keine Phagozyten, Zellen reichlich	Zellen in Auflösung, keine Kokken mehr, keine Phagozyten abgelaufen	Dasselbe	Dasselbe	Dasselbe

Stamm Bohm. 2. Versuch.

1,5 ccm Serum subkutan, 18 Std. später 0,5 Kultur intraperitoneal.

	Normales Hammel- serum	Pneumokokken- serum	Normales Hammel- serum	Pneumokokken- serum	Kontrolle
	Nr. 777. 1,5 N.H.S. 24 Std. später 0,5 Kultur	Nr. 797. 1,5 Pneumokok- kenserum, 24 Std. später, 0,5 Kultur	Nr. 744. 1,5 norm. Ham- melsersum, 24 Std. später, 0,5 Kultur	Nr. 792. 1,5 Pneumokok- kenserum, 24 Std. später 0,5 Kultur	0,5 ccm Kultur
10 Min.	Spärliche Zellen, Lymphozyten, keine Eiterzellen, Kokken frei	Zellen spärlich, Beginn der Phagozytose, die meisten Kokken frei	Zellen sehr spärlich, Kokken frei	Kokken sämtlich frei	Zellen sehr spärlich, Kokken frei
20 Min.	Zellen spärlich, Kokken frei	Sehr spärlich Eiterzellen, wieder keine Phagozytose	Zellen sehr spärlich meisten Kokken frei, vereinzelte Phagozyten	Zellen spärlich, meisten Kokken frei, vereinzelte Phagozytose	Eiterzellen sehr spärlich, vereinzelte Phagozytose
40 Min.	Zellen noch spärlich, meisten Kokken noch frei	Zellen noch spärlich, wieder Phagozytose	Zellen noch spärlich, deutliche Phagozytose, noch viele freie Kokken	Erscheinen der Eiterzellen, meisten Kokken noch frei, vereinzelte Phagozytose	Zellen äusserst spärlich, Kokken frei, aber auch Phagozytose
1 Std.	Eiterzellen zunehmend, Kokken frei, etwas Phagozytose	Eiterzellen in Haufen liegend, von Kokken umgeben, geringe Phagozytose	Zunahmed. Eiterzellen, meisten Kokken frei, aber auch viel Phagozytose	Haufenbildung d. Eiterzellen, meisten Kokken noch frei, etwas Phagozytose	Noch wenig Eiterzellen, aber ebenso stark die Phagozytose

Aus diesen Versuchen muss jeder objektive Beurteiler die Tatsache entnehmen, dass die Verwendung leicht phagozytierbarer Pneumokokkenstämme überhaupt nicht geeignet ist, um uns über das Wesen der passiven Pneumokokkenimmunisierung des Organismus definitiv aufzuklären.

Denn einmal ist der Unterschied im Verlaufe der Phagozytose zwischen passiv immunisierten und normalen Tieren überhaupt sehr gering. Und in den Fällen, wo man den Eindruck gewinnt, dass tatsächlich die Phagozytose nach der Seruminjektion etwas schneller und ergiebiger abläuft, dürfen wir noch keineswegs den Schluss ziehen, dass hier vermehrte bakteriotrope Stoffe oder opsonische Substanzen im Spiele gewesen sind. Ich habe wiederholt angedeutet, dass dieses schnellere Eintreten der Phagozytose bei phagozytierbaren Stämmen auch indirekt durch die Serumwirkung eingeleitet sein kann.

Es müssen in einem wirksamen Pneumokokkenserum ja bestimmte Antikörper vorhanden sein. Wenn mit deren Hilfe eine schnellere und stärkere Auflösung der Kokken im Organismus wie auch immer ermöglicht wird, so werden infolge dieser vermehrten chemotaktischen Reize die Leukozyten schneller erscheinen und die noch vorhandenen ungelösten, an sich phagozytierbaren Kokken schneller aufnehmen können.

Aber das Rätsel der Immunserumwirkung ist dadurch noch nicht gelöst. Es können uns nur Versuche mit solchen Stämmen über die Wirkung des Pneumokokkenimmunserums aufklären, welche den Schutzkräften des normalen Organismus nicht so leicht zum Opfer fallen. Hier lässt sich nun zunächst wieder zeigen, dass ganz analog wie bei der aktiven, so auch bei der passiven Immunisierung abgetötete hochvirulente Passagestämme nicht durch Phagozytose aus der Bauchhöhle des Meerschweinchens verschwinden, sondern nur allmählich von der freien Bauchhöhlenflüssigkeit aufgelöst werden. Ein Unterschied zwischen den normalen und den mit Serum vorbehandelten Tieren tritt dabei nicht zutage.

Folgende Versuche mögen diese Erscheinung demonstrieren:

Versuche mit Pneumokokken-Serum vom Pferd und abgetöteter Passagekultur.

1,0 Pneumokokkenserum intraperitoneal und 1,0 abgetötete Passagekultur gleichzeitig.

	Nr. 500. Pneumokokkenserum	Nr. 510. Normales Pferdeserum	Nr. 603. Kontrolltier
3 Std.	Noch viele freie Kokken, viel Zellen, keine Phagozytose	Dasselbe	Dasselbe
20 Std.	Keine Kokken mehr, viel Zellen	Keine Kokken mehr, keine Phagozytose	Keine Kokken mehr, keine Phagozytose

Bei allen Tieren abgelaufen.

1,0 Pneumokokkenserum intraperitoneal und 1,0 abgetötete Passagekultur gleichzeitig.

	Nr. 614. Pneumokokkenserum	Nr. 625. Normales Pferdeserum	Nr. 630. Kontrolle
3 Std.	Noch viele freie Kokken, schlecht färbbar, deutliche freie Bakteriolyse, keine Phagozytose	Sehr schlecht färbbare Kokken, keine Spur von Phagozytose	Bakteriolyse der freien Kokken, keine Phagozytose
5 Std.	Kokken nehmen schnell ab durch Bakteriolyse, keine Phagozytose	Keine Phagozytose, Untergang der freien Kokken	Bakteriolyse, keine Phagozytose
20 Std.	Keine Kokken mehr, abgelaufen	Keine Kokken mehr, viel Leukozyten	Noch vereinzelte Kokken zwischen den Leukozyten, keine Phagozytose

1,0 Pneumokokkenserum subkutan, 24 Std. später
1,0 erwärmte Passagekultur intraperitoneal.

	Nr. 800. Pneumokokkenserum	Nr. 801. Normales Pferdeserum	Nr. 802. Kontrolle
1/2 Std.	Exsudat zellreicher als bei den anderen Tieren, viel freie Kokken, keine Phagozytose	Keine Phagozytose, zahlreiche Kokken	Wenig Zellen, zahlreiche Kokken, keine Phagozytose
1 Std.	Zunahme der Zellen, aber keine Phagozytose	Auch hier mehr Zellen als beim Kontrolltier, keine Phagozytose	Viel mehr Zellen als vorher, keine Phagozytose

	Nr. 800. Pneumokokkenserum	Nr. 801. Normales Pferdeserum	Nr. 802. Kontrolle
2 Std.	Exsudat schon eitrig, keine Phagozytose, starke freie Bakteriolyse	Keine Phagozytose, viel Zellen	Keine Phagozytose
10 Std.	Eitriges Exsudat, keine Kokken mehr, nichts von Phagozytose	Dasselbe	Dasselbe

Bei diesen Versuchen kam, wie besonders betont werden muss, ein im Tierversuch und auch bei therapeutischen Versuchen am Menschen gut wirksames Serum zur Anwendung. Dieselben sind aus einem anderen Grunde hier eingeschaltet worden.

Wir sind bisher zu der Erkenntnis gekommen, dass das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung an phagozytierbaren Stämmen nicht erkannt werden kann. Die Versuche mit den abgetöteten Passagekulturen lehren weiter, dass das Pneumokokkenserum auch kein direkt bakteriolytisches sein kann. Denn wir sehen keinen Unterschied in der Auflösung der Pneumokokken gegenüber den Kontrolltieren. Hier wie dort sind es die normalen lytischen Zellsäfte, welche eine Auflösung der virulenten aber abgetöteten Pneumokokken in gleicher Weise leisten.

Alles drängt daher zu der Erkenntnis, dass die Wirkung des Pneumokokkenserums nur eine indirekt bakteriolytische sein kann, und dass nur Versuche mit lebenden virulenten, an sich nicht phagozytierbaren Stämmen geeignet sind, uns über das eigentliche Wesen der Pneumokokkenserum-Wirkung aufzuklären. Ich habe daher zunächst folgenden Versuch angestellt:

Schutzwirkung eines vom Hammel stammenden Pneumokokkenserums beim Meerschweinchen gegen lebende virulente Kultur ohne jede Phagozytose:

Infektion mit ca. 20fach tödlicher Dosis bei Meerschweinchen.
1,0 Serum subkutan, Kultur 0,2, 24 Std. intraperitoneal.

	Nr. 726. Pneumokokken- serum	Nr. 790. Pneumokokken- serum	Nr. 767. Normales Hammelserum	Nr. 773. Normales Hammelserum	Nr. 722. Kontrolle Kultur
1 Std.	Bereits viele Zellen, keine Phagozytose, in jedem Gesichtsfeld einzelne Kokken	Dasselbe	Zellen spärlicher, keine Phagozytose	Dasselbe	Zellen noch sehr spärlich, keine Phagozytose
2 Std.	Unverändert, keine Phagozytose, aber Bakteriolyse	Bereits weniger Kokken? Massenhaft Leukozyten, keine Phagozytose	Zellen vermehrt, keine Phagozytose	Vereinzelte Leukozyten, Zellen nur in Auflösung, keine Phagozytose	Zunahmed. Eiterzellen, keine Phagozytose
4 Std.	Sehr viel Eiterzellen, aber keine Phagozytose, Kokken noch dieselben an Zahl	Eiterzellen in Auflösung, Kokken sehr spärlich, aber nirgends Phagozytose	Kokken nehmen an Zahl zu, keine Phagozytose	Zunahme der Kokken, keine Phagozytose	Kokken sehr viel zahlreicher
7 Std.	Kokken noch immer vorhanden, keine Phagozytose	Kokken frei, an Zahl geringer, keine Phagozytose	Weitere Zunahme der Kokken, keine Phagozytose	Sehr viel Kokken, mit Bakteriolyse, keine Phagozytose	Kokken in enormer Zunahme, keine Phagozytose
24 Std.	Noch immer einzelne Kokken, keine Phagozytose lebt	Auch hier noch einzelne Kokken, nirgends Phagozytose lebt	Kokken enorm zugenommen, Zellen in starker Auflösung, keine Phagozytose † 30 Std.	Zellen in Auflösung, umgeben von dichten Kokkenhaufen, keine Phagozytose † 36 Std.	Ganz enorme Kokkenzahl, keine Phagozytose † 30 Std.

Der Versuch ist von einem prinzipiellen Interesse.

Aus einem der früheren Kapitel erinnern wir uns, dass das normale frische aktive Hammelserum fast gar nicht oder nur sehr andeutungsweise mit Meerschweinchenleukozyten zusammen die Pneumokokken zur Phagozytose bringen kann.

In diesem Versuche kam bei zwei Tieren derartiges normales aktives Hammelserum zur Verwendung. Bei einem Tier wurde dasselbe 24 Stunden vor der Infektion subkutan verabreicht, bei dem anderen Tiere in Mischung mit der tödlichen Dosis der virulenten Pneumokokkenkultur intraperitoneal injiziert.

In beiden Fällen erlagen die Tiere der Infektion genau so gut wie das Kontrolltier. Von irgend einer Phagozytose war keine Rede. Bei den beiden anderen Tieren wurde ein Serum von einem gut immunisierten Hammel angewandt. Dasselbe hatte im Mäuseversuch sehr deutliche schützende Wirkung. Es war einige Monat alt, mit Phenolzusatz konserviert, enthielt also überhaupt wie die im Handel befindlichen Sera keine thermolabilen Körper mehr, welche hätten opsonisch wirken können. Und doch schützte dieses Serum die Meerschweinchen gegen einen hochvirulenten Pneumokokkenstamm, der an sich ebenfalls gar keiner Phagozytose zugänglich war.

Und wie schützte dieses Serum?

Die einzig bemerkenswerte Erscheinung ist die, dass die Vermehrung der Pneumokokken im Tierkörper aufgehalten wird.

Selbst wenn ursprünglich noch eine gewisse Vermehrung erfolgt, so bleibt dieselbe doch gegenüber den mit Normalserum behandelten Tieren ganz erheblich zurück und diese Pneumokokken werden nun ausserhalb der Zellen allmählich von den Körpersäften aufgelöst.

An sich könnte uns Ophthalmologen die Frage, wie das Pneumokokkenserum wirkt, ziemlich gleichgültig sein. Die Hauptsache bleibt stets dahin zu arbeiten, dass wir ein wirksames Serum bekommen, das unseren Kranken hilft.

Allein es gab für mich einen sehr wichtigen praktischen Grund, warum ich von neuem die Untersuchungen über das Wesen des Pneumokokkenserums angestellt habe.

Wenn es richtig sein würde, dass durch das Pneumokokkenserum eine Phagozytose der Pneumokokken herbeigeführt würde und dass das ganze Wesen seiner Wirkung auf diesem Phänomene beruht, so müssten wir in der Untersuchung der Phagozytose in der Kornea beim *Ulcus serpens* neben der Virulenzbestimmung der Pneumokokken einen zweiten ausgezeichneten Indikator in die Hand bekommen, an dem wir von neuem die ganze Frage der Serumtherapie des *Ulcus serpens* studieren könnten.

Denn hier haben wir einen Eiterherd des Menschen vor uns, von dem wir so bequem wie bei kaum einem anderen die Phagozytoseverhältnisse studieren könnten.

Nun kann es auf Grund meiner experimentellen Untersuchungen, ihrer Bestätigung von allen Seiten sowie auf Grund klinischer Beobachtungen keinem Zweifel unterliegen, dass die Antikörper bei Entzündungsvorgängen auch in die Kornea gelangen.

Würden diese Antikörper bei der Pneumokokkenimmunität, sei es aktiver, sei es passiver Immunisierung, in der Art wirken, dass sie die Phagozytose der Pneumokokken herbeiführen, so müsste uns die mikroskopische Kontrolle des Eiterherdes beim *Ulcus serpens* während seines ganzen Verlaufes in ausgezeichneter Weise über den Wert der spezifischen Therapie unterrichten.

Das war der Grund, warum ich die Anschauungen über das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung einer Nachprüfung unterziehen musste.

Dass das Wesen auch dieser spezifischen Serumwirkung in letzter Linie ein antibakterieller Effekt sein muss, liegt auf der Hand.

Denn wenn einer sonst im Innern des Organismus fortschreitenden Infektion durch diesen spezifischen Infektionserreger bei der passiven Immunisierung ein Halt geboten werden soll, so kann dies nur so geschehen, dass der Wachstumsmöglichkeit dieses Erregers in mehr oder weniger kurzer Zeit entgegengearbeitet wird.

Was ist das aber für ein Vorgang im einzelnen?

Bei dem klassischen Repräsentanten des bakteriziden Serums, Choleraserum liegen die Verhältnisse sehr klar. Wir sehen die Keime direkt der Auflösung verfallen und können auch im Reagenzglas diese Wirkung genau studieren.

Diese klaren Vorstellungen von der Wirkung der bakteriolytischen Substanzen der Immunsera, wie sie durch die grundlegenden Versuche von R. Pfeiffer für Cholera- und Typhussera geschaffen und in der Lehre der Hämolysinwirkung eine so vollendete Ausbildung erfahren haben, konnten leicht zu der Annahme verleiten, dass auch der Untergang der Pneumokokken im Organismus unter der Wirkung des spezifischen Serums sich in analoger Weise vollziehen werde.

Es ist wichtig hervorzuheben, dass diese Anschauung über das Wesen des Pneumokokkenserums nicht immer bestanden hat.

G. und F. Klemperer hatten das Serum für ein antitoxisch wirksames angesehen.

Auch nach Tizzoni und Panichi¹⁾ sollten Antitoxine im Spiele sein.

Aber schon Emmerich²⁾ hatte das Serum für ein bakterizides angesehen.

Dieser Auffassung hatte auch ich mich früher angeschlossen. Dieser Anschauung, dass das Pneumokokkenserum in letzter Linie ein bakterizides sei, stellte sich nun die andere Ansicht von Metschnikoff entgegen, dass das Serum auf die Leukozyten stimulierend wirke.

Diese Lehre wurde, wie wir sahen, von Neufeld modifiziert. Neufeld und Rimpau stellen sich vor, dass in dem Serum spezifische Antikörper vorhanden sein sollen, welche von den Bakterien gebunden werden und welche die letzteren so verändern, dass sie nunmehr von den Phagozyten aufgenommen und vernichtet werden.

Nun zeigen aber meine Versuche, dass das Pneumokokkenserum weder ein bakterizides noch ein bakteriotropes sein kann.

Es scheint mir, wie schon Sauerbeck hervorgehoben hat, gar nicht ausgeschlossen, dass wir es bei demselben mit antitoxischen Wirkungen zu tun haben.

Da wir aber im Tierversuch nur sehen, dass durch das Serum die Weiterentwicklung von solchen Pneumokokkengenerationen aufgehalten wird, welche infektiös wirken, so können wir bisher nur sagen, dass das Pneumokokkenserum ein antiinfektiöses ist.

Die Prüfbarkeit des Pneumokokkenserums und die Grenzen ihrer Anwendung beim *Ulcus serpens*.

Ich bin der Überzeugung, dass alle meine Bemühungen um die Serumtherapie des *Ulcus serpens* gescheitert wären, wenn es nicht gelungen wäre, das Pneumokokkenserum so zu gestalten, dass sich nunmehr jeder Nachuntersucher von seiner Wirksamkeit im Tierexperiment überzeugen kann. Dies ist jetzt durch die staatliche Prüfbarkeit unseres Pneumokokkenserums garantiert.

Durch diese staatliche Prüfbarkeit des Pneumokokkenserums hat die experimentelle Vorarbeit für die spezifische Therapie des

1) Tizzoni und Panichi, Zentralblatt f. Bakt. 1905.

2) Emmerich, Zeitschr. f. Hyg. 1894, Bd. 17.

Ulcus serpens endlich den Höhepunkt erreicht, den ich ihr von Anfang an gewünscht hatte, den sie aber erst nach grossen Mühen erzielt hat.

Ich habe nur noch zu erörtern, was der ophthalmologische Kliniker mit dieser Prüfbarkeit des Serums erreichen kann. Die Prüfbarkeit des Serums setzt ihn zum ersten Male in den Stand, sich davon zu überzeugen, ob das angewandte Mittel überhaupt imstande ist, den Infektionserreger eines Ulcus serpens zu beeinflussen.

Das erste Postulat in der Serumtherapie des Ulcus serpens bestand in der Beantwortung der Frage: Um was für Infektionen handelt es sich bei den einzelnen Fällen?

Das zweite Postulat besteht in dem Nachweis, dass das angewandte Serum auf den jeweiligen Krankheitserreger eingestellt ist.

Denn bevor wir irgend eine sichere Schlussfolgerung über die Wirksamkeit des Serums ziehen dürfen, muss festgestellt sein, ob das angewandte Mittel eine Infektion durch Pneumokokken auch bekämpfen kann.

Wir wissen, dass bei den reich verzweigten Streptokokken die Verhältnisse so liegen, dass ein Serum nicht ohne weiteres auf alle Streptokokkenstämme eingestellt ist. Die Immunisierung gegen Pneumokokken war zwar schwieriger als bei den Streptokokken durchzuführen. Dafür aber hat sich das erfreuliche Resultat herausgestellt, dass ein gut wirksames Pneumokokkenserum von vornherein gleich gegen viele pathogene Stämme schützt.

Auf wie viele Stämme aus *Ulceria serpentina* aber das Serum einpasst, muss erst bewiesen werden.

Trotz des erfreulichen Resultates einer gewissen Polyvalenz gegen differente Pneumokokkenstämme ist eine Schwierigkeit, die gerade in Rücksicht auf die Serumtherapie des Ulcus serpens noch besprochen werden muss, nicht zu beseitigen.

Nennen wir ein Pneumokokkenserum der Einfachheit halber dann ein normales oder einfaches Serum, von dem 1 ccm gerade hinreicht, um ein Tier gegen die konventionell gewählte 10- bis 100fach tödliche Dosis zu schützen. Stellen wir nun ein Serum genau auf den Stamm ein, mit dem es gewonnen ist, so finden

wir vielleicht, dass von demselben gerade 0,01 ccm zum Schutze gegen die Dosis letalis ausreicht.

Würden wir dann eine gerade durch diesen Krankheitskeim veranlasste Infektion behandeln, so würden wir in 1 ccm dieses Serums 100 schützende Dosen oder Immunitätseinheiten injiziert haben. Bei Verwendung von 20 ccm, wie beim eintreffenden *Ulcus serpens*, würden wir dann 2000 Einheiten versuchsweise angewandt haben.

Prüfen wir nun aber dasselbe Serum gegen einen anderen beliebigen Pneumokokkenstamm aus, so finden wir vielleicht, dass dasselbe in diesem Falle nur 10 Immunitätseinheiten in 1 ccm besitzt, dass wir also in 20 ccm nur 200 Einheiten angewandt haben.

Über diese Tatsache der verschiedenen Wertigkeit eines Serums gegenüber verschiedenen Stämmen stehen mir hunderte von Versuchsprotokollen zur Verfügung. Ich teile zur Orientierung nur einige Versuche mit:

Verschiedene Wertigkeit ein und desselben Pneumokokken-Serums gegenüber verschiedenen *Ulcus serpens*-Stämmen.

Serum- verdünnung 1,0 subk.	1. Stamm Dos. let. 0,1 ccm	2. Stamm Dos. let. 0,1 ccm	3. Stamm Dos. let. 0,01 ccm
1 : 10	lebt	lebt	lebt
1 : 50	"	"	"
1 : 100	"	"	"
1 : 200	"	†	-
1 : 250	"	†	†
1 : 400	†	†	†

Das Serum schützte bei den beiden ersten Stämmen mit geringer Virulenz einmal in einer Verdünnung von 1:250, das zweite Mal nur in einer Verdünnung von 1:100, und bei dem dritten Stamm trotz höherer Virulenz wieder in einer Verdünnung von 1:200.

Noch auffallender ist diese Erscheinung beispielsweise in einer anderen meiner Versuchsreihen:

Serumverdünnung	Stamm 18 Dos. let.	Stamm 24 Dos. let.	Stamm 36 Dos. let.	Stamm 48 Dos. let.	Stamm 49 Dos. let.
1,0	0,1	0,01	0,01	0,001	0,0001
1 : 10	†	lebt	lebt	lebt	lebt
1 : 25	lebt	"	"	"	"
1 : 50	"	"	"	†	"
1 : 100	†	"	†	†	†
1 : 200	†	†	†	†	†
1 : 250	†	†	†	†	†
1 : 400	†	†	†	†	†

Aus diesen Betrachtungen und Versuchen folgt ohne weiteres, dass wir genau genommen beim *Ulcus serpens* erst wieder erfahren müssten, wie viel Immunisierungseinheiten bezogen auf den jeweiligen Pneumokokkenstamm bei den einzelnen Ulzera zur Anwendung gelangt sind.

Wir müssten mit anderen Worten erst die genauere Wertigkeit des Serums für den einzelnen Pneumokokkenstamm bestimmen.

Denn es ist selbstverständlich ein anderes, ob bei einem Geschwür in genau derselben Serummenge vielleicht 2000, ein anderes, ob nur 20 wirksame Dosen zur Anwendung gelangt sind. In einem Falle wird eine bestimmte Anzahl von Pneumokokken schon von geringen Serumengen vernichtet, und wir haben reichlich Schutzstoffe zur Verfügung. Im anderen Falle ist das nicht der Fall.

Es fragt sich nur: Ist dieses Postulat in praxi erfüllbar?

Diese Frage muss ich leider verneinen. Hier sind uns unüberwindliche Schranken gezogen aus folgenden Gründen: Einmal ist eine ganz genaue Einstellung eines derartigen Serums überhaupt nicht zu erreichen. Die Verhältnisse liegen hierbei ganz anders als bei der Wertbestimmung des Diphtherieserums. Denn dort arbeiten wir mit festen, unveränderlichen Giftdosen. Bei ihrer Neutralisation entgehen uns, wie Ehrlich gezeigt hat, kaum die minimalsten Spuren von Antitoxin. Beim Arbeiten mit lebenden, sich vermehrenden Bakterien ist dies nicht zu erreichen. Aber selbst wenn es in der Fabrik gelingt, das Serum so genau wie möglich einzustellen, so ist dies in ophthalmologischen Kliniken nicht zu machen.

Denn die genaue Wertbestimmung eines solchen Serums erfordert unter Umständen Hunderte von Tieren.

Wir müssen also hiervon, obgleich es sich um eine wichtige Frage beim *Ulcus serpens* handelt, leider absehen und müssen uns damit begnügen, festzustellen, ob das beim *Ulcus serpens* angewandte Serum prinzipiell überhaupt imstande gewesen ist, eine Infektion mit dem jeweiligen Pneumokokkus zu beeinflussen.

Zur Beantwortung dieser Frage schlage ich folgende Versuchsanordnung vor:

Grosse Versuchsreihen haben mir ergeben, dass die Injektion von grossen Mengen Serum für die kleinen Mäuse an sich schon nicht indifferent ist. Phenolgehalt, heterogenes Eiweiss etc. spielen hier eine Rolle. So erklärt es sich, dass in manchen Versuchsreihen die mit 1 ccm Serum injizierten Mäuse starben, während die mit kleineren Mengen vorbehandelten Tiere davon kamen. Analoge Erscheinungen findet man in folgenden Versuchen:

Schutzversuch bei Stamm Nitz:

Kultur	1:1000000	1:500000	1:100000	1:10000	1:5000	1:1000	1:100
Dosis letalis		1 fach	5 fach	50 fach	100 fach	500 fach	5000 fach
Kontrolltier	lebt	† 4. Tag	† 6. Tag	† 7. Tag	† 24 Std.	† 24 Std.	† 24 Std.
Serum 0,2				lebt	lebt	lebt	
" 0,1				"	"	† 9. Tag	
" 0,02				"	"	lebt	
" 0,01				† 6. Tag	† 4. Tag	† 8. Tag	

Die geeignetste Serumdosis ist nach meinen Erfahrungen 1 ccm einer Serumverdünnung von 1:10 subkutan unter die Rückenhaut. Ich empfehle also, so lange wir die Serumtherapie des *Ulcus serpens* einer Kritik unterziehen, einer Reihe von Mäusen diese Dosis Serum zu injizieren und nach 24 Stunden die Tiere intraperitoneal zusammen mit Kontrolltieren, welche zur Virulenzprüfung dienen, zu infizieren. Kommen einige Tiere mit einer Dosis Kultur durch, deren tödliche Wirkung die Kontrollreihe anzeigt, so beweist der Versuch, dass das angewandte Serum imstande gewesen ist, die Infektion mit dem betreffenden Stamm zu beeinflussen.

Wir erfahren dann wenigstens, dass das angewandte Serum

Schutzversuch bei Stamm Kunkel.

Kultur	1 : 100 000 000	1 : 10 000 000	1 : 1 000 000	1 : 100 000	1 : 10 000	1 : 1 000	1 : 100	1 : 10
Dosis letalis		1 fach	10 fach	100 fach	1 000 fach	10 000 fach	100 000 fach	1 000 000 fach
Kontrolltiere	lebt	+ 2 $\frac{1}{2}$ Tag	+ 36 Std.	+ 36 Std. lebt	+ 48 Std. lebt	+ 42 Std. lebt	+ 36 Std. + 36 Std.	+ 24 Std.
Serum 0,2								
" 0,1				+ 4 $\frac{1}{2}$ Tag lebt	+ 5. Tag lebt	"	+ 3 $\frac{1}{2}$ Tag + 3 Tag	
" 0,02								
" 0,01						+ 2 $\frac{1}{2}$ Tag	+ 36 Std.	

Schutzversuch bei Stamm Well.

Kultur	1 : 100 000 000	1 : 10 000 000	1 : 1 000 000	1 : 100 000	1 : 10 000	1 : 1 000	1 : 100	1 : 10
Dosis letalis			1 fach	10 fach	100 fach	1 000 fach	10 000 fach	100 000 fach
Kontrolltiere	lebt	lebt	+ 4. Tag	+ 4. Tag	+ 2. Tag lebt	+ 2. Tag lebt	+ 2. Tag + 6. Tag + 3. Tag	+ 1. Tag
Serum 0,2								
" 0,1					+ 2. Tag "	"	+ 2. Tag	
" 0,05					+ 2. Tag		+ 2. Tag	
" 0,01					+ 2. Tag	+ 4. Tag	+ 5. Tag	

Schutzversuch bei hochvirulenter Passagekultur (Nr. 10).

Kultur	1:100000000	1:10000000	1:1000000	1:100000	1:10000	1:1000	1:100	1:10
Dosis letalis	1 fach	10 fach	100 fach	1000 fach	10000 fach	100000 fach	1000000 fach	10000000 fach
Kontrolltiere	lebt	† 8. Tag	† 36 Std. † 2 1/2 Tag lebt	† 2 1/2 Tag lebt	† 24 Std. † 2 1/2 Tag	† 24 Std. † 2 1/2 Tag	† 24 Std. † 2 1/2 Tag	† 20 Std.
Serum 0,2	† 6. Tag		† 6. Tag	† 36 Std.	† 36 Std.	† 36 Std.	† 36 Std.	
" 0,1			lebt	"				
" 0,02			† 6. Tag	† 36 Std.	† 36 Std.	† 36 Std.	† 36 Std.	
" 0,01			† 36 Std.	† 24 Std.	† 36 Std.	† 36 Std.	† 36 Std.	

Schutzversuch bei Stamm Heller.

Kultur	1:100000000	1:10000000	1:1000000	1:100000	1:10000	1:1000	1:100	1:10
Dosis letalis	1 fach	10 fach	100 fach	1000 fach	10000 fach	100000 fach	1000000 fach	10000000 fach
Kontrolltiere	lebt	† 3 1/2 Tag lebt	† 2 1/2 Tag † 8. Tag lebt	† 2. Tag lebt	† 2. Tag † 3. Tag lebt	† 2. Tag † 3. Tag lebt	† 24 Std.	† 24 Std.
Serum 0,2	† 5. Tag lebt		† 6. Tag	† 3. Tag	† 3. Tag	† 2. Tag		
" 0,1	"	"	† 5. Tag	"	"			
" 0,02	"	"	† 6. Tag	† 3. Tag	† 2. Tag			
" 0,01	"	"	† 5. Tag	† 3. Tag	† 2. Tag			

a priori die Möglichkeit hatte, mit dem betreffenden Pneumokokkenstamm in spezifische Reaktion zu treten.

Die Aufgabe der klinischen Beobachtung ist dadurch nicht unerheblich erleichtert. Sie braucht nur durch Sammlung von möglichst vielen Fällen festzustellen, welche Rolle die Zeitdauer der Infektion, die Grösse des Geschwüres, die Bösartigkeit des Prozesses, die Menge des Serums bei dem Ablauf der Erkrankung gespielt hat.

Die geringe Bedeutung der Phagozytose für die Heilung der Pneumokokkeninfektion der Cornea bei Tier und Mensch.

Meine bisherigen experimentellen Untersuchungen haben uns übereinstimmend zu der Anschauung geführt, dass das wahre Wesen der Pneumokokkenimmunität nicht durch die Phagozytose repräsentiert werden kann.

Wenn das richtig ist, dann musste vorausgesetzt werden, dass auch bei der Heilung der Pneumokokkeninfektion der menschlichen Cornea die Phagozytose nicht die Hauptrolle spielen kann.

Denn kommt es zu einer solchen Erkrankung, dann dürfen wir annehmen, dass der menschliche Organismus auch dieser Infektion gegenüber seine Immunitätsreaktionen entfalten wird. Kein anderes Untersuchungsobjekt dürfte daher besser geeignet sein uns hierüber aufzuklären als das *Ulcus serpens*. Wir haben nichts weiter nötig als von diesem Gesichtspunkt aus die verschiedenen Stadien der Geschwürsentwicklung systematisch zu untersuchen.

Zunächst waren aber auch hier wieder experimentelle Vorstudien erforderlich.

Ich habe zu diesem Zwecke bei zahlreichen Kaninchen Hornhautinfektionen mit den allerverschiedensten Pneumokokkenstämmen gesetzt.

Wenn wir auch bei diesem Tier, wie längst bekannt ist, nicht das typische Bild des menschlichen *Ulcus serpens* herbeiführen können, so lassen sich doch verschiedene Fragen der Serumtherapie dabei lösen.

Da hierüber noch in einer ausführlichen Arbeit aus meiner Klinik berichtet werden wird, so begnüge ich mich an dieser Stelle

damit, nur die beiden Fragen zu beantworten, die uns jetzt interessieren.

Die erste Frage lautet: Wie heilt eine Infektion der Kaninchenkornea mit virulenten Pneumokokken ab, wenn sie sich selbst überlassen wird und somit ein Paradigma eines spontan verlaufenden menschlichen Ulcus serpens darstellt?

Der folgende Versuch wird die Antwort geben:

Impfung einer Hornhauttasche bei zwei Kaninchen mit einer Mäuse-Passage-Kultur von mittlerer Virulenz.

Die Infektion erfolgte an den zwei Augen. Verlauf:

Nach 14 Std.: Augen noch verhältnismässig reizlos, an der Infektionsstelle kleine gelbliche Herde mit massenhaften Pneumokokken.

Nach 2 Tagen: Injektion nimmt zu, eitrig Konjunktivis. Herde in deutlicher Progression. Mikroskopisch: Keine Phagozytose.

Nach 3 Tagen: Herde jetzt gelbeitrig, haben eine Grösse von 4 mm erlangt. Mikroskopisch: Massenhaft Eiterzellen, nicht die geringste Phagozytose.

Nach 5 Tagen: Höhepunkt der Infektion, Herde in der Tiefe zu weitergeschritten. P.K. leicht nachzuweisen, neben solchen mit schönen Kapseln breite Degenerationsformen, keine Phagozytose.

Nach 6 Tagen: Keine Zunahme der Infektion mehr. Mikroskopisch: Vermehrte extrazelluläre Degeneration der Pneumokokken, keine Phagozytose.

Nach 7 Tagen: Augen fangen bereits an abzublassen, Herde noch reichlich infiltriert, nirgends Phagozytose. Zahl der nachweisbaren Pneumokokken viel kleiner.

Vom 8. Tage ab Rückgang der Infektion, nur noch vereinzelte Pneumokokken, niemals in Leukozyten.

Der Versuch zeigt, dass eine Infektion der Kaninchenkornea durch tierische, virulente, nicht phagozytierbare Pneumokokken spontan abheilt ohne jede Mitbeteiligung der Phagozytose. Es kann keine Rede davon sein, dass die Phagozytose hierbei die Infektion überwindet. Benutzt man zu den Versuchen andere Stämme, die an sich der Phagozytose zugänglich sind, so lässt sich eine Aufnahme der Kokken in die Leukozyten sehr wohl feststellen. Aber

auch dann heilen solche Infektionen nur dadurch, dass die Pneumokokken die Fähigkeit verlieren, in der Kornea weiter zu wachsen.

Was nun für den Spontanverlauf der Pneumokokkeninfektion an der tierischen Hornhaut gilt, trifft auch für serumtherapeutische Versuche zu.

Ich teile beispielsweise einen Versuch mit. In demselben soll die 2. uns hier interessierende Frage beantwortet werden:

Wie gestalten sich die Phagozytoseverhältnisse in der Kaninchenkornea nach Infektion mit virulenten Pneumokokken und Anwendung des Pneumokokkenserums?

Kan. Nr. 250. Intravenös 2 ccm Pneumokokken-Serum.

„ „ 251. „ 2 ccm normal. Pferdeserum.

„ „ 252. Kontroll-Tier.

Bei den Tieren werden an allen Augen Hornhauttaschen mit einer virulenten Passagekultur geimpft.

Verlauf:

Nach 24 Std.: Bei allen Infiltrationsherde von 2 mm Ausdehnung, noch kein Unterschied zwischen den Tieren. Massenhaft Pneumokokken, keine Phagozytose.

Nach 2 Tagen: Kontrolltier und dasjenige mit normalem Serum haben die stärksten Reizerscheinungen, hier sind die Infiltrate grösser geworden. Bei sämtlichen Tieren fehlt die Phagozytose.

Nach 3 Tagen: Nur beim Tier mit Pneumokokken-Serum ist die Infektion stehen geblieben. Bei allen Tieren fehlt die Phagozytose.

Nach 4 Tagen: Weiterer Rückgang der Infiltration beim Immunserum-Tier, hier Zahl der P.-K. in rapider Abnahme, bei sämtlichen Tieren keine Phagozytose.

Nach 5 Tagen: Dasselbe Bild.

Nach 6 Tagen: Auch bei den anderen Tieren steht die Infektion, die Herde sind aber noch sehr dicht und gelbeitrig. Nirgends Phagozytose.

Bis zum 10. Tage werden Präparate angelegt, nirgends Phagozytose.

Vom 8. Tage beim Immunserum-Tier keine P.-K. mehr zu finden.

Nach dieser Feststellung können wir uns dem menschlichen Ulcus serpens zuwenden.

Ich habe regelmässig an gutartigen wie bösartigen, an spontan verlaufenden wie serumtherapeutisch behandelten Fällen Tag für

Tag Präparate angelegt und die Bedeutung der Phagozytose kontrolliert.

Dabei hat sich folgendes herausgestellt. Wie bekannt, begegnen wir beim *Ulcus serpens* in der Infiltrationszone allerdings der Phagozytose.

Niemals aber liegt die Sache so, dass etwa die Heilung des Geschwürs, die Beseitigung der Pneumokokken durch die phagozytäre Eigenschaft der Eiterzellen erfolgt.

Sondern wir müssen uns das Zustandekommen und den Verlauf dieser Infektion folgendermassen vorstellen.

Von vornherein stehen auch hier dem menschlichen Organismus zwei Immunitätsreaktionen zur Verfügung.

Gelingt es einem Pneumokokkus in einer Hornhautwunde sich anzusiedeln, und ist der Pneumokokkenstamm von vornherein seiner Organisation nach so geartet, dass er phagozytiert werden kann, so treten in erster Linie die durch chemotaktische Wirkung dem Infektionsherde zuströmenden Eiterzellen in Tätigkeit. Dieselben sind aber allein, wie die Untersuchung zeigt, nicht imstande, die Phagozytose der Pneumokokken zu vollbringen. Finden wir daher in der Kornea deutliche Phagozytose, so ist das ein schöner und neuer Beweis dafür, dass infolge der auf die benachbarten Randgefässe des Limbus wirkenden entzündlichen Reize in kurzer Zeit die Opsonine des normalen Serums in die Kornea hineindiffundiert sein müssen. Ein Teil der Pneumokokken wird daher auf diese Weise in der Kornea unschädlich gemacht. Aber es ist nicht der grösste Teil, wie die Betrachtung der Präparate zeigt. Denn wir sehen in solchen Fällen im mikroskopischen Bild bei weitem den grössten Teil der Kokken auch hier allmählich extrazellulär durch Bakteriolyse zugrunde gehen.

Neben den Opsoninen müssen daher auch noch andere Bestandteile aus dem Serum in die Kornea hineingelangen. Auf diese Weise wird unser Organismus am Auge mit solchen Infektionen fertig. So vollzieht sich die Spontanheilung einer Pneumokokkeninfektion am Auge. Prüft man in solchen Fällen die Virulenz, so zeigt sich, dass wir es mit verhältnismässig gelinden Infektionen zu tun haben.

Ganz anders sind die mikroskopischen Bilder, wenn es sich bereits um ernstere Erkrankungen handelt.

Auch hierbei handelt es sich noch um Pneumokokkenstämme, welche von vornherein zum Teil der Phagozytose zugänglich sind und darum treffen wir auch in solchen Fällen noch hie und da Phagozytosen an. Sobald aber die Infektion weiterschreitet, so ist das ein Zeichen, dass der betreffende Pneumokokkenstamm die Fähigkeit besitzt oder erworben hat, sich seinerseits gegen diesen Phagozytosemechanismus zu schützen, vielleicht sich gegen die Schutzstoffe des Körpers zu immunisieren. Wir sehen dann schon, dass solche Stämme sich von den anderen durch eine stärkere Kapselbildung unterscheiden.

Ursprünglich trifft man in den ersten Stadien solcher *Ulceria serpentina* Bilder, wie sie in der beigegebenen Tafel dargestellt sind:

Die Kapselbildung ist noch gering, der Prozess kann sich selbst zur Heilung anschicken. Von einem bestimmten Momente aber erscheinen immer mehr Pneumokokkenindividuen, welche eine starke Kapsel herausgebildet haben. Die Infektion geht weiter. Es erscheinen dann im Verlaufe derselben neue Generationen von Pneumokokken, die wir als tierische Bakterien kennen gelernt haben.

Dieselben sind nun nicht mehr phagozytierbar, sie sind virulenter geworden. Auch solchen Infektionserregern gegenüber ist unser Auge noch nicht ganz hilflos.

Besitzt der betreffende Organismus die Fähigkeit nunmehr genügend andere Antikörper zu liefern, welche das Wachstum solcher Kokken aufhalten können, so kann auch ein solches *Ulcus serpens* noch schliesslich zum Stillstand gelangen, wenn auch vielleicht erst nach tagelangem Weiterschreiten. Dieses Weiterschreiten wird dann erfolgen, wenn der bedrohte Organismus erst genötigt ist, diese andere Kategorie von Schutzstoffen zu produzieren, wie beispielsweise bei der Pneumonie.

Verfolgen wir solche Fälle genau im mikroskopischen Bild, so überzeugen wir uns, dass die Heilung nicht durch die Phagozytose zustande kommt. Es genügt vollständig für den Organismus, wenn er es erreicht, dass das schrankenlose Wachstum der Kokken im Gewebe verhindert ist. Dann gehen die Pneumokokken allmählich zugrunde, die Infektion kann nicht mehr weiterschreiten, — ein neuer Hinweis, worin das Wesen der Pneumokokkenserumwirkung bestehen muss. Was der Körper solchen Infektionen gegenüber spontan nicht leisten kann, darin wollen wir ihn durch die Serumwirkung unterstützen. Wir führen ihm gerade solche Schutzstoffe

im Serum zu, welche gegen das weitere Vordringen derartiger virulenter Keime gerichtet sind.

Dieselben sind freilich von anderen Tieren im Immunisierungsprozess gebildet, sie können nicht denselben Wert besitzen wie die eigenen Antikörper.

Wir sehen aber doch, dass wir mit dem Pneumokokkenserum jetzt im Tierversuch derartige Infektionen überwinden können. Hieraus ergibt sich, dass diese Schutzstoffe des Pneumokokkenserums in gewissen Grenzen auch im menschlichen Organismus verwertet werden können.

Dies wird vor allem dann der Fall sein, wenn so frühzeitig wie möglich beim *Ulcus serpens* die Serumanwendung erfolgt.

Wie richtig diese Deduktionen sind, ergibt sich aus der Untersuchung von Fällen, von denen der abgebildete Fall Drechsler ein Beispiel ist. Hier war die Seruminjektion nicht imstande, die Ausbildung solcher virulenter Generationen hintenan zu halten.

Derartige virulenteste Infektionen können nun aber auch von vornherein am Auge gegeben sein.

Dann handelt es sich um jene malignen Fälle von *Ulcus serpens*, welche unter stürmischen entzündlichen Erscheinungen unaufhaltsam verlaufen.

Untersucht man solche Fälle, so vermisst man von vornherein jede Phagozytose. Hier müsste das Serum in den allerfrühesten Stadien injiziert sein und auch da wird es noch von der Energie des virulenten Stammes abhängig sein, ob überhaupt ein Erfolg zu erzielen ist.

Wer solche Untersuchungen einmal durchführt, wird sich überzeugen, dass bei der Spontanheilung eines *Ulcus serpens* die Phagozytose nicht die Hauptrolle spielt, sondern dass es eben die eigentliche antiinfektiöse Immunitätsreaktion des Körpers ist, welche die Entscheidung bringt.

Denn sobald einmal das Geschwür die Neigung bekommen hat, weiterzuschreiten, so ist das schon ein Zeichen, dass der Phagozytosemechanismus unzureichend ist und dass andere Kräfte hier eingreifen müssen.

Wenn dies richtig ist, so kann die Wirkung des Pneumokokkenserums auch beim *Ulcus serpens* nicht in einer phagozytosebefördernden Eigenschaft des Serums gesucht werden. Und damit komme ich zum letzten auch am Menschen noch gelieferten Beweise,

dass die Wirkung unseres Serums eine antiinfektiöse oder anti-aggressive ist.

Hier kann ich mich kurz fassen. Untersucht man *Ulcera serpentina*, die nach der Seruminfektion so glatt heilten, dass ich nach dem ganzen klinischen Verlauf an einen therapeutischen Nutzen der Serumanwendung glauben musste, so ergibt sich auch hier die Tatsache, dass bei dieser Art von Heilung des *Ulcus serpens* die Phagozytose keine Rolle spielt.

Besser als alle Beschreibungen werden die beigegebenen Abbildungen von solchen Fällen das Gesagte illustrieren.

Wer mit mir in solchen Fällen von einer Heilwirkung des Serums überzeugt ist, wird zugeben, dass die Heilung ohne die Phagozytose zustande gekommen ist. Und wer noch immer nicht von dem Nutzen des Serums überzeugt ist, muss dann aber zugeben, dass die Spontanheilung des *Ulcus serpens* ohne die Phagozytose erfolgt.

Ist das aber der Fall, dann werfen diese Untersuchungen ein eigentümliches Licht auf die behauptete Heilwirkung des Deutschmann'schen Hefeserums beim *Ulcus serpens*. Es liegt mir fern, auf die Versuche mit diesem Serum einzugehen. Der Sachverständige auf diesem Gebiete ist sich darüber klar, wie diese Versuche ausgehen werden. Es ist schon wiederholt, auch von mir erwiesen worden, dass das Deutschmann'sche Serum als nicht spezifisches Serum selbstverständlich nicht imstande ist, auch nur eine Pneumokokkeninfektion im Tierkörper zu beeinflussen. Wie dies von jenem Serum im menschlichen Organismus ermöglicht werden soll, bleibt unerklärlich. Deutschmann selbst hat die Wirkung seines Serums in der phagozytierenden Einwirkung gesucht. Demgegenüber hatte ich schon in der Diskussion auf dem Heidelberger Kongresse hervorgehoben, dass uns ein solches Serum, wenn es nur phagozytierende Wirkung hätte, in der Therapie des *Ulcus serpens* nichts nützen kann, weil die Heilung eines *Ulcus serpens* auf ganz andere Weise erfolgt.

Es bleibt mir nur noch die Aufgabe zu erklären, warum wir denn nach der Injektion des Pneumokokkenserums sehr häufig am *Ulcus serpens* tatsächlich eine stärkere lokale Reaktion am Geschwür, eine stärkere Infiltration am Rande zu sehen bekommen.

Soweit dieselbe nicht als Reaktion auf unsere Abimpfung gelten kann, muss sie nach meinem Dafürhalten als eine indirekte

Wirkung des Serums angesehen werden. Wir dürfen stärkere Infiltration nicht mit stärkerer Phagozytose identifizieren. Nach der Seruminjektion erfolgt in den geeigneten Fällen offenbar durch das Aufhalten der Infektion ein vermehrter extrazellulärer Untergang der Pneumokokken, wie wir im mikroskopischen Bild auch gesehen haben. Dadurch werden Bakteriensubstanzen in vermehrter Weise in Freiheit gesetzt, es erfolgt durch dieselben eine stärkere chemotaktische Reizwirkung auf die Leukozyten und dadurch kommt die Lokalreaktion am Geschwür zustande. Dass dieselbe in geeigneten Fällen wieder nützlich sein kann, versteht sich von selbst. Wir sehen in solchen Fällen ein schnelles Abschmelzen der nekrotischen Partien und eine Reinigung des Geschwüres.

Über lokale Anwendung des Pneumokokken-Trockenserums beim Ulcus serpens.

Dass die Immunität des Gesamtorganismus, sei es die aktive, sei es die passive, sich auch auf das Auge erstreckt, ist von Löffler und dann von mir in zahlreichen Versuchen erwiesen worden.

Es ist aber in der anatomischen Beschaffenheit des Auges bzw. seiner Membranen und in der Eigenart seines Stoffwechsels begründet, dass im Vergleich zu anderen Organen der Immunität des Auges sehr enge Grenzen gesteckt sind.

Besonders bei den Infektionskrankheiten der Kornea macht sich in therapeutischer Beziehung der Mangel an Blutgefäßen, die Langsamkeit der Durchströmung mit Gewebsflüssigkeit leider sehr bemerkbar.

Daraus erklärt es sich, dass jeder Serumtherapie am Auge, so auch der Serumtherapie des Ulcus serpens sehr enge Schranken gezogen sind.

Zwar diffundieren, wie wir seit Leber's Untersuchungen wissen, bei Entzündungsprozessen in der Kornea sehr wohl die fibrinogenen Substanzen in die Kornea hinein. Und auch den Übertritt der Antikörper aus den Randgefäßen der Kornea können wir im Experiment dadurch nachweisen, dass wir Infektionsprozesse bei immunisierten Tieren milder verlaufen sehen als bei den Kontrolltieren.

Ich erinnere daran, dass ich die Neutralisation des Diphtheriegiftes in der Kornea durch das spezifische Antitoxin dartun konnte.

Aber gerade bei den Infektionskrankheiten, bei denen die Vermehrung der Keime die Hauptrolle spielt, wird die serumtherapeutische Breite stets eine geringe bleiben. Ich bin nun unablässig bemüht gewesen, diese engen Grenzen zu erweitern und zwar auf folgenden Wegen:

Zunächst glaubte ich, dass wir die Wirkung des injizierten Serums dadurch steigern könnten, dass wir am Auge bestimmte Reize anwenden. So hat Wessely ja gezeigt, dass nach subkonjunktivalen Kochsalzinjektionen ein vermehrter Übertritt der Antikörper in die vordere Kammer erfolgt.

Ich suchte daher experimentell festzustellen, ob die Pneumokokkeninfektionen in der Kornea unter der Serumtherapie dann besser und ausgiebiger zu bekämpfen seien, wenn wir am Auge nach der Zufuhr des Serums in den Organismus noch subkonjunktivale Kochsalzreize setzen. Allein ich habe bisher keine hinreichenden Anhaltspunkte dafür bekommen können, dass die Heilresultate bei Hornhautinfektionen dadurch gesteigert werden können. Ich sehe daher davon ab, an dieser Stelle die zahlreichen nichts beweisenden Versuchsprotokolle mitzuteilen.

Nachdem aber meine Untersuchungen das Wesen der Spontanheilung der Pneumokokkeninfektion in der Kornea und die Wirkung des Pneumokokkenserums etwas aufgeklärt haben, hat sich ein neuer Weg eröffnet, auf dem wir versuchen können, die Grenzen der Serumtherapie des *Ulcus serpens* zu erweitern.

Besteht die Wirkung des Serums darin, dass es mit Hilfe ganz spezifischer Antikörper die Angriffsstoffe die Pneumokokken lahmlegt, die Entwicklung der pathogenen Generationen hemmt, so haben wir nunmehr einen sachlichen Anhaltspunkt, um bei den Hornhautgeschwüren die lokale Anwendung des Serums zu Hilfe zu nehmen.

Schon früher einmal hatte ich versucht, bei dem alten Serum durch Aufträufung desselben auf die Geschwüre die Immunisierung zu unterstützen.

Damals glaubten wir noch, dass es sich um direkt bakterizide Wirkungen handeln könnte. Die Versuche führten aber aus mehreren Gründen nicht zum Ziele.

Einmal sind es gar keine direkten bakteriziden Wirkungen, die das Serum ausübt. Zweitens enthielten die früheren Sera nicht

genügend die Stoffe, auf die es gerade ankommt. Und drittens ermöglichte die flüssige Form das Serums keine genügende Kontraktwirkung am Geschwüre, es wurde zu leicht heruntergespült.

Jetzt, wo das Serum, wie im Tierversuch nachweisbar ist, die Pneumokokkeinfektion beeinflusst, stellen die Höchster Farbwerke nach Rücksprache mit Professor Ruppel das Pneumokokkenserum auch in trockener Form her, und zwar für unsere Zwecke in Pulverform. Ich rate sehr, dass die Kliniken sich ein Quantum dieses Serumpulvers vorrätig halten.

Ich habe dasselbe z. B. bei der Pneumokokkenkonjunktivitis mit gutem Erfolge versucht.

Mit einem Pulverbläser bestreuen wir jetzt die *Ulcera serpentina* nach der subkutanen Seruminjektion in kurzen Intervallen genau so wie dieselben früher mit Jodoform etc. gepudert worden sind.

Dieses Serum löst sich in der Flüssigkeit der Konjunktiva zwar ebenfalls ziemlich schnell. Aber es versteht sich von selbst, dass wir jetzt das Serum viel konzentrierter anwenden können als wenn wir flüssiges Serum aufträufeln würden.

Da die ganzen Immunitätsvorgänge in spezifisch chemischen Bindungsvorgängen bestehen, so geht auch diese Anwendung des Pneumokokkenserums, die wir als Unterstützung der allgemeinen Immunisierung heranziehen, von der Voraussetzung aus, dass die Pneumokokken in dem frei liegenden Geschwür die spezifischen Antikörper aufnehmen werden. Damit eröffnet sich wieder eine neue klinische Aufgabe. Genau so gut wie früher einzelne Autoren antiseptische Mittel wie Jodoform, Airol etc. auf die Geschwüre brachten — Mittel, von denen jetzt erwiesen ist, dass sie die Pneumokokken im lebenden Gewebe nicht vernichten können — genau so gut könnten jetzt darüber klinische Untersuchungen angestellt werden, wie weit wir in der Behandlung von *Ulcera serpentina* kommen, wenn wir die spezifischen antiinfektiösen Stoffe des Immunserums in konzentrierter Form aufpudern.

Ich selbst kann über derartige klinische Versuche noch nicht berichten, da ich bisher die lokale Anwendung des Serums nur zur Unterstützung der allgemeinen Immunisierung heranziehe.

Doch wäre es ein Verdienst, wenn diese Frage einmal untersucht würde. Klargestellt muss sie werden, wenn wir die Serumtherapie des *Ulcus serpens* von allen Seiten beleuchten wollen. Untersucht jemand diese Frage, so muss aber wieder das klinische

Bild des *Ulcus serpens* mit der Virulenz der Stämme verglichen und festgestellt werden, auf welche Stämme das angewandte Trockenserum eingestellt war.

Biologische Zusammengehörigkeit der Pneumokokkenstämme aus *Ulceria serpentina*.

In der Pathologie des *Ulcus serpens* und noch mehr in seiner spezifischen Prophylaxe und Therapie würde eine grosse Lücke klaffen, wenn wir die nun schon mehrfach gestreifte Frage unentschieden lassen müssten, ob die Pneumokokkenstämme, welche wir in der menschlichen Kornea antreffen, biologisch zusammengehören oder nicht.

Ein Beispiel mag die praktische Bedeutung dieser Frage illustrieren. Wir behandeln zwei *Ulceria serpentina* mit einem Pneumokokkenserum, das eine heilt glatt ab, das andere nimmt einen malignen Verlauf.

Dürfen wir annehmen, dass der Pneumokokkenstamm aus dem letzteren biologisch etwas ganz anderes darstellt als der erste Stamm, derart, dass ein spezifisches Serum wohl auf einen Stamm abgestimmt ist, den anderen aber vollkommen unbeeinflusst lässt?

Mit anderen Worten: Umfasst die Familie des Pneumokokkus eine ganze Anzahl von Angehörigen, die sich einander so fremd sind, dass die bekannte Spezifität der Immunitätsreaktionen sich nur wieder höchstens auf einzelne dieser Vertreter beziehen kann?

Würde diese Anschauung richtig sein, so wäre zwar die Möglichkeit einer spezifischen Therapie nicht ausgeschlossen. Wir würden dann eben gezwungen sein zur Herstellung eines Immunserrums nicht nur eine einzige Kultur, sondern eine möglichst alle Gruppen umfassende Anzahl von Stämmen zu verwenden, ein Postulat, dem ja aus rein praktisch technischen Gründen von den Serumdarstellern ohnehin Rechnung getragen wird. Aber die Serumtherapie der Pneumokokkeninfektionen wäre jedenfalls noch mehr erschwert.

In der Tat treffen wir ja derartige biologische Differenzen bei anderen Krankheitserregern an.

Allein auch hier gilt der Satz, dass man nicht ohne objektive Prüfung die Verhältnisse einer Bakterienart auf die andere übertragen soll. Und bei den Pneumokokken aus *Ulceria serpentina*

habe ich immer die Anschauung vertreten, dass eine so weitgehende biologische Differenzierung wie bei den Streptokokken nicht eingetreten ist. Wohlverstanden gebe ich selbstverständlich gern zu, dass bei der Passage einer Kultur durch den Tierkörper eine Anpassung an denselben eintritt, die mit offenbaren biologischen Veränderungen verbunden ist.

Allein bei der Frage der biologischen Zusammengehörigkeit der Pneumokokkenstämme in den *Ulcera serpentina* handelt es sich nicht um die Anpassung an heterogene Organismen, sondern um die Frage, ob zwei Pneumokokkenstämme, von denen jeder dasselbe Krankheitsbild beim Menschen erzeugt hat, biologisch so heterogen sind, dass sie von spezifischen Pneumokokkenantikörpern nicht tangiert werden.

Freilich quantitative Differenzen bei den einzelnen Stämmen in der Reaktionsfähigkeit mit den Immunsstoffen müssen selbstverständlich vorhanden sein. Aber ich kann mir nicht denken, dass, wenn der eine Originalstamm eine Tiervirulenz von 1:50, der andere genau nach derselben Methode und demselben Materiale eine Virulenz von 1:2000 aufweist, diese letztere Pathogenität auf der Bildung ganz anderer Substanzen beruhen soll.

Ich suche diese Unterschiede nicht in qualitativen, sondern in quantitativen Differenzen und habe daher von jeher die Frage nach der biologischen Zusammengehörigkeit der aus *Ulcera serpentina* herrührenden Pneumokokkenstämmen verfolgt. Zu diesem Zwecke hatte ich zunächst Herrn Dr. Scholtz aus Budapest veranlasst, die Frage der Zusammengehörigkeit der Pneumokokkenstämme noch einmal an der Hand des Agglutinationsphänomens zu prüfen¹⁾ Die Versuche führten indessen ebenso wie die früheren Versuche von Kindborg²⁾ zu keinem klärenden Resultat.

Denn es zeigte sich, dass in der Agglutinationsreaktion auch bei den Pneumokokken mannigfache Differenzen vorkommen, wie wir sie auch bei anderen Bakterien antreffen.

Auch ich selbst habe zahlreiche Versuche über die Agglutination der Pneumokokken angestellt.

Ich teile von denselben nur einige mit, damit der Leser sich überzeugt, dass die Agglutinationswirkung eines Pneumokokken-

1) Scholtz, *Archiv f. Augenheilk.* 1906, 54. Bd., S. 84.

2) Kindborg, *Zeitschr. f. Hygiene*, 1905, S. 97.

serums uns keinen Massstab für den Schutzkörpergehalt desselben liefert.

Es handelt sich beispielsweise um ein von Pferd stammendes Pneumokokkenserum, welches schon in geringen Mengen Tiere gegen die tausendfach tötliche Dosis schützte.

Fehlende Agglutinations-Wirkung eines gut schützenden Pneumokokken-Serums bei Stamm 10.

Titre	Immunserum	Normalserum
1:10	Spur	O
1:20	O	O
1:30	O	O
1:40	O	O
1:50	O	O
1:60	O	O
1:70	O	O
1:80	O	O
1:90	O	O
1:100	O	O
1:200	O	O
1:300	O	O
1:400	O	O
1:500	O	O
1:600	O	O

Fehlende Agglutinations-Wirkung eines gut schützenden Pneumokokken-Serums gegen heterologe virulente Stämme.

Titre	Immunserum		Normalserum	
	Stamm 14	Stamm 16	Stamm 14	Stamm 16
1:10	O	Spur	O	Spur
1:20	O	O	O	O
1:30	O	O	O	O
1:40	O	O	O	O
1:50	O	O	O	O
1:60	O	O	O	O
1:70	O	O	O	O
1:80	O	O	O	O
1:90	O	O	O	O
1:100	O	O	O	O

Derartige Befunde, wie [ich sie noch zu Dutzenden' mitteilen könnte, sprechen aber noch nicht gegen die biologische Zusammengehörigkeit der Pneumokokkenstämme bezüglich ihrer Pathogenität.

Denn das Phänomen der Agglutination ist noch kein Massstab für die Pathogenität oder Aggressivität eines Bakteriums. Ich möchte dabei noch einmal an eine Tatsache erinnern, die Bail gefunden hat. Lässt man einen sonst gut agglutinierbaren Typhusstamm ein Meerschweinchen passieren, so kann man es erleben, dass durch diese einmalige Tierpassage die Agglutinierbarkeit des Stammes sinken, ja vollständig verloren gehen kann. Und doch wird niemand bestreiten, dass es sich noch um denselben Typhusstamm handelt. Daraus ergibt sich, dass die Frage, ob Bakterienstämme bezüglich ihrer Pathogenität in gemeinsamen spezifischen Beziehungen zu einander stehen, mit anderen Methoden untersucht werden muss.

Ich versuchte es daher mit der Komplementablenkung. Aber auch diese Bemühungen führten nicht zum Ziele. Die folgenden Versuche mögen zeigen, dass einerseits bereits Extrakte aus Pneumokokkenstämmen allein die Komplemente der Normalsera ablenken, dass andererseits auch das Pneumokokkenserum allein schon imstande ist derartige Komplementbindungen ebenso auszulösen wie normales Pferdeserum.

Hämolysine der Normalsera für Meerschweinchen-Blut unter dem Einfluss von Pneumokken-Extrakt, normalem Pferde- und Pneumokokken-Serum.

Art der Hämolysine	Komplett lösende Dosis	mit 1,0 Pneumokokk.-Ext.	mit 0,1 norm. Pferdeserum	mit 0,1 Pneumokokkenser.
Akt. Rindserum	0,2	O	komplett	komplett
„ Hammelserum	0,25	O	„	fast komplett
„ Schweineserum	0,2	O	fast komplett	etwas

Hämolyse der Normalsera für Kaninchenblut unter dem Einfluss von Pneumokken-Extrakt,
normalem Pferde- und Pneumokokken-Serum.

1. Hämolyse des Rind-Serum für Kaninchenblut.

Aktives Rind-serum	Titre	mit Pneumo- kokken-Extrakt 60°	mit Pneumo- kokken-Extrakt 100°	normales Pferdeserum 0,05	normales Pferdeserum 0,1	Pneumokokken- serum 0,5	Pneumokokken- serum 0,1
0,1	deutlich	O	O	deutlich	deutlich	Spur	Spur
0,15	fast komplett	O	O	fast komplett	fast komplett	deutlich	deutlich
0,2	komplett	Spur	Spur	komplett	komplett	fast komplett	"
0,25	"	"	"	"	"	komplett	komplett
0,3	"	deutlich	deutlich	"	"	"	"
0,35	"	fast komplett	"	"	"	"	"
0,4	"	komplett	fast komplett	"	"	"	"

2. Hämolyse des Schweineserums für Kaninchenblut.

0,1	O	O	O	O	O	O	O
0,15	O	O	O	O	O	O	O
0,2	Spur	O	O	O	O	O	O
0,25	deutlich	O	O	O	Spur	O	O
0,3	"	O	O	Spur	"	O	O
0,35	komplett	O	O	"	"	O	O
0,4	"	O	O	deutlich	"	O	O

3. Hämolyse des Hammelserums für Kaninchenblut.

Aktives Rind-serum	Titre	mit Pneumokokken-Extrakt 60°	mit Pneumokokken-Extrakt 100°	normales Pferdeserum 0,05	normales Pferdeserum 0,1	Pneumokokken-serum 0,5	Pneumokokken-serum 0,1
0,1	O	O	O	O	O	O	O
0,15	O	O	O	O	O	O	O
0,2	Spur	O	O	Spürchen	Spur	O	O
0,25	"	O	O	Spur	"	Spur	O
0,3	deutlich	O	O	"	"	"	Spürchen
0,35	"	O	O	deutlich	deutlich	"	Spur
0,4	komplett	O	O	"	"	deutlich	deutlich

Hämolyse des Kaninchenserums für Hammelblut unter dem Einfluss von Pneumokokken-Extrakt, normalem Pferde- und Pneumokokken-Serum.

Aktives Kaninch.-serum	Titre	mit Pneumokokken-Extrakt 60°	mit Pneumokokken-Extrakt 100°	normales Pferdeserum 0,05	normales Pferdeserum 0,1	Pneumokokken-serum 0,5	Pneumokokken-serum 0,1
0,1	Spur	O	O	O	O	O	O
0,15	"	O	O	O	O	O	O
0,2	deutlich	O	O	Spürchen	O	O	O
0,25	komplett	O	O	Spur	Spürchen	Spur	Spürchen
0,3	"	O	O	deutlich	Spur	"	Spur
0,35	"	O	O	komplett	fast komplett	komplett	"
0,4	"	O	O	"	"	"	"

Hämolyse des Schweineserums für Hammelblut unter dem Einfluss von Pneumokokken-Extrakt, normalem Pferde- und Pneumokokken-Serum.

Titre	mit Pneumo- kokken-Extr. 60°	normales Pferdeserum 100°	normales Pferdeserum 0,02	normales Pferdeserum 0,05	normales Pferdeserum 0,1	Pneumo- kokken- Serum 0,02	Pneumo- kokken- Serum 0,05	Pneumo- kokken- Serum 0,1
0,1	○	○	○	○	○	○	○	○
0,2	Spur	○	○	○	○	○	○	○
0,3	"	○	○	○	○	○	○	○
0,4	"	○	○	○	○	○	○	○
0,5	deutlich	○	○	○	○	○	○	○
0,6	"	○	○	○	○	○	○	○
0,7	"	○	○	○	○	○	○	○
0,8	fast komplett	○	○	○	○	○	○	○
0,9	"	○	Spürchen	○	○	Spürchen	○	○
0,1	"	○	"	○	○	"	○	○
0,11	komplett	○	"	○	○	"	Spürchen	○
0,12	"	○	Spur	Spur	○	deutlich	"	○
0,13	"	○	deutlich	"	○	fast komplett	"	○
0,14	"	○	fast komplett	"	○	"	Spur	○
0,15	"	○	"	"	○	"	"	○
0,16	"	○	"	"	○	komplett	"	○
0,17	"	○	komplett	"	Spur	"	"	○
0,18	"	○	"	deutlich	"	"	deutlich	○
0,19	"	○	"	"	deutlich	"	"	○
0,2	"	○	fast komplett	fast komplett	"	"	fast komplett	○

Es bleibt demnach auch in dieser Frage nichts anderes übrig als den Tierversuch heranzuziehen und zu prüfen, ob ein wirksames Pneumokokkenserum, das durch Immunisierung mit einem virulenten Stamm hergestellt ist, imstande ist, gegen alle möglichen *Ulcus serpens*-Stämme die Tiere zu schützen.

Es war dies eine nicht geringe Arbeit.

Dieselbe bildet die Fortsetzung der in einem früheren Kapitel geschilderten Aufgabe.

Es würde den Leser ermüden, wollte ich alle Versuchsprotokolle im einzelnen mitteilen und besprechen.

Ich begnüge mich mit einzelnen Beispielen:

Originalstamm von <i>Ulcus serpens</i> :			Derselbe Stamm nach 1-maliger Mäusepassage:	
Serum-Verdünnung 1:100	Infektion mit 0,001 ccm intraperit.	Infektion mit 0,01	Infektion mit 0,001	Infektion mit 0,01
1:10	lebt	lebt	lebt	†
1:25	"	†	"	†
1:50	"	lebt	"	†
1:100	"	†	"	†
Kontrollen: 0,001 † 3. Tag 0,01 † 2. Tag			Kontrollen: 0,001 † 24 Std. 0,01 † 2. Tag.	

Unterschied zwischen subkutaner und intraperitonealer Infektion.

Subkutane Infektion:		Intraperitoneale Infektion:
Serum-Verdünnung subkutan 1,0:	0,1 ccm Originalstamm <i>Ulcus serpens</i> = 1000 fach Dos. lat.	0,1 ccm desselben Stammes 1000 fach Dos. lat.
1:2	lebt	†
1:10	"	†
1:20	†	†
1:100	†	†

Bei diesem *Ulcus serpens*-Stamm schützte das Serum noch in einer 10fachen Verdünnung bei subkutaner Infektion gegen eine 1000fache Dosis lateralis. Wurde dieselbe Kulturdosis aber intra-

peritoneal angewandt, so gingen bei dieser offenbar schwereren Infektion die Tiere sämtlich ein.

Andere Stämme verhalten sich aber wieder ganz anders. Bei denselben ist der Unterschied zwischen beiden Infektionsarten nicht so evident.

Endlich kommt es vor allem auch auf die angewandte Aderlass-Probe eines Serums an. Je hochwertiger dasselbe gegen einen virulenten Stamm ist, um so leichter schützt es auch in starker Verdünnung noch gegen andere Stämme.

Bisher war ich in der Lage, 60 Pneumokokkenstämme von *Ulcera serpentina* darauf hin zu prüfen, ob und in welchem Masse unser im Tierversuch wirksames Serum imstande ist, die Tiere gegen die sicher tödtlichen Dosen der pathogenen Stämme zu schützen.

Das Resultat ist folgendes: War von einem solchen Originalstamm die tödtliche Dosis festgestellt, so liess sich zeigen, das bisher sämtliche Pneumokokkenstämme, die ich bisher von *Ulcera serpentina* bekommen konnte, durch unser Serum mehr oder weniger beeinflusst wurden. Das ist für die ganze Frage der Serumtherapie des *Ulcus serpens* ein ausserordentlich erfreuliches Resultat. Ich glaube auf Grund dieser umfangreichen Versuche erwarten zu dürfen, dass es nur vereinzelte Pneumokokkenstämme geben dürfte, gegen welche unser Serum die Tiere nicht schützt. Es soll diese Frage noch in einer besonderen Arbeit behandelt werden.

Hierdurch unterscheidet sich die ganze Serumtherapie der Pneumokokkeninfektion nicht unwesentlich von der spezifischen Therapie der Streptokokkenkrankheiten.

Bei der menschlichen Therapie kommt es freilich nun wieder auf die Eigenart des erkrankten Organes, den Virulenzgrad des betreffenden Stammes und vor allem auf die Zeitdauer der Infektion an.

Aber die Möglichkeit hierüber speziell beim *Ulcus serpens*, jetzt durch klinische Beobachtung ins Klare zu kommen, ist geschaffen worden.

Wir können uns jetzt der letzten Aufgabe, der einheitlichen Verarbeitung des klinischen Materiales zuwenden.

Die einheitliche Verarbeitung des klinischen Materiales.

Mit den vorgelegten Untersuchungen sind die Grundlagen der Serumtherapie der Pneumokokkeninfektionen der menschlichen Kornea im Prinzip vollendet.

An der Hand der jetzt von mir nach einheitlichem Plan durchgeführten und hiermit den Fachgenossen vorgeschlagenen Virulenzprüfung der Pneumokokkenstämme aus den *Ulcera serpentina* einerseits und der Verwendung des renovierten Serums andererseits sind nunmehr der klinischen Forschung die Wege geebnet worden und es wird jetzt möglich werden, auch im einzelnen noch über folgende Fragen ins Klare zu kommen.

Die Grundfrage, von der alle weiteren klinischen Forschungen über die Serumtherapie des *Ulcus serpens* von nun an ausgehen müssen, ist folgende:

Es muss nach den von mir angegebenen Prinzipien geprüft werden, ob meine Feststellung, dass die Schwere und die Bösartigkeit der Hornhautgeschwüre des Menschen proportional der Tiervirulenz des betr. Pneumokokkenstammes ist, zutreffend ist, resp. in welchem Prozentsatz der Fälle diese Koinzidenz nicht vorhanden ist und somit die verschiedenen Kombinationen zwischen Krankheitserregern und Disposition vorliegen, die ich in einem der früheren Kapitel geschildert habe. Wir werden über diese Beziehungen zwischen Tierpathogenität und dem klinischen Bild des *Ulcus serpens* dadurch aufgeklärt werden, dass wir statistisch die Tiervirulenz vergleichen mit der Schwere der Krankheitsbilder und der Dauer der Infektion beim Eintritt der Fälle in die Klinik.

Falls uns die Prüfung der Tiervirulenz auch nur in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle einen brauchbaren Massstab für die Bösartigkeit der *Ulcera* abgegeben hat, werden wir gleichzeitig darüber genaueres erfahren, ob die Geschwüre in einzelnen Gegenden der Zahl nach bösartiger sind als in anderen Bezirken, und ob sich Beziehungen zwischen klimatischen Verhältnissen und der Bösartigkeit der Ulzera eruieren lassen. Ausserdem würde uns die Prüfung der Virulenz in die Lage versetzen, Erfahrungen darüber zu sammeln, ob Alter, Geschlecht, Beschaffenheit des Gesamtorganismus einen Einfluss auf das klinische Bild der Ulzera erkennen lassen.

Vor allem aber werden sich, wenn der Zusammenhang der Tierpathogenität mit der Schwere des *Ulcus serpens* anerkannt

werden kann, die Chancen und Leistungen der Serumtherapie nunmehr in einer fast mathematischen Weise bestimmen lassen.

Denn nun kann zunächst unter sachgemässer Beobachtung der klinische Versuch gemacht werden, den Faktor der Spontanheilung des *Ulcus serpens* zu berechnen.

Finden wir in der höheren Tierpathogenität einen Massstab dafür, ob ein Pneumokokkenstamm, der in einer menschlichen Hornhautwunde sich ansiedelt, überhaupt die Fähigkeit besitzt, in diesem Gewebe weiter zu wuchern, so werden wir jetzt zunächst zum erstenmale erfahren, wie gross der Prozentsatz der Pneumokokkeninfektion der menschlichen Kornea ist, welcher als so gutartig zu bezeichnen ist, dass ein *Ulcus serpens* aus der ersten Ansiedlung nicht hervorgehen kann.

Meine Erfahrungen können hier allein nicht massgebend sein. Es mag ein Zufall sein, dass ich bei einer Serie von 21 Pneumokokkeninfektionen, bei denen ich die Virulenz kontrollierte, nur ein Pneumokokkeninfiltrat antraf, welches entsprechend fehlender Tiervirulenz gar nicht zu einem Geschwüre führte, sondern spontan ausheilte.

Würde ich dies nur des Beispiels halber als Regel ansehen, so könnten wir sagen, dass ungefähr 10% der Pneumokokkeninfektionen für die menschliche Kornea harmlos sein würden.

Es mag ferner nur ein Zufall sein, dass unter Pneumokokkenstämmen, welche geprüft wurden, nur einer sich befand, welcher im Tierversuch apathogen war und doch beim Menschen ein schweres *Ulcus serpens* herbeiführte.

Eine genaue Feststellung aller dieser Verhältnisse gehört selbstverständlich auch zur Beurteilung des Wertes der Serumtherapie des *Ulcus serpens*. Ist erst die spezifische Prophylaxe des *Ulcus serpens* Allgemeingut des Arztes geworden, so müsste der Prozentsatz dieser gutartigen Fälle bei der Bewertung der Serumtherapie in Abrechnung gebracht werden.

Nicht aber darf aus der Tatsache, dass in einem bestimmten Prozentsatz die beginnende Pneumokokkeninfektion gutartig ist, abgeleitet werden, dass die prophylaktische Anwendung des Serums bei beginnender Infektion überflüssig ist, weil wir ja den Virulenzgrad der Erreger beim Beginn der Erkrankung noch nicht gleich kennen.

Ich denke es wird kaum nötig sein, diese Überlegung ausführlich zurückzuweisen. Es würde das derselbe Standpunkt sein, als wollte man bei einer beginnenden Diphtherie des Rachens oder des Auges das antitoxische Serum deshalb nicht einspritzen, weil wir nicht wissen, ob nicht der Fall auch ohne Serum gutartig verlaufen könnte.

Weil die Seruminjektion in einer Anzahl von Fällen vielleicht unnötig sein würde, darf der andere Prozentsatz der Kranken nicht Not leiden.

Wenn ich nach unserem hiesigen klinischen Krankenmaterial, das ich in bakteriologischer Hinsicht sehr genau kenne, urteilen darf, so umfasst die Zahl der gutartigen Pneumokokkeninfektionen der Hornhaut nur einen geringen Prozentsatz der Gesamtkrankheiten.

Daraus ergibt sich, dass die Fälle, bei denen das Serum nicht erforderlich bei der Prophylaxe wäre, reichlich von der anderen Gruppe aufgewogen werden, die ein spezifisches Schutzmittel nötig haben und es kommt nur für die spätere Wertschätzung dieser spezifischen Therapie darauf an, dass an einem grossen statistischen Material der Prozentsatz der gutartigen Fälle möglichst genau festgestellt wird.

Aber auch bei der klinischen Untersuchung derjenigen Fälle, bei welchen die Pneumokokkeninfektion weiter geschritten ist und zu einem deutlichen Ulcus serpens geführt hat, bleibt im einzelnen noch viel zu tun übrig.

Wir müssen erfahren, welche Serummengen je nach den einzelnen Virulenzgraden, je nach der Grösse der Geschwüre und je nach der Dauer der Infektion angewandt werden müssen.

Ich bin der festen Überzeugung, dass wir Ophthalmologen zu leicht dazu geneigt sind, entsprechend dem kleinen Organ und der Kleinheit des Krankheitsherdes nur geringe Serummengen zu verwenden. Auch ich bin bei den mitgeteilten Fällen von den kleinen Serummengen ausgegangen, um zu prüfen, was wir mit denselben erreichen. Der gegenteilige Weg wäre aber zweifellos zunächst der richtigere. Erst sollten wir einmal konsequent versuchen, mit einer grösseren Serummenge zum Ziele zu kommen, um dann später weiter herunter zu gehen. Ich selbst werde jedenfalls künftig so verfahren. Auch den Nachuntersuchern möge dieses Vorgehen mit grösseren Serummengen empfohlen sein. Ich werde

dafür sorgen, dass wie bisher denselben die Serummengen zur Verfügung gestellt werden. Bei diesen grösseren Serummengen ist die Injektion unter die Bauchhaut am empfehlenswertesten.

Ein weiteres Interesse gilt von jetzt ab der Frage der Spontanheilung der ausgebildeten Ulzera. Vermeiden wir von jetzt ab bei einzelnen Fällen jede direkte Beeinflussung des Infektionsherdes, so lange wir dies im Interesse des Kranken können, und vergleichen wir den Virulenzgrad des betreffenden Stammes mit dem Verlauf des Falles, so werden wir freilich erst nach und nach erfahren, einmal ein wie grosser Prozentsatz der Ulzera überhaupt beim Eintritt in die Klinik nicht mehr fortschreitet, und zweitens in welchem Stadium wir noch auf diese Spontanheilung bei den einzelnen Formen rechnen können. Hierbei muss noch darauf geachtet werden, ob auch bei stillstehenden Geschwüren die Abheilung des ganzen Prozesses ebenso schnell erfolgt wie unter der Serumwirkung bei den Parallelfällen, ob die Abstossung der nekrotischen Partien schneller erfolgt oder nicht. Auch hierüber wird, wenn speziell Notizen über die Schnelligkeit der Reinigung der Ulzera geführt werden, eine spätere Statistik Aufschluss geben. Angenommen, der Wert der Serumtherapie beim ausgebildeten *Ulcus serpens* würde nur darin bestehen, dass in einer Reihe von Fällen mit bestimmter Virulenz der Erreger die Heilung beschleunigen würde, so wäre dies Grund genug, ihr weitere Aufmerksamkeit zu schenken.

Erst wenn dies festgestellt ist, dann wird zweifellos ein allgemein anerkanntes und sicheres Urteil über den Wert der Serumtherapie zu erlangen sein.

Es ist zu entscheiden, ob die Fälle mit fehlender oder geringer Tiervirulenz der Pneumokokkenstämme sicher und in allen Stadien der Infektion mit dem Serum zum Stillstand gebracht werden können und ob dies speziell in einem Stadium erreichbar sein wird, wo die Spontanheilung nicht mehr abgewartet werden kann. Dabei ist gleichzeitig die ausserordentlich wichtige Dosierungsfrage nicht ausser acht zu lassen. Da uns jeder Anhaltspunkt darüber fehlt, wie sich die Verteilungs- und Bindungsgesetze der Schutzstoffe bei einer Infektion gestalten, so können wir nur statistisch prüfen, ob bei diesen Fällen von mittlerer oder geringerer Virulenz entsprechend der Ausdehnung der Geschwüre mehr Serum zu injizieren ist als bei den Anfangsstadien solcher Fälle.

Bei den Fällen von höherer Virulenz der Pneumokokken ist zu untersuchen, ob in solchen Fällen die Serumtherapie noch in den ersten Stadien zum Ziele führt, oder ob sie hier von vornherein vollkommen aussichtslos ist. Erfahren wir, wie häufig solche malignen Fälle unter den Ulzera überhaupt sind, so werden wir über die Wirkungssphäre der von mir vorgeschlagenen Therapie ins Klare kommen. Ich muss es immer und auch jetzt wieder betonen, dass die Aufgabe, welche jetzt in den Augenheilanstalten zu lösen ist, nicht bloss darin besteht, zu entscheiden, ob wir in den Kliniken das Pneumokokkenserum beim *Ulcus serpens* verwenden können.

Sondern die Aufgabe ist eine grössere. Wir wollen uns alle in gemeinsamer Arbeit der Prüfung der grossen Frage unterziehen, ob die Zeit gekommen ist, dass wir die Axt an die Wurzel legen können und mit dem spezifischen Mittel eine allgemeine Prophylaxe des *Ulcus serpens* in die Wege leiten können.

Sollen die Tausende von Augen, die alljährlich vom *Ulcus serpens* befallen werden, vor diesen verderblichen Folgen möglichst bewahrt bleiben, dann darf das *Ulcus serpens* nicht in solchen Formen, wie wir sie noch immer sehen, in die Klinik kommen. Dann muss das *Ulcus serpens* draussen im Land aufgesucht werden, dann müssen wir Generationen von Ärzten erziehen, denen der Gedanke eines Zusammenarbeitens mit dem Augenarzt in Fleisch und Blut übergegangen ist. Der praktische Arzt muss lernen, dass in seiner Hand vor allem eine Hauptaufgabe in der Prophylaxe dieser Augenerkrankung in analoger Weise liegt wie die Prophylaxe der Diphtherie. Zur Prophylaxe des *Ulcus serpens* gehört neben der sachgemässen Beobachtung des verletzten Auges, Behandlung der Bindehaut und Tränenleiden, vor allem die rechtzeitige Anwendung eines spezifischen Mittels. Denn durch Specifica vor allem, das hat die Immunitätsforschung mit Sicherheit ergeben können spezifische Infektionen eines empfänglichen Organismus verhütet werden, mögen diese spezifischen Mittel Heilprodukte des lebenden Organismus sein, oder ganz bestimmte chemische Mittel, wie Chinin bei Malaria.

Für das *Ulcus serpens* kommt bisher als Spezifikum allein ein spezifisches Pneumokokkenserum in Betracht.

Ob dem Pneumokokkenserum in seiner bisherigen Zusammensetzung dieser Wert zuerkannt werden kann, das ist eben zu

entscheiden. Gelangt die Ophthalmologie nach gewissenhafter und hinreichender Prüfung zu der Überzeugung, dass der von mir vorgeschlagene therapeutische und prophylaktische Weg nicht völlig zum gewünschten Ziele führt, so werde ich mich mit dem Bewusstsein bescheiden können, im Dienste des kranken Menschen das Beste gewollt und als erster diesen Weg wenigstens versucht zu haben. Fällt aber, wie ich zuversichtlich hoffe, die Entscheidung dahin aus, dass in der Tat ein nicht unerheblicher Fortschritt in der Bekämpfung des *Ulcus serpens* zu erzielen sein muss, dann soll im Interesse der sozialen Gesetzgebung dafür gesorgt werden, dass diese Bekämpfung auch in immer grösserem Umfang in die Tat umgesetzt wird.

Einer Hoffnung wage ich mich nach den mitgeteilten Forschungen jedenfalls hinzugeben.

Als Axenfeld zum Zweck einer grösseren Zusammenstellung derjenigen Erfahrungen, welche bisher über die Serumtherapie des *Ulcus serpens* gewonnen waren, bei den Direktoren der Universitäts-Augenkliniken anfragte, ergab sich das lehrreiche Resultat, dass nur wenige Kliniker überhaupt an dieser Aufgabe mitgearbeitet hatten.

Wenn es aber schon so schwer hielt, einen grösseren Kreis für diese mit einem so weiten sozialen Gesichtspunkte verknüpfte Frage zu interessieren, so kann man sich einen Begriff von den Schwierigkeiten machen, die sich auch sonst noch dieser — ich will das ausdrücklich betont haben — von mir in der uneigennützigsten Weise bearbeiteten Aufgabe in den Weg gestellt haben.

Jahrelang habe ich daran gearbeitet, dass wir ein Serum erhalten sollen, das nachweislich imstande ist, Tiere gegen tödliche Dosen von lebenden Pneumokokken zu schützen und bei ausgebrochener Infektion zu heilen. Eine Enttäuschung folgte in dieser Beziehung auf die andere, bis wir endlich doch an dieses Ziel gelangt sind.

In seiner Bakteriologie in der Augenheilkunde sagt Axenfeld: „Die Frage, welche der Kliniker beim *Ulcus serpens* sich zuerst vorlegt, ist die: Habe ich von dem neuen Mittel eine so zuverlässige Wirkung zu erwarten, dass sie das Fortlassen oder den Aufschub der uns bereits zur Verfügung stehenden wirksamen Methoden rechtfertigt?“

Einer oder wenige Kliniker dürften aber wohl kaum imstande sein, diese komplizierten Fragen so schnell zu entscheiden, wie es im Interesse der Kranken und unserer Wissenschaft wünschenswert erscheint.

Es ist mir jedenfalls ein Bedürfnis, die Gelegenheit zu benutzen, denjenigen Fachgenossen, die an dieser Aufgabe mitgearbeitet haben, zu danken. Ich gebe die Hoffnung nicht auf, dass das Interesse an der von mir in die Ophthalmologie eingeführten Richtung immer weitere Kreise ziehen wird, nachdem anerkannt ist, dass durch dieselbe unserem Fache eine Reihe fruchtbringender Anregungen zugeflossen ist.

Zum Schluss bleibt mir nur noch übrig, mitzuteilen, wie sich im einzelnen die Inangriffnahme der oben aufgeworfenen Fragen wohl am zweckmässigsten gestalten wird.

Dazu schildere ich zunächst, wie ich bei einem eintreffenden *Ulcus serpens* im einzelnen verfare.

Zunächst erfolgt in der früher beschriebenen Weise die Entnahme einer geringen Menge Materiales aus dem Geschwürsrand mit der abgerundeten Platinnadel und die Anfertigung des mikroskopischen Präparates, Nachdem das Deckgläschen lufttrocken geworden und in der Flamme oder durch 10 Minuten langes Liegen in Alkohol fixiert ist, träufle ich auf dasselbe destilliertes Wasser und setze dann 2 Tropfen Karbolfuchsinlösung hinzu. Die Färbung dauert 20 Sekunden. Auf diese Weise erhält man sehr klare Bilder, es wird speziell auf Phagozytose geachtet.

Sind Pneumokokken festgestellt, so erfolgt die Anlegung der Kulturen, indem noch einmal eine Spur Material entnommen wird. Das Schrägserum ist leicht nach den üblichen Verfahren herzustellen und kann erforderlichen Falles aus den hygienischen Instituten bezogen werden.

Anders verhält es sich mit der Herstellung der Bouillon. Dieselbe sollte meines Erachtens in jeder Klinik selbst hergestellt werden, weil speziell die Pneumokokken gerade in der Bouillon ausserordentlich empfindlich sind. Die Bouillon darf weder zu schwach noch zu stark alkalisch sein und wird folgendermassen angefertigt: Ein Pfund fettfreies Rindfleisch wird mit 1 l Wasser übergossen, einige Stunden extrahiert und dann 1 Stunde gekocht. Zu dem abfiltrierten Fleischsaft kommt wie üblich $\frac{1}{2}$ ‰ Kochsalz und 1 ‰ Pepton. Nach $\frac{1}{2}$ stündigem Kochen wird neutralisiert

mit Normalnatronlauge, und dies ist der wichtigste Moment in der Herstellung dieses Nährbodens. Die Neutralisation wird sowohl mit Phenolphthalein als auch mit Lakmus kontrolliert.

Zunächst werden 10 ccm Bouillon mit 2 Tropfen Phenolphthalein versetzt und mit $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge bis zur Rotfärbung versetzt. Würde man diesen Alkaleszenzgrad mit Normalnatronlauge auf die ganze Bouillon anrechnen, so würde die Bouillon für Pneumokokken zu stark alkalisch sein. Es werden deshalb nochmals 10 ccm Bouillon mit $\frac{1}{10}$ Normalnatronlauge versetzt und mit Lakmuspapier der Eintritt der schwachen Alkaleszenz notiert. Meistens braucht man hier etwa die Hälfte der Natronlauge als bei Phenolphthalein. Geht man nun mit dem Zusatz der Natronlauge ein wenig über den Lakmusgrad herüber, so bekommt man die beste Zusammensetzung für die Bouillon. Finde ich z. B. bei Phenolphthalein 1,8, bei Lakmus 0,9, so gebe ich der Bouillon definitiv 1—1,1 ccm. Ich beschreibe dies alles so ausführlich, weil von diesen Kleinigkeiten häufig für kulturelle Zwecke sehr viel abhängt. Damit haben wir aber noch keineswegs für alle Pneumokokkenstämme eine brauchbare Bouillon. Dies erreichen wir vielmehr, wie ich auf Grund ausgedehnter Erfahrung an mehr als 300 Pneumokokkenstämmen versichern kann, erst durch Zusatz von menschlichen Aszites oder einer Serumart. Da menschliche Aszitesflüssigkeit nicht immer zu haben ist, so schlage ich vor, dass allgemein zur Bouillon normales Pferdeserum hinzugesetzt wird, das in jeder Stadt zu erhalten ist und dasjenige Serum darstellt, welches sich aus allen Blutarten am besten ausscheidet. Vom Pferdeserum hält man sich im Eisschrank ein grösseres Quantum in der Weise vorrätig, dass man es mit Chloroform versetzt. Dadurch wird das Serum sterilisiert. Die nach der Neutralisation gekochte Bouillon wird filtriert, in Röhrchen zu 10 ccm abgefüllt und sterilisiert. Zu jedem Röhrchen wird dann 0,5 ccm steriles Pferdeserum hinzugesetzt, dann werden die Röhrchen im Brutschrank auf Sterilität geprüft.

Hat man solche Bouillon vorrätig, so bekommt man von jedem Pneumokokkus ein zuverlässiges und gleichmässiges Wachstum.

Haben wir die Kultur vom *Ulcus serpens* angelegt, so beginnt die Behandlung des Geschwüres.

Wollen und dürfen wir bei einem Falle zusehen, ob das Ge-

schwür spontan vielleicht stillsteht und heilt, so beschränken wir uns auf Atropin, Verband, Tränensackexstirpation.

Ist die Bouillonkultur angewachsen, so injizieren wir zunächst 6 Mäusen subkutan je 0,1 ccm Serum (1,0 ccm der Verdünnung 1:10) unter die Rückenhaut. Die Bouillonkultur wird nochmals umgeimpft und nach weiteren 24 Stunden werden sowohl die 6 Serummäuse wie weitere 6 Kontrolltiere intraperitoneal mit je 1 ccm Kulturverdünnung infiziert.

Wir messen mit genau geachten Pipetten in Kölbchen je 9 ccm 0,85 % Kochsalzlösung ab, setzen zu Nr. 1 1 ccm Kultur, von Kölbchen 1 wieder 1 ccm in Nr. 2 etc. Die Injektionen erfolgen in der Mitte des Bauches direkt durch die Haut hindurch in die Bauchhöhle. Es gehört dazu geringe Übung. Jede Maus wird vor der Impfung auf einer kleinen Wage gewogen.

Beginnt man die Injektionen mit der schwächsten Dosis, so braucht man die Spritze nur jedesmal mit steriler Kochsalzlösung gründlich auszuspritzen und kann die sämtlichen Injektionen hintereinander in wenigen Minuten mit derselben kleinen Spritze ausführen.

Die Tiere werden dann 10 Tage lang beobachtet, die gestorbenen Tiere werden auf das Vorhandensein von Pneumokokken im Herzblut kontrolliert. Nach dieser Zeit können die Überlebenden zurückgesetzt und als Zuchttiere weiter verwandt werden.

Das Protokoll des Versuches wird beispielsweise folgendermassen geführt:

Prüfung von Virulenz und Einstellung des Serums bei Fall X.

1,0 ccm Kultur Verdünnung	A. Serumtiere (vor 24 Std.) 1,0 Serumverdünnung 1:10 subkutan	B. Kontrolltiere
1:1000 000	10 gr lebt	12 gr lebt
1:100 000	14 " "	14 " †
1:10 000	12 " "	13 " †
1:1000	15 " "	10 " †
1:100	12 " †	14 " †
1:10	10 " †	12 " †

Virulenz 1:1 400 000.

Serum: eingestellt auf den Stamm.

Da gerade diese Prüfung in Zukunft einen der wesentlichsten Faktoren in der ganzen Beurteilung der Serumtherapie darstellen wird, so möchte ich darum bitten, dass dieselbe auch genau nach meinen Angaben durchgeführt wird.

Sehr zweckmässig ist es, den betreffenden Pneumokokkenstamm eine Zeitlang durch tägliche Überimpfung in Bouillon weiter zu züchten. Denn in den Fällen, bei denen die Virulenz über die Verdünnungen 1:1000000 hinausgeht, müssen zur genaueren Bestimmung noch einmal einige Tiere nachgeimpft werden.

Der Versuch zeigt uns an, welcher Grad von Tiervirulenz vorhanden war, den wir dann mit der Grösse des Geschwüres, seiner Dauer, seinem klinischen Verlaufe vergleichen können.

Er zeigt uns ferner an, ob unser Serum überhaupt prinzipiell imstande gewesen ist, diesen Stamm zu beeinflussen.

Ich weiss sehr wohl, dass diese Versuche nicht von den Augenärzten, sondern nur in den Kliniken einmal eine Zeitlang ausgeführt werden können. Das wird aber auch genügen, um uns dereinst einen einheitlichen Gesamtüberblick zu ermöglichen.

Inzwischen geht die klinische Beobachtung des Ulcus und seine Behandlung (Kauterisation etc.) ruhig ihren Gang. Wir bilden uns unser Urteil über den Verlauf des Falles und können nach Ablauf unserer experimentellen Untersuchungen dasselbe korrigieren, vergleichen etc.

Wollen wir aber ein Ulcus mit dem Serum behandeln, so injizieren wir nach Anlegung der Kulturen 20 ccm subkutan unter die Bauchhaut und lassen regelmässig mit dem Trockenserum das Geschwür einpudern.

Auch hier behandeln wir das Geschwür weiter je nach der klinischen Indikation (Wiederholung der Seruminjektion, Kauterisation etc.).

Unser ganz analog angesetzter Tierversuch ergänzt uns eines Tages unsere klinischen Beobachtungen in den für die Beurteilung der Therapie wünschenswerten und notwendigen Punkten.

Nun fragt es sich: Wie können unter Berücksichtigung dieser Virulenzprüfungen der Pneumokokkenstämme die oben angeführten Fragen wohl am zweckmässigsten in Angriff genommen werden? Selbstverständlich kann nur eine grosse Statistik hier dereinst entscheidend sein. Aber ich betrachte es nicht als geringstes Ergebnis meiner Untersuchungen, dass jetzt jeder einzelne Kliniker

auch an dem kleinsten Materiale zum einheitlichen Aufbau dieser Statistik einen Beitrag liefern kann. Bisher war das eben nicht möglich. Entgegen der Anschauung, dass selbst der Vergleich zwischen zwei klinisch annähernd gleich aussehenden Fällen, von denen der eine mit, der andere ohne Serum behandelt würde, nicht ganz ohne Wert sei, kann ich nur nochmals hervorheben, dass bisher für einen solchen Vergleich jeder Indikator gefehlt hat.

Sämtliche oben von mir aufgeworfenen Fragen lassen sich in einer einheitlichen Weise beantworten, wenn jeder Kliniker sein *Ulcus serpens*-Material von jetzt ab in zwei Teile teilen würde in der Weise, dass bei fortwährender Virulenzkontrolle meinetwegen zunächst bei den ersten eintreffenden *Ulcera* die Spontanheilung beobachtet würde und bei den nächsten Fällen das Serum verwendet würde.

Es werden also diejenigen Kliniker, welche die Beobachtung der Spontanheilung für gerechtfertigt halten, leicht in der Lage sein, an diesem Materiale unsere ersten Fragen zu beantworten. Es wird sich zeigen, ob den klinisch gutartigen Fällen eine geringere Tiervirulenz der Pneumokokken entspricht, es werden sich etwaige regionale Differenzen in der Malignität, klimatische Beziehungen etc. offenbaren. Vor allem aber wird sich zeigen, in einem wie grossen Prozentsatz der Fälle wir praktisch mit einer Spontanheilung rechnen können, in welchen Stadien, bei welchen Virulenzgraden und nicht zum wenigsten in welcher Zeit nach dem Beginne der Infektion die Spontanheilung nicht bloss vorkommt, sondern praktisch für uns in Betracht kommt. Benutzen dann diese Kliniker eine zweite Serie von *Ulcera* wieder unter Berücksichtigung der Virulenz der Erreger zur Serumbehandlung und wechseln in dieser Weise regelmässig ab, so muss sich jetzt der Wert der spezifischen Behandlung einwandfrei und gleichmässig herauschälen lassen.

Was die dabei zu beachtende Dosierungsfrage angeht, die nur am Menschen zu entscheiden ist, so würde ich raten, konsequent die erste Reihe der *Ulzera* zunächst mit einer möglichst grossen Dosis zu spritzen, bei der zweiten Reihe zurückzugehen etc. Aber auch wenn der Kliniker eine andere Einteilung vornehmen will, beispielsweise nicht serienweise vorgehen, sondern bald das eine Geschwür ohne, das zweite mit Serum behandeln will, ist jetzt nichts mehr dagegen einzuwenden, nachdem nunmehr aus der Grösse des Geschwüres, der Menge des angewandten Serums und

der Virulenz der Pneumokokken diejenigen Beziehungen herauspringen müssen, die bisher nicht erkannt werden konnten, weil uns jeder Anhaltspunkt über die Pathogenität des Erregers in dem jeweiligen Fall gefehlt hatte.

Natürlich ist es möglich, auch noch in der Weise vorzugehen, dass zunächst bei einem Falle abgewartet wird, und dann erst bei Progression das Serum injiziert wird. Hierbei ist aber zu bedenken, dass die Resorption des Serums wieder eine ganze Reihe von Stunden in Anspruch nimmt. Jedenfalls müssten dann diese Fälle einer Erschwerung der Serumtherapie besonders geführt werden. Ich bin auch damit einverstanden, möchte aber dafür eintreten, dass diese Versuche erst dann ausgeführt werden mögen, wenn zunächst die anderen Versuchsreihen abgeschlossen sind.

Aber auch diejenigen Autoren, welche von vornherein die Beobachtung der Spontanheilung nicht vertreten zu können glauben, werden der Frage nach der spezifischen Prophylaxe und Therapie des *Ulcus serpens* grosse Dienste erweisen, wenn sie unter diesen neuen Gesichtspunkten und mit dem renovierten Serum ihre Versuche fortsetzen. Denn auch sie haben die Möglichkeit, die Dosierungsfrage in Angriff zu nehmen, auch sie können prüfen, bei welchen Virulenzgraden und bis zu welchen Stadien die Serumtherapie zum Ziele führt oder versagt.

Wird dieses Material dann mit dem entsprechenden der anderen Autoren zusammen genommen, so werden wir nunmehr über die ätiologische Therapie und Prophylaxe des *Ulcus serpens* ins Klare kommen.

Schema für unsere einheitliche Statistik.

Name	Alter	Geschlecht	Wie lange ungefähr besteht die Infektion?	Grösse des Geschwürs	Hypopyon	Tränensack- erkrankungen?	Virulenz der Kultur	War das Serum auf den Stamm eingestellt?	Menge des injizierten Serums?	Ausgang des Geschwürs?	Andere therapeutische Massnahmen?
N. N.	50 Jahre	w	6 Tage	4:6 mm	2 mm	Dacryocystitis	1:150000	ja	40 ccm	Heilung	Exstirpation des Tränensackes

Ich habe schon an anderer Stelle¹⁾ angedeutet, wie wir die einheitliche Statistik später aufbauen können. Ich will dieses Schema auch hier wieder einschalten:

Damit sind die Grundlagen der Serumtherapie des *Ulcus serpens* soweit vollendet, dass die klinische Forschung jetzt das letzte Wort zu sprechen hat. Ich persönlich habe hiermit das Meinige getan, der letzte Teil der Aufgabe lässt sich nur durch gemeinsame klinische Arbeit erreichen.

Mein eigenes klinisches Material werde ich auf dem Kongress in Budapest vorlegen.

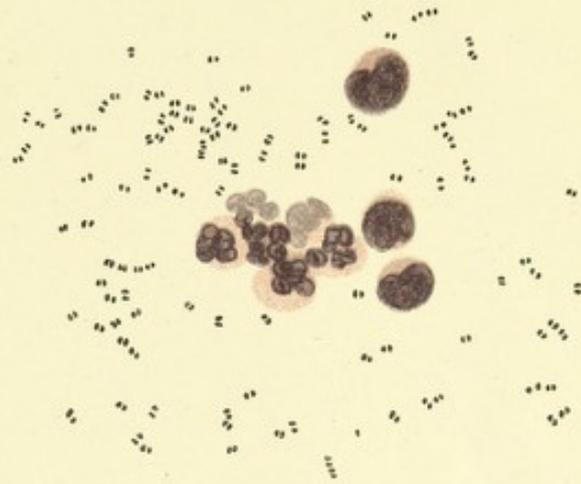
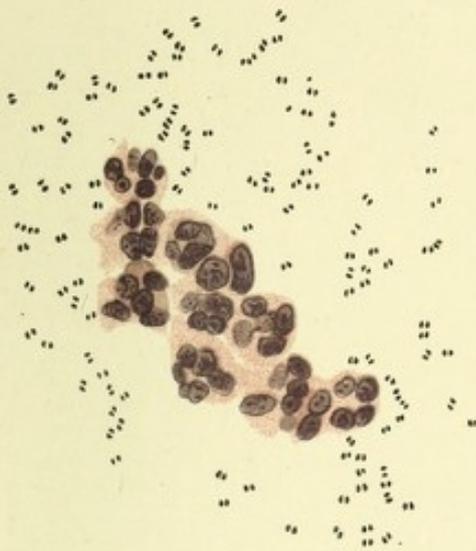
Als Grundlage für diese Besprechungen und zugleich als Leitfaden für alle diejenigen, welche sich in wissenschaftlicher Beziehung mit dem Problem der Serumtherapie des *Ulcus serpens* beschäftigen wollen, ist die vorliegende Arbeit gedacht.

¹⁾ Römer, Deutsche med. Wochenschr. 1908.

Der Leukozyt allein ist nicht imstande einen Pneumokokkus in sich aufzunehmen.

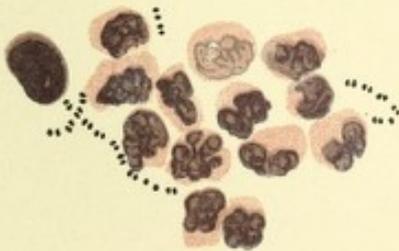
Meerschweinchen-Leukozyten.

Stamm Benke.

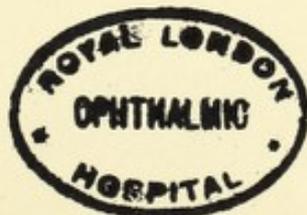


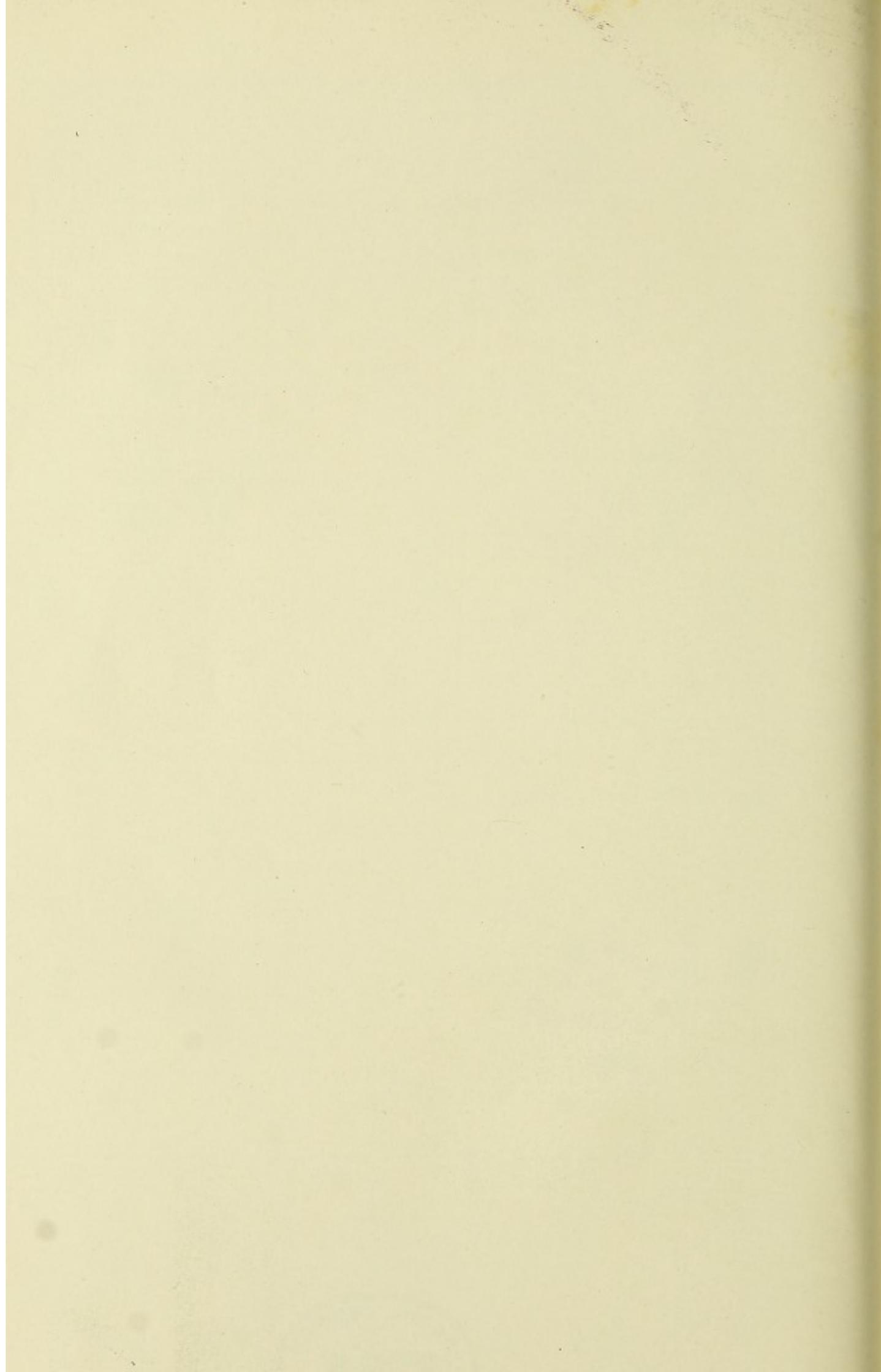
Kaninchen-Leukozyten.

Stamm Bohm.



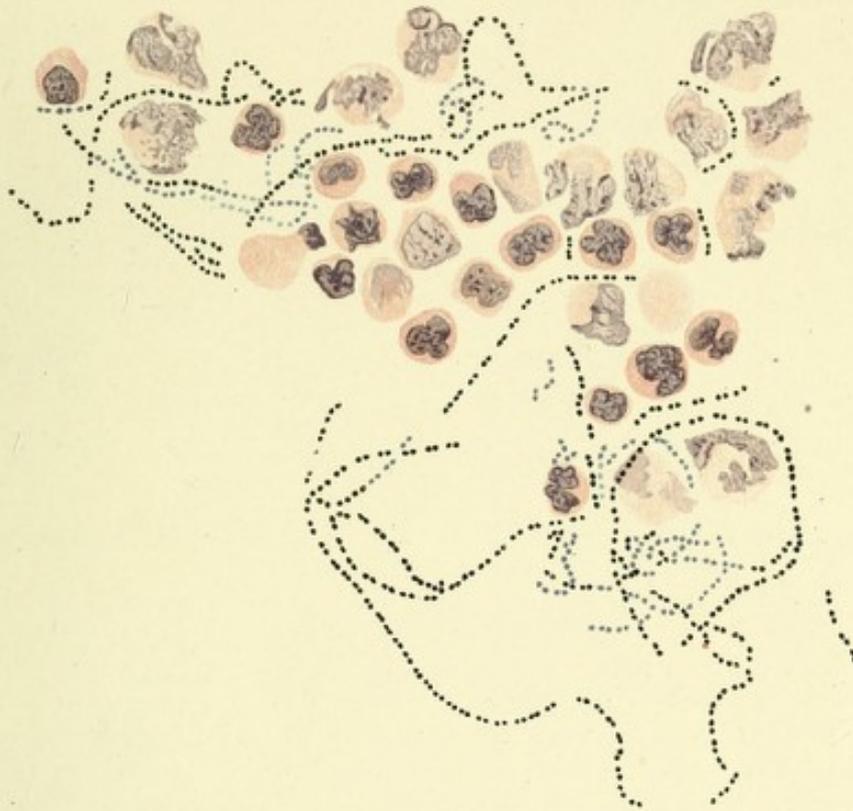
Stamm Bohm.





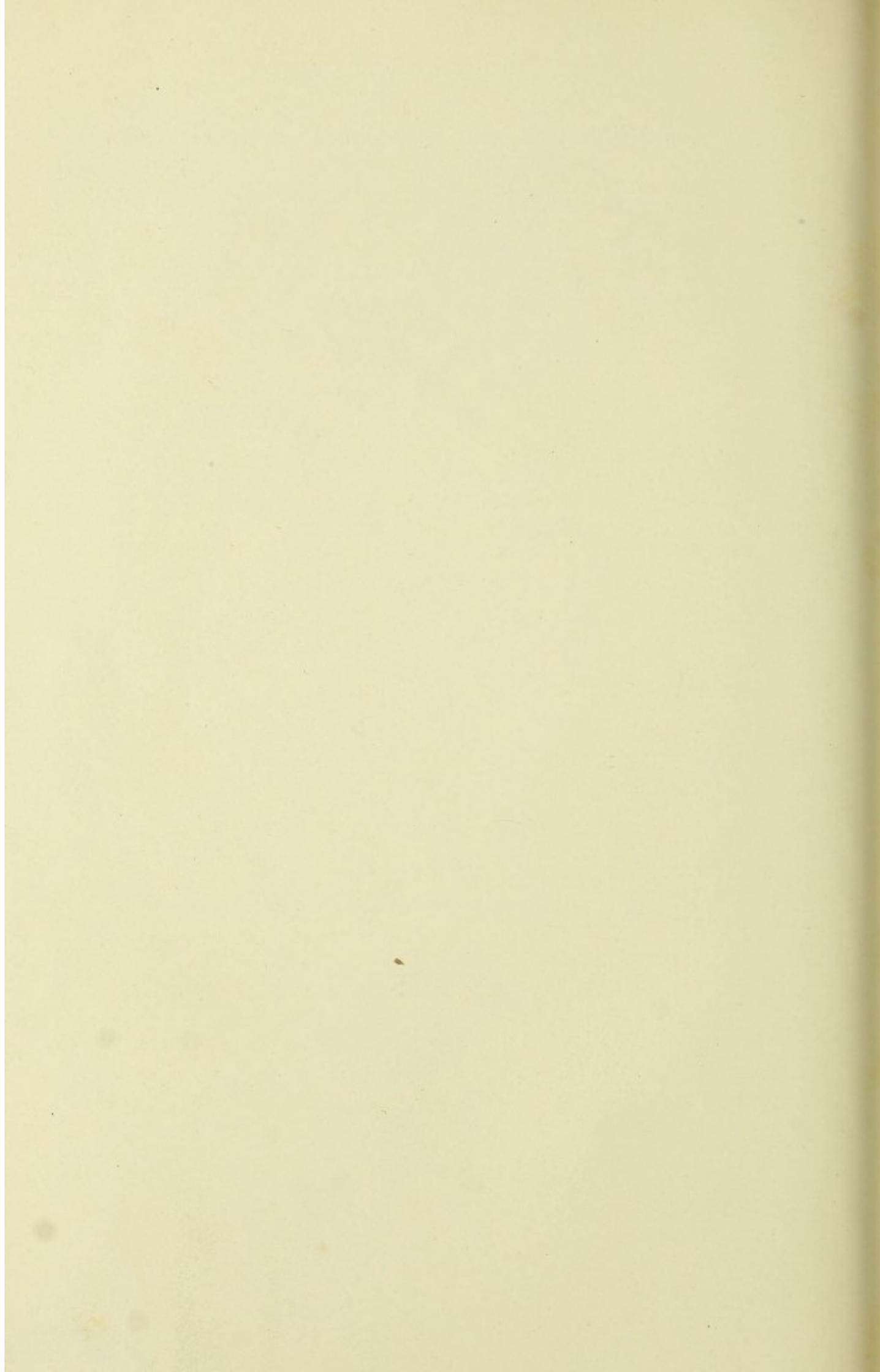
Leukozyten müssen lebend sein.
Stamm Bohm.

0,2 ccm aktiven Rinder-Serums + Leukozyten, die auf 50° erwärmt sind.



0,2 ccm aktives Rinder-Serum + Frische Leukozyten.





Thermolabilität der Opsonine für Pneumokokken.

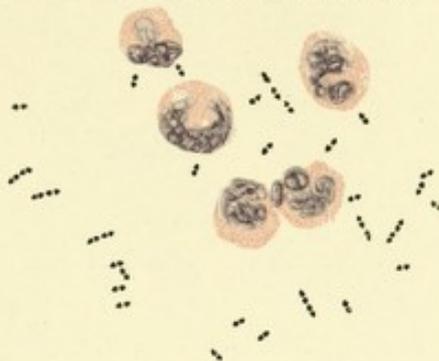
Normales Meerschweinchen-Serum 0,2 ccm.

2 Menschen-Stämme. 1 Passage-Kultur.

Aktives Serum.
Stamm Bohm (Ulcus serpens).



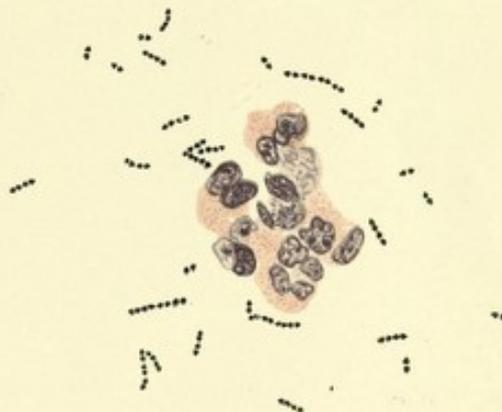
Inaktives Serum.
Stamm Bohm (Ulcus serpens).



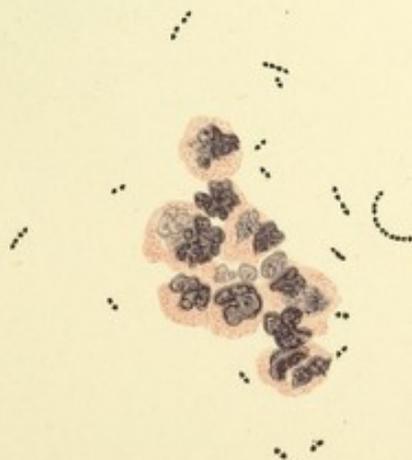
Stamm Wagner (Ulcus serpens).



Stamm Wagner (Ulcus serpens).

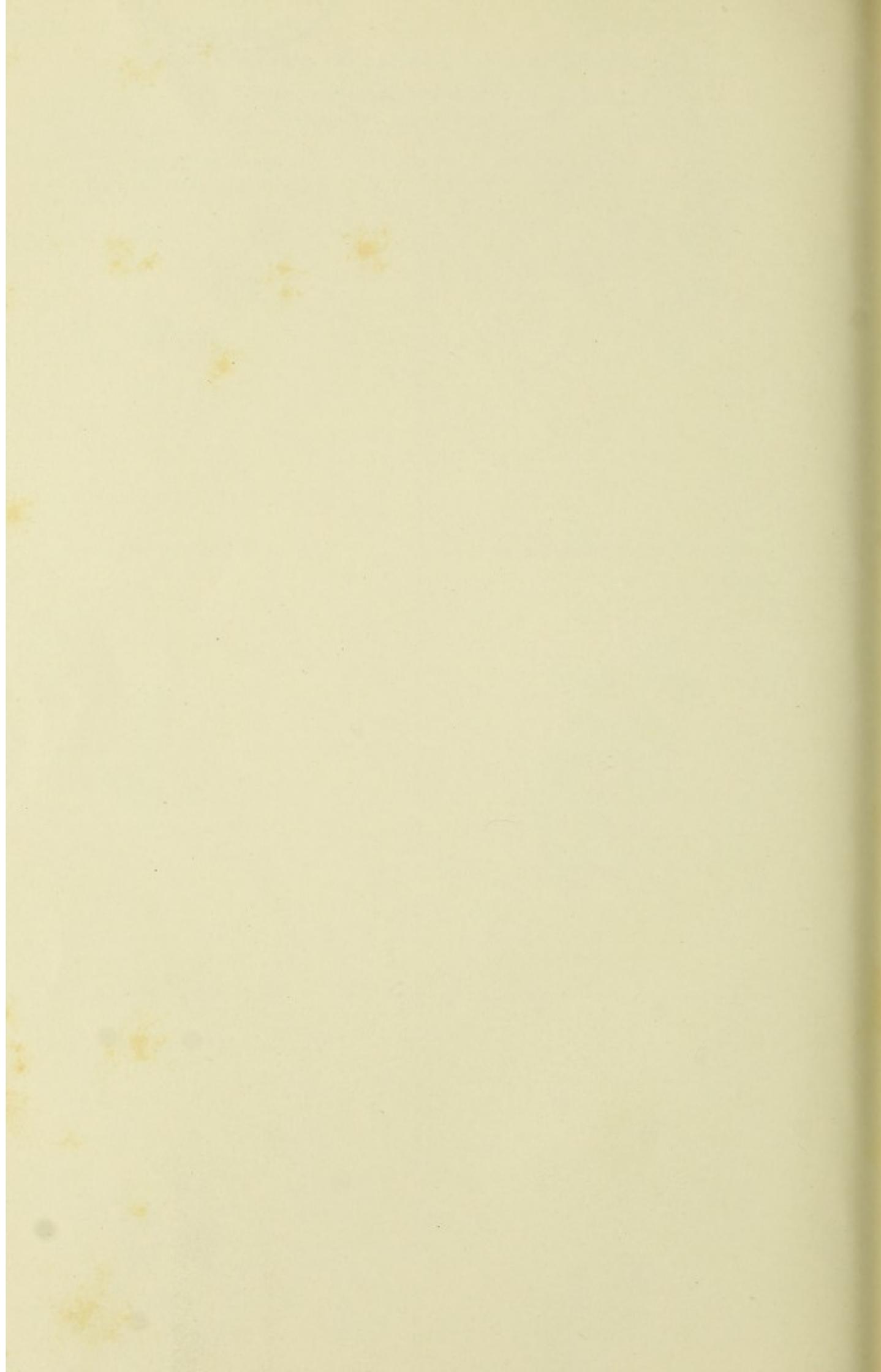


Passagekultur



Passagekultur.





Thermolabilität der Opsonine des Normal-Serums für Pneumokokken.

Opsonine des normalen Rinder-Serums.

Aktives Serum 0,2.

Inaktives Serum 0,2.

Stamm Bohm (Ulcus serpens).

Stamm Bohm (Ulcus serpens).



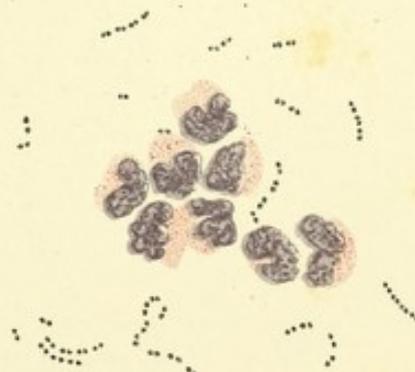
Stamm Wagner (Ulcus serpens).

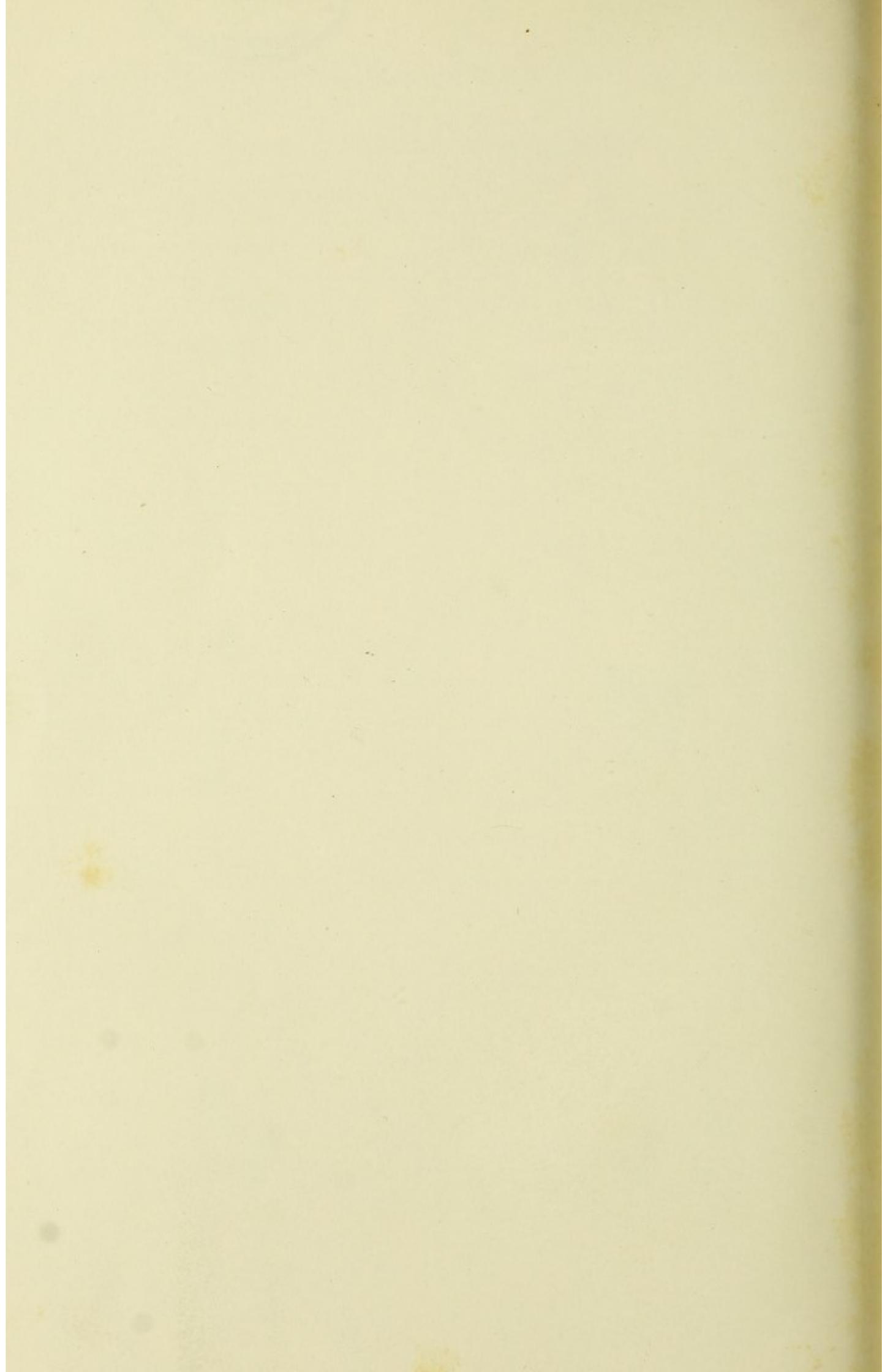
Stamm Wagner (Ulcus serpens).



Passagekultur.

Passagekultur.

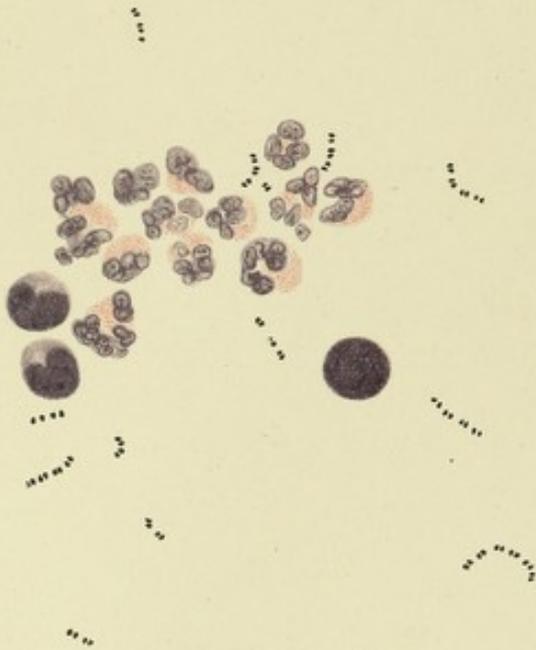




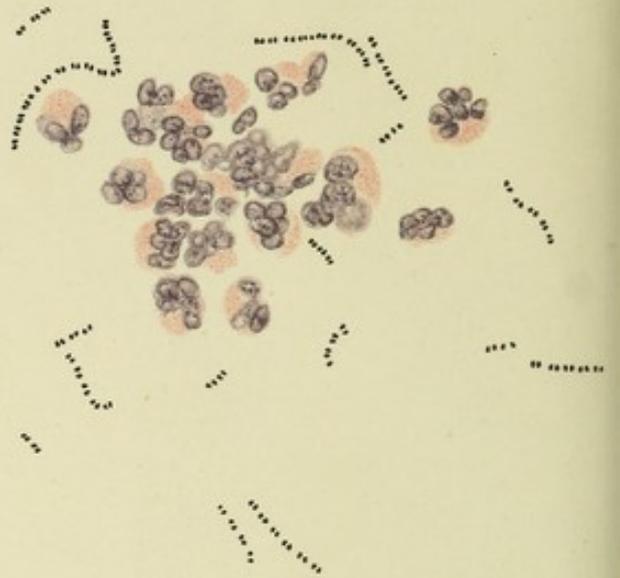


Meerschw.-Leukozyten und heterologe Sera.

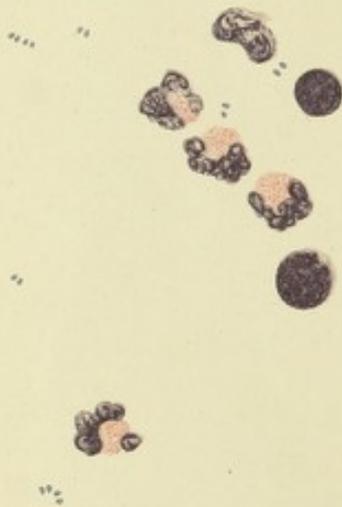
Normal. Schweine-Serum 0,2.
Stamm Prätz. Passage.



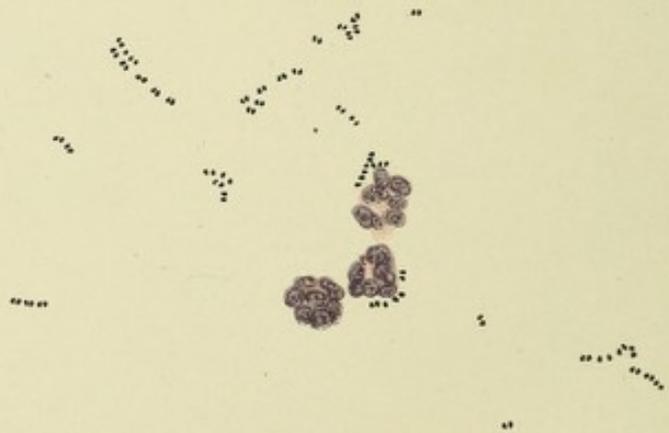
Normal. Schweine-Serum 0,2.
Stamm Benke genuin.



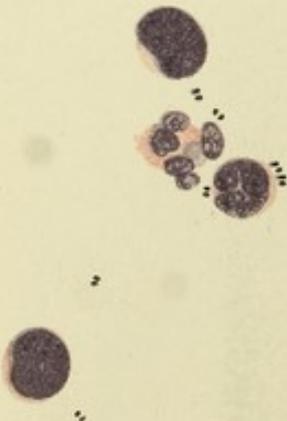
Normal. Kaninchen-Serum 0,3.
Stamm Prätz. Passage.



Normal. Kaninchen-Serum 0,3.
Stamm Benke (Ulcus serpens).



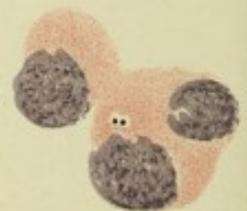
Normal. Kaninchen-Serum 0,3
Stamm Bohm.



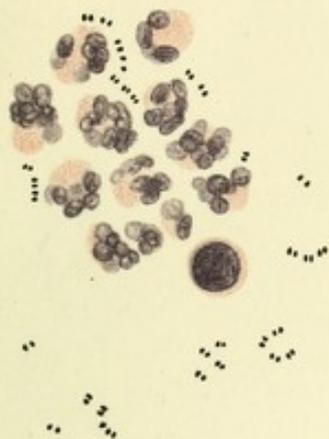
Normal. Hühner-Serum 0,25.
Menschen-Leukozyten
aus zweitägigem Exsudat.
Stamm Benke.



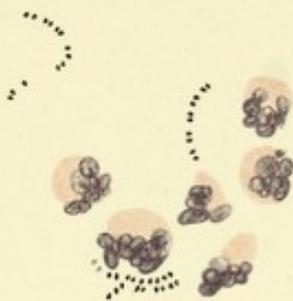
Normal. Hühner-Serum.
Stamm Prätz.



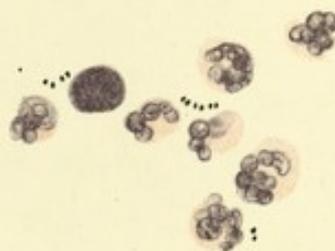
Normal. Tauben-Serum.
Stamm Benke.



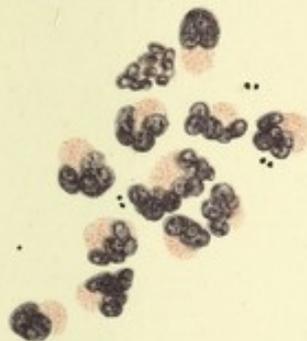
Normal. Tauben-Serum.
Stamm Bohm.



Normal. Tauben-Serum.
Stamm Pratz.



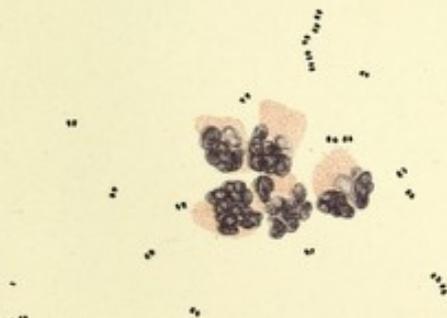
Normal. Pferde-Serum.
Stamm Bohm.



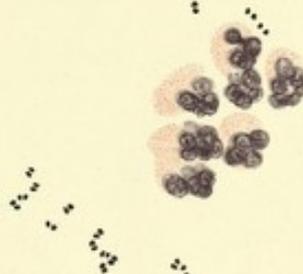
Normal. Kaninchen-Serum.
Stamm Müller.



Normal. menschl. Serum.
Stamm Benke.



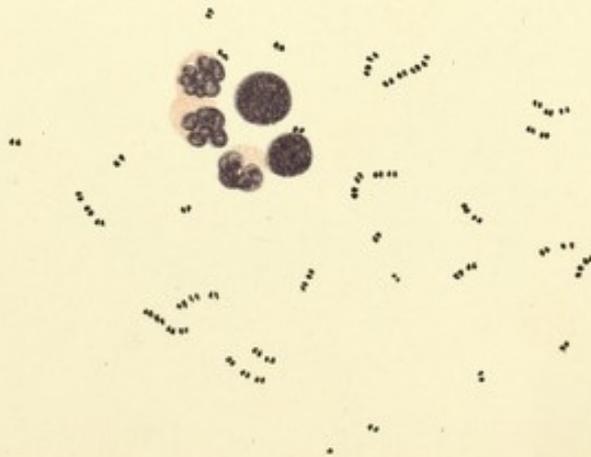
Normal. menschl. Serum 0,25 ccm.
Stamm Bohm.

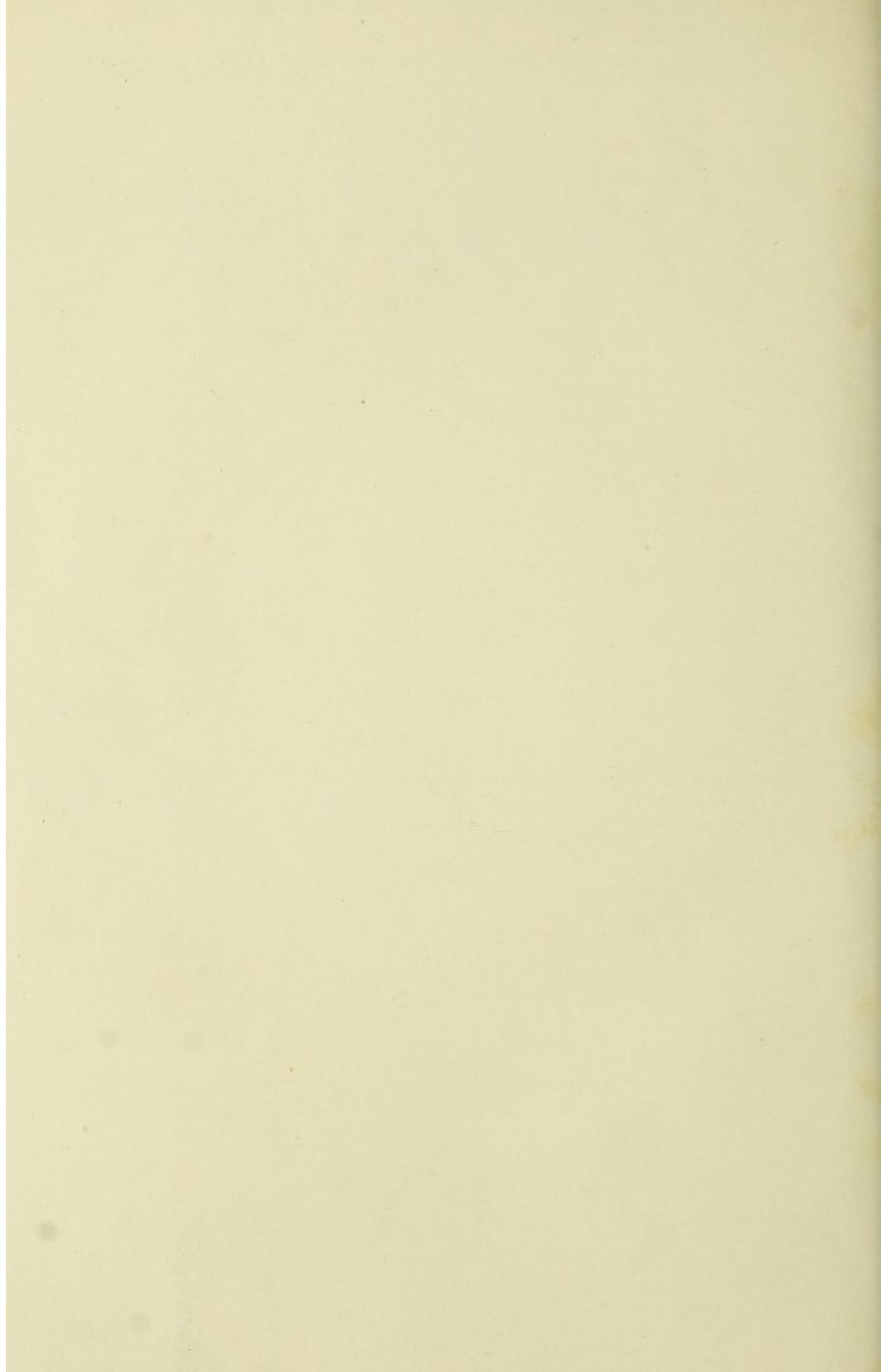


Normal. menschl. Serum.
Stamm Pratz.



Normal. menschl. Serum.
Stamm Müller.

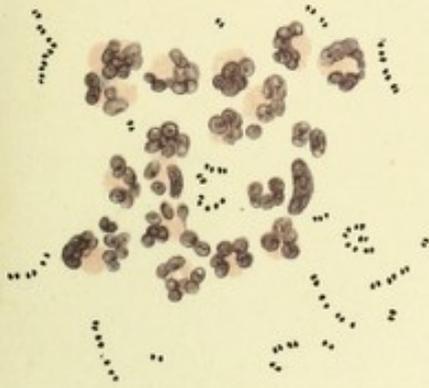




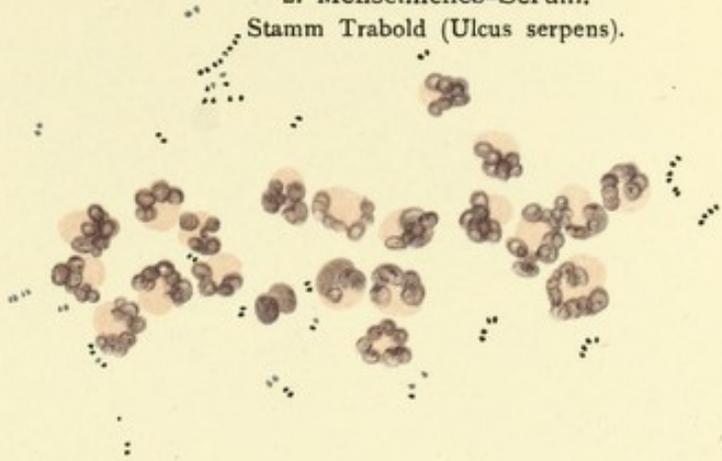
Kaninchen-Leukozyten.

Homologes und heterologes Serum.

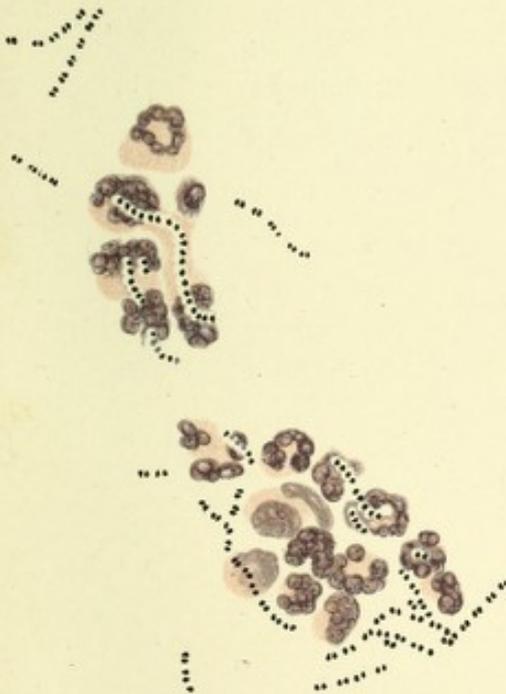
1. Menschliches Serum.
Stamm Rauch (Ulcus serpens).



2. Menschliches Serum.
Stamm Trabold (Ulcus serpens).



Kaninchen-Serum, homolog.
Stamm Rauch (Ulcus serpens).



Rinder-Serum.
Stamm Bauer.



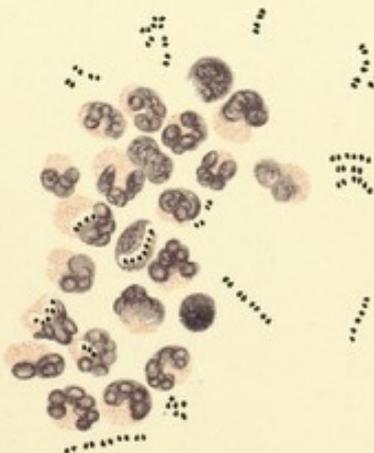
Hammel-Serum.
Stamm Wasser (Ulcus serpens).

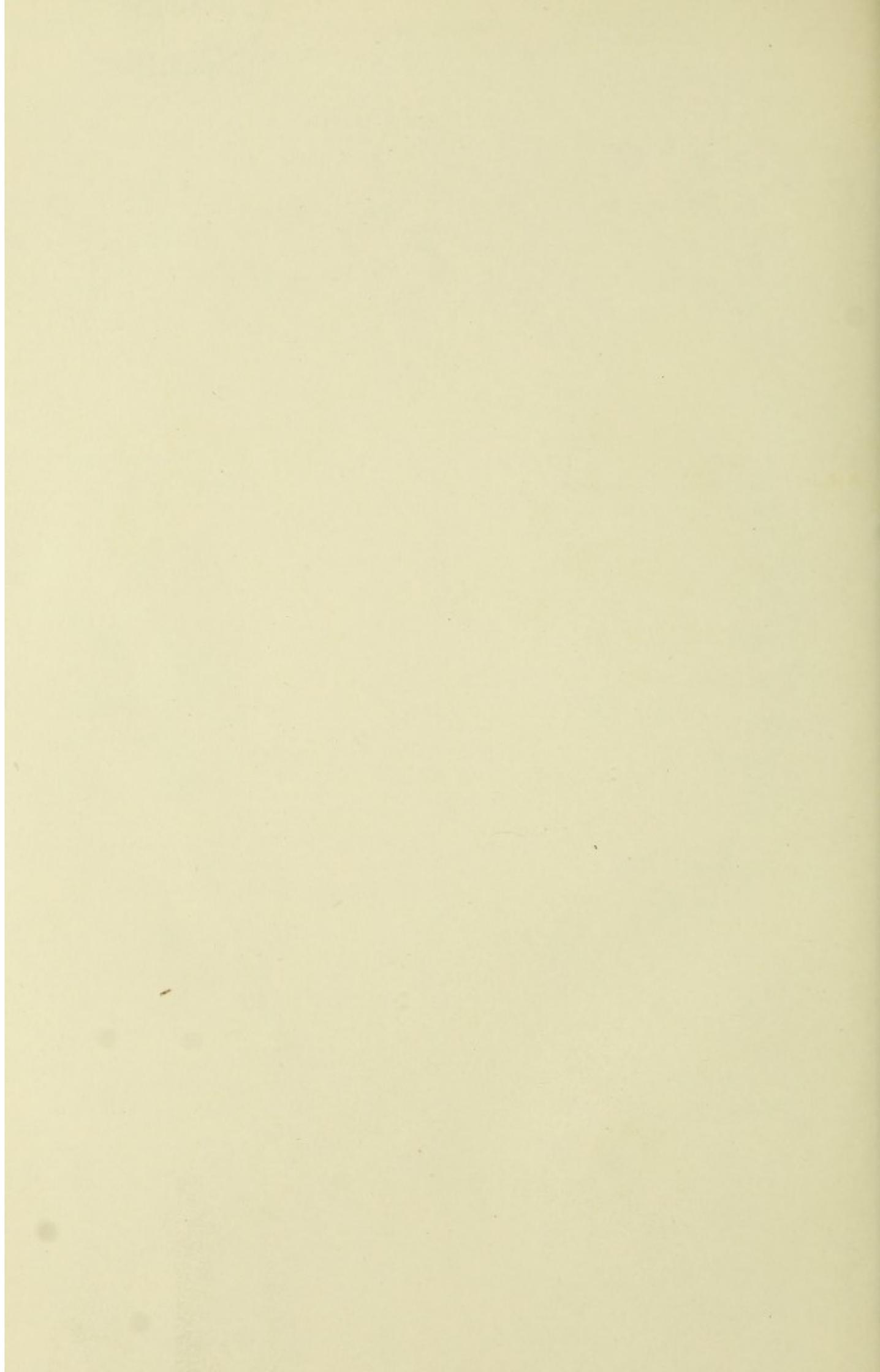


Schweine-Serum.
Stamm Trabold (Ulcus serpens).



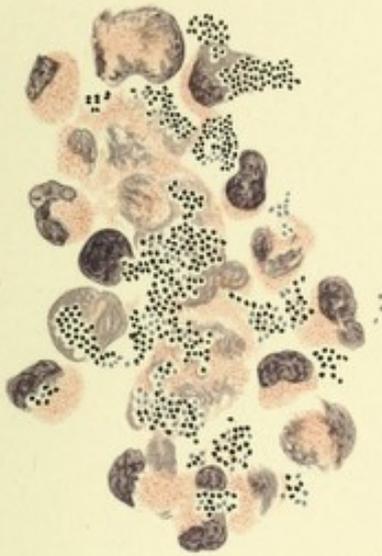
Meerschweinchen-Serum.
Stamm Bauer (Ulcus serpens).



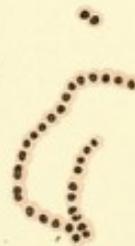


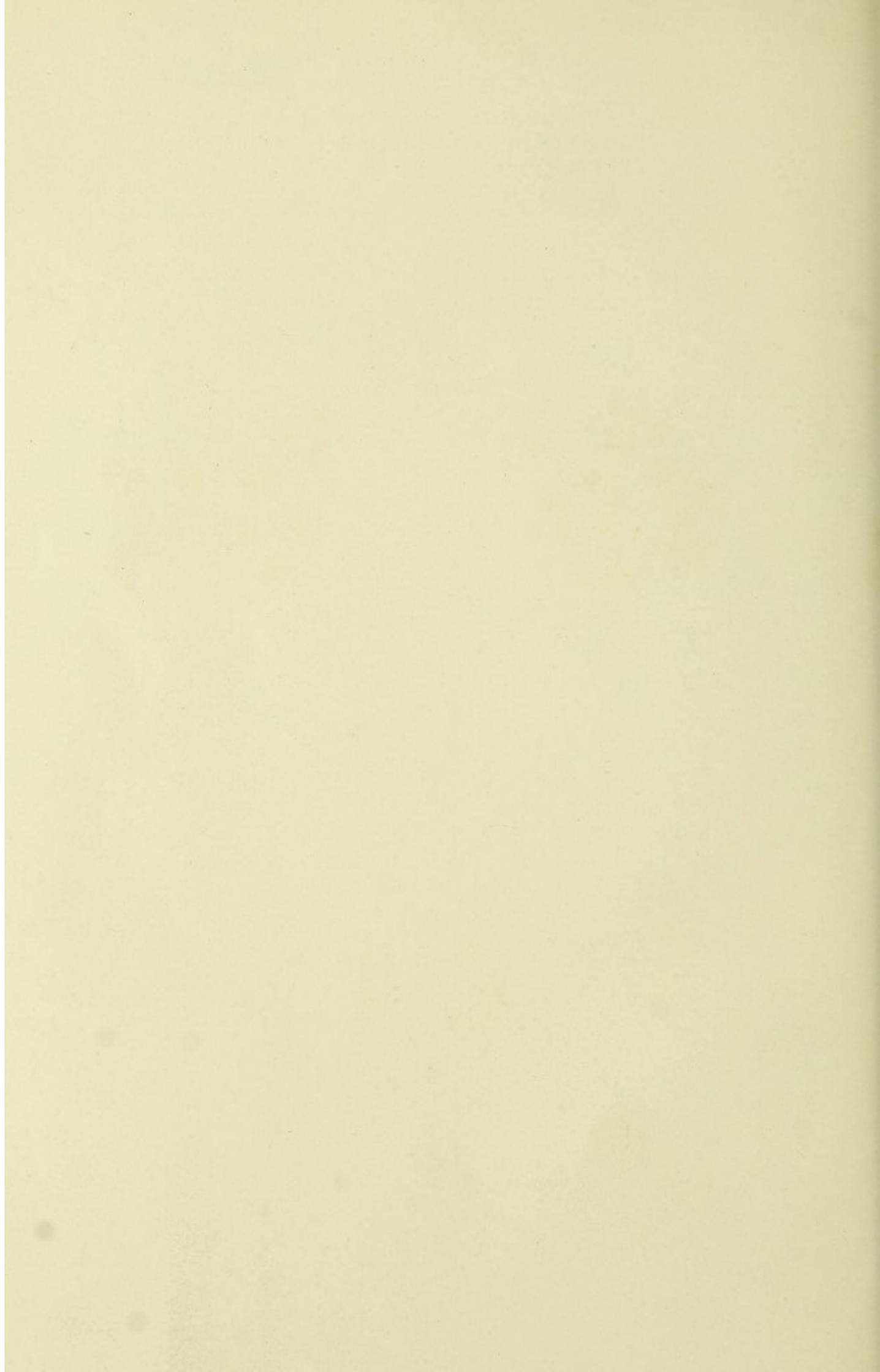
Einmalige Tierpassage kann genügen,
um die Phagozytierbarkeit gewisser Pneumokokken-Stämme aufzuheben.

Stamm Pratz : genuin.



Stamm Pratz nach einmaliger Mäusepassage.

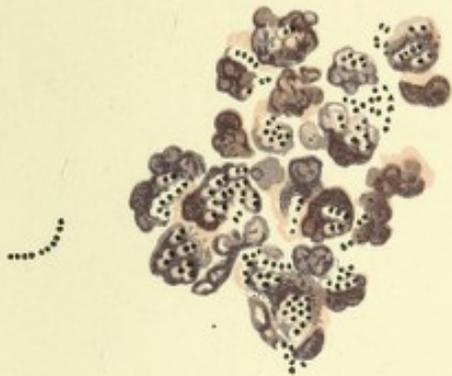




Bindung der Opsonine des normalen Rinder-Serums an Pneumokokken.

Beide Stämme, der Originalstamm und die Passagekultur, haben die Opsonine gebunden
trotzdem wird nur der Originalstamm phagozytiert.

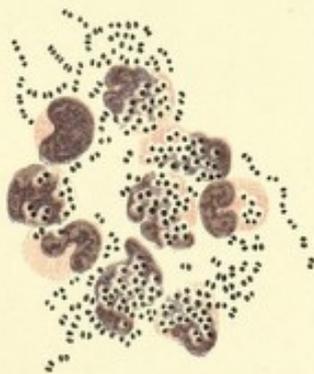
I. Stamm Trabold, genuin.



II. nach Passage.



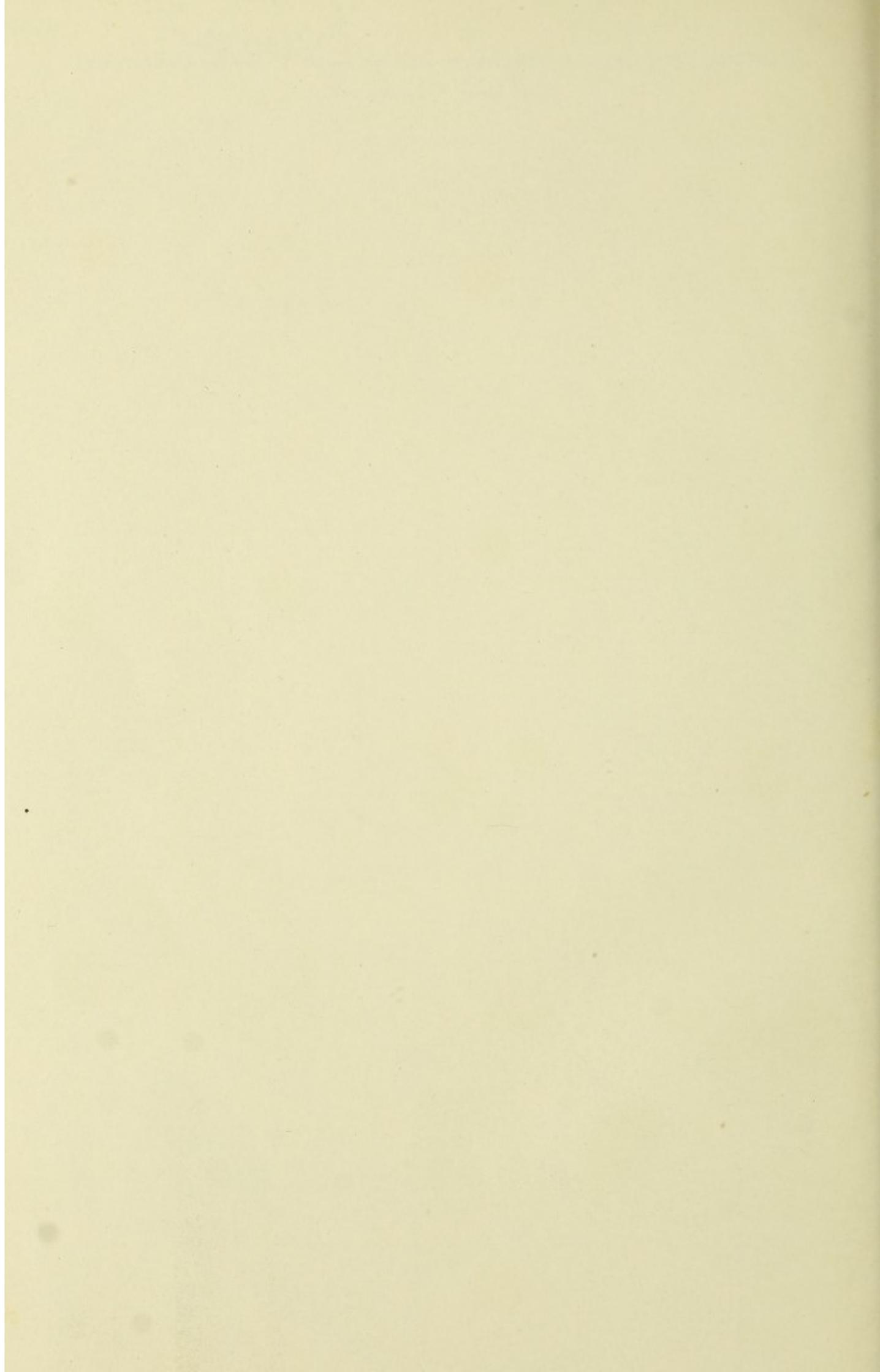
Die nach dem Kontakt mit Rinder-Serum abzentrifugierten und gewaschenen Pneumokokken sind zu gewaschenen Leukozyten hinzugesetzt.





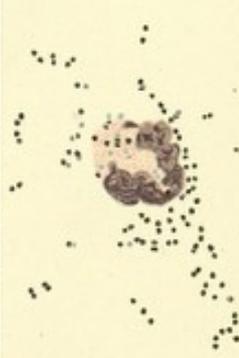
Extrazelluläre und intrazelluläre Bakteriolyse der Pneumokokken.
(2000 fache Vergrößerung.)

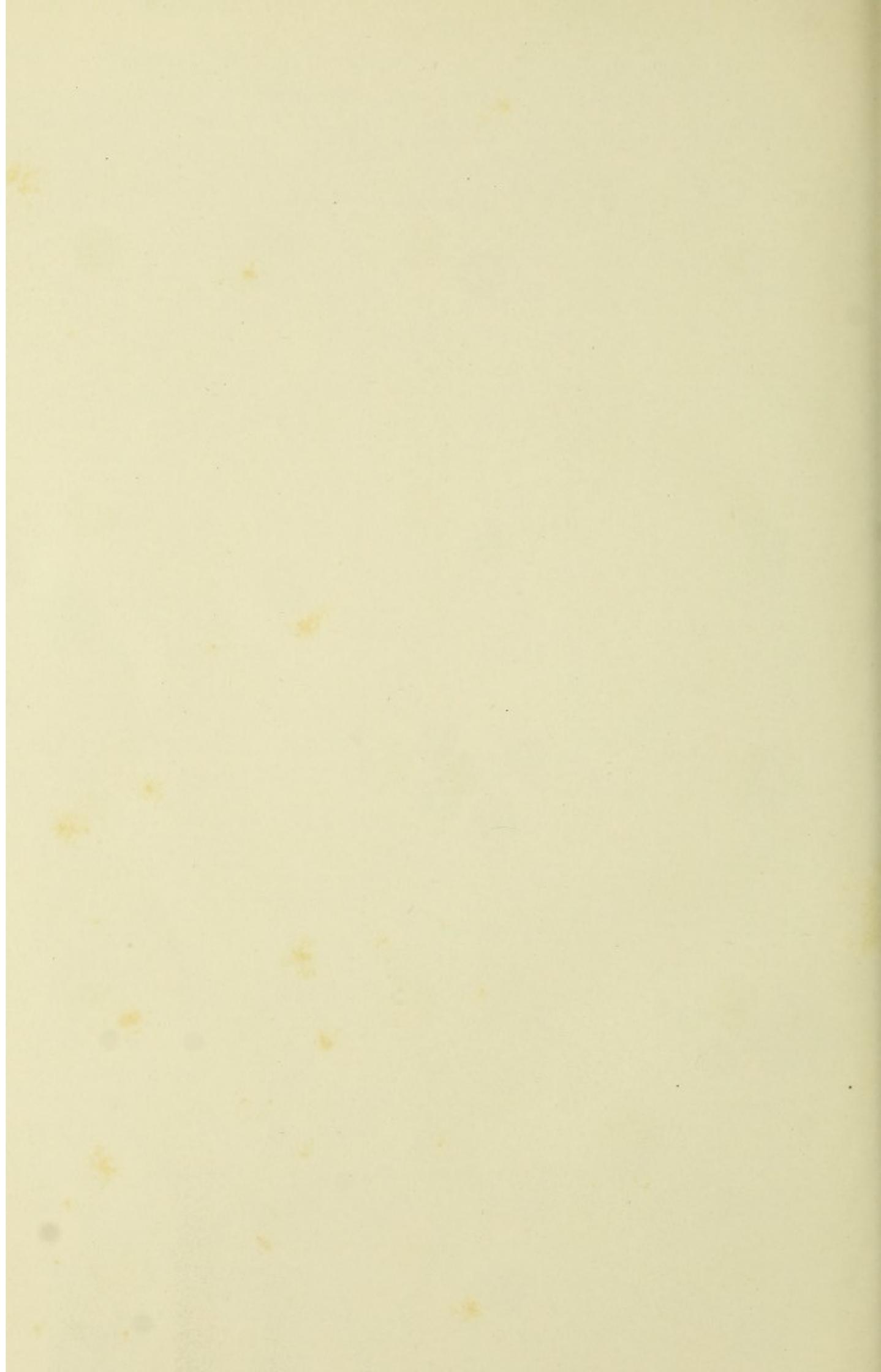




Einmalige Vorbehandlung
mit Stamm Heublein (Ulcus serpens).
Reaktion auf homologen Stamm Heublein.

Einmalige Vorbehandlung mit Stamm Müller.
Reaktion auf homologen Stamm.

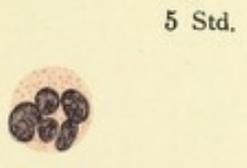
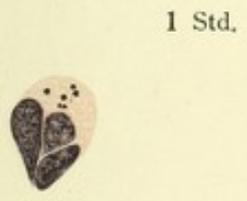
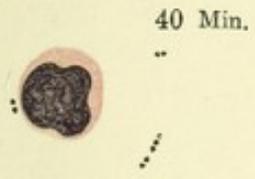
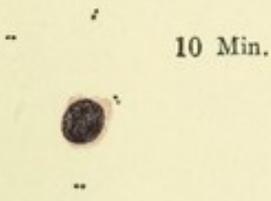
Vorbehandelt 785	Kontrolltier	Vorbehandelt 724	Kontrolle
45 Minuten 	45 Minuten 	45 Minuten 	45 Minuten 
1 1/4 Std. 	1 1/4 Std. 	1 1/4 Std. 	1 1/4 Std. 
1 3/4 Std. 	1 3/4 Std. 	5 Std. 	5 Std. 
2 1/2 Std. 	2 1/2 Std. 	Heublein.	
4 Std. 	4 Std. 		
		5 Std. 	5 Std. 



Pneumokokken-Serum ist kein bakteriotropes Serum.

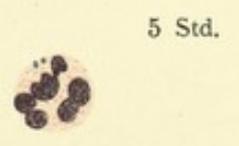
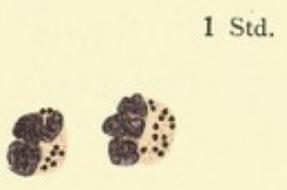
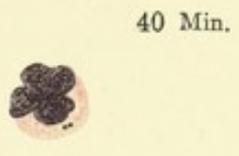
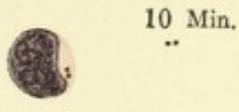
Nr. 777.

N. H. S. 24 Std. später.
0,5 Kultur.



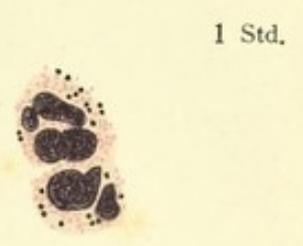
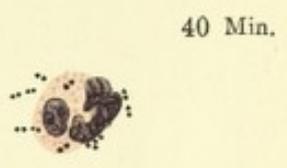
Nr. 797.

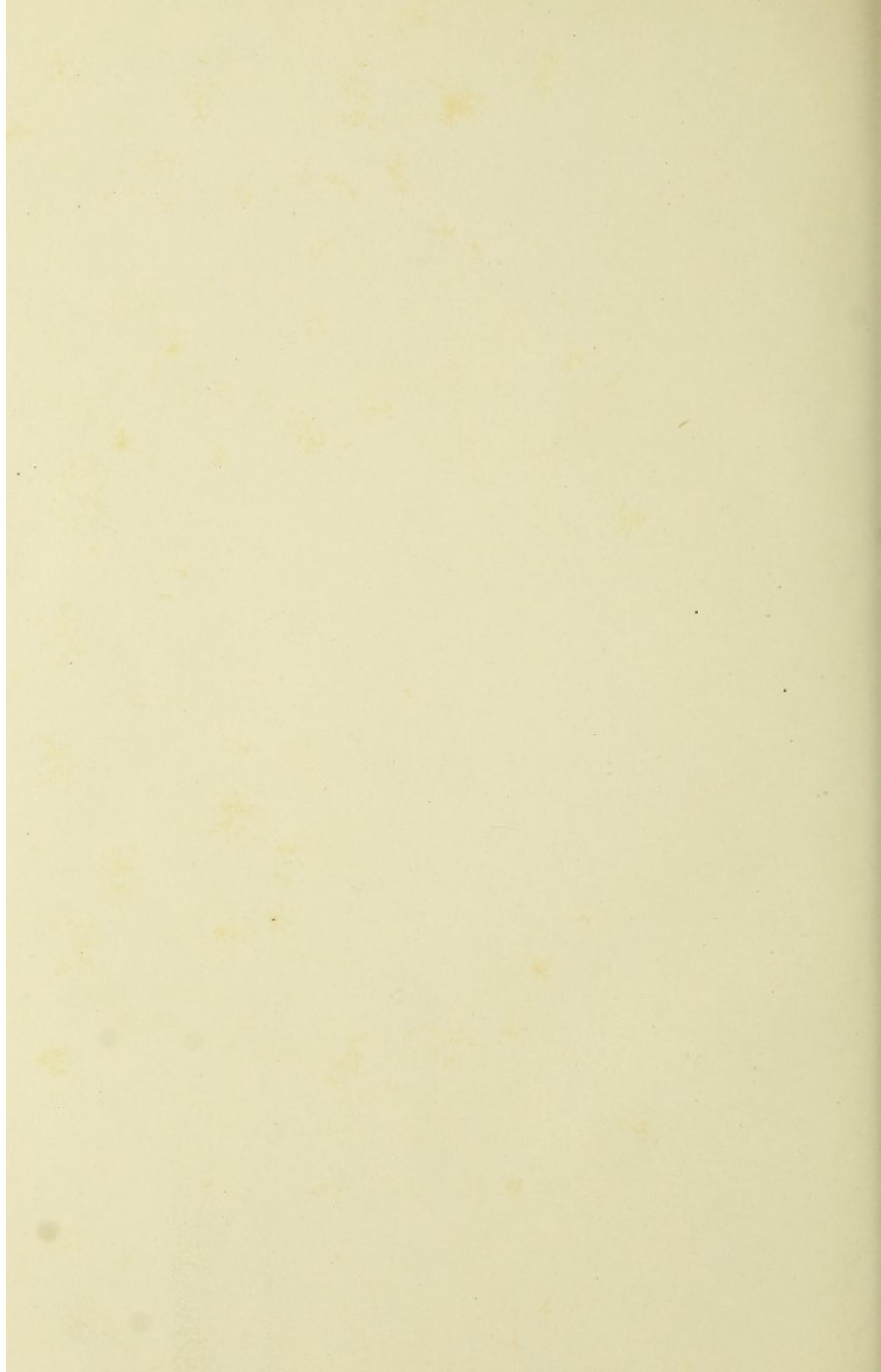
1,5 ccm. P. K. Immun-Serum.
24 Std. später. 0,5 Kultur.



Nr. 762.

Kontrolliert. 0,5 Kultur.

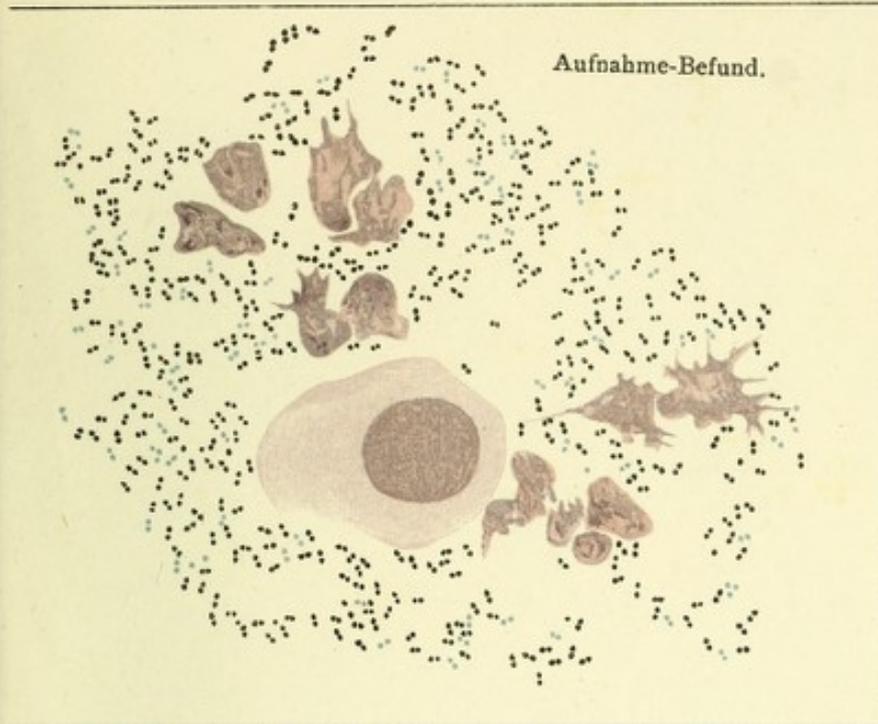




Fall Drechsler.

Tafel XII.

Bei malignen Fällen von Ulcus serpens erscheinen im Verlaufe der Infektion neue Generationen von Pneumokokken (tierische Bakterien, nicht phagozytierbar und ausgestattet mit enormer Kapselbildung).

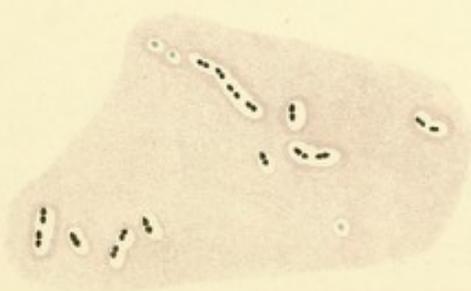


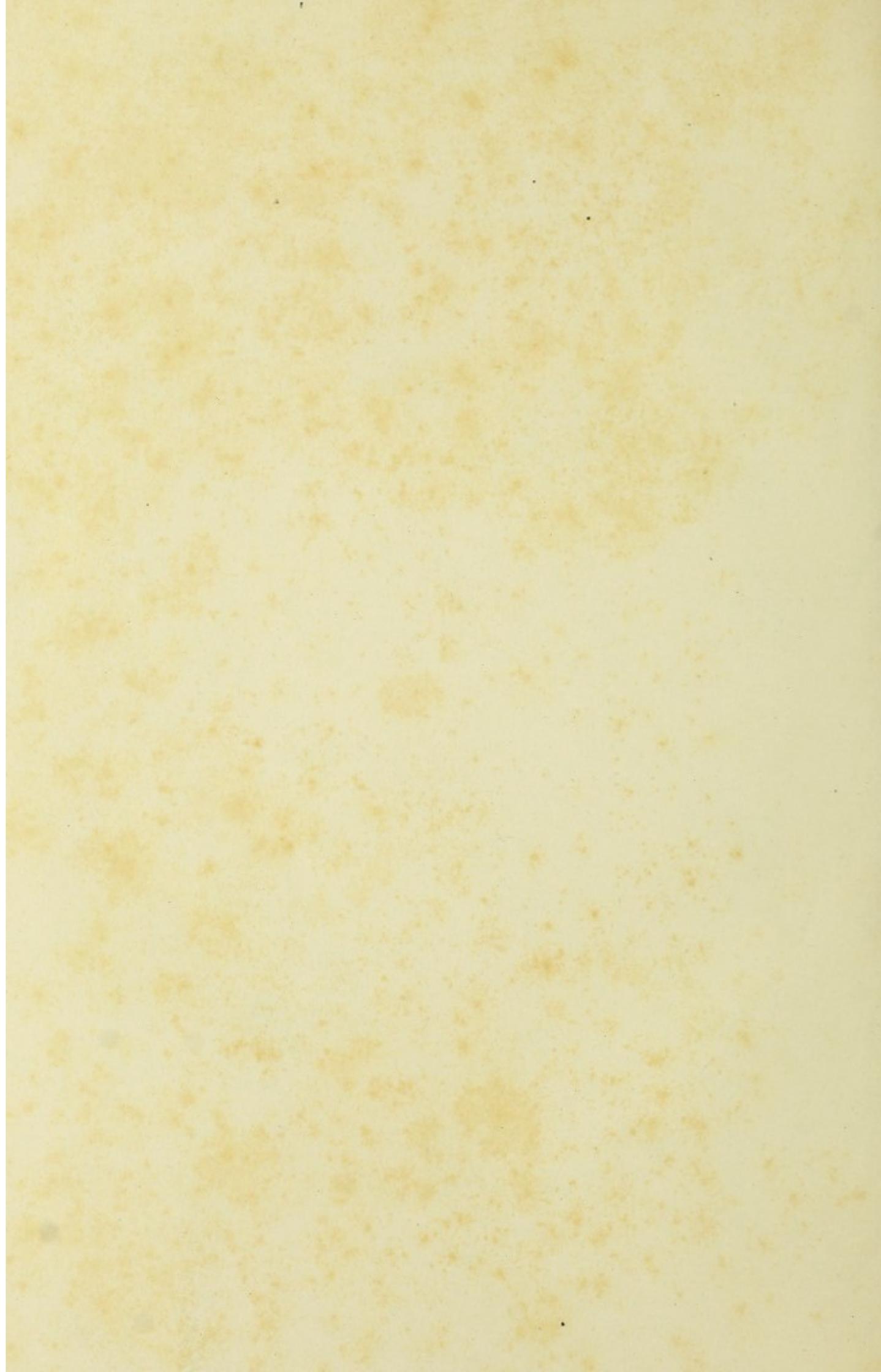
44 Std. nach der ersten Serum-Injektion.

Wendung zum Schlechten. 3. Tag.



Kultur der neuen Generation.





Bei der Heilung des Ulcus serpens unter der Serum-Wirkung spielt die Eosinophilie keine Rolle.

Fall Meier.
Aufnahme-Befund.



Fall Meier.
16 Stunden
nach der ersten Serum-Injektion.



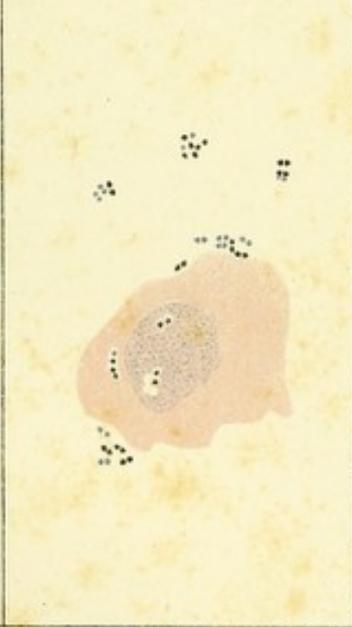
Fall Meier.
Dritter Tag nach der Aufnahme.



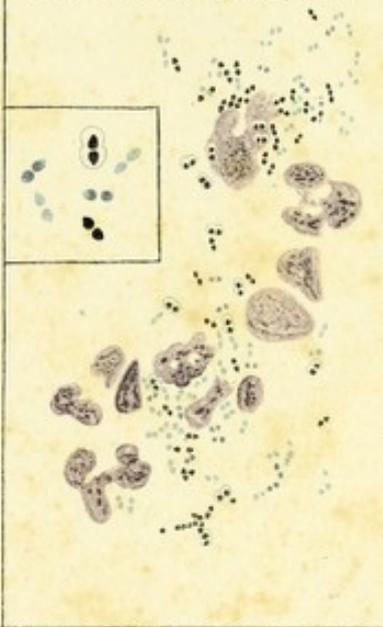
Fall Meier.
Vierter Tag nach der Aufnahme.



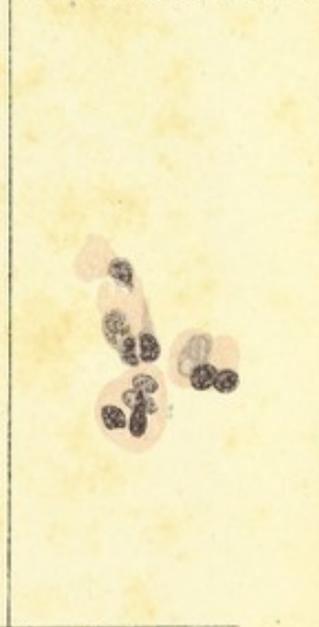
Fall Müller.
Aufnahme-Befund.



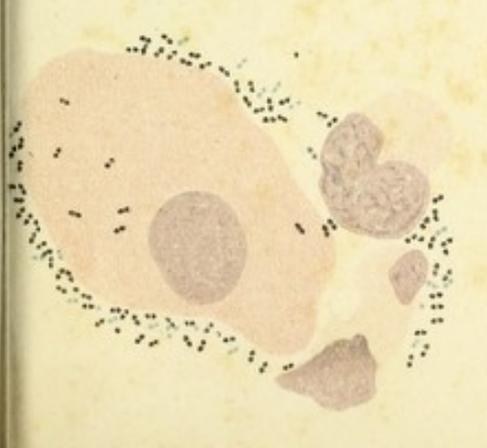
Fall Müller.
24 Stunden
nach der ersten Serum-Injektion.



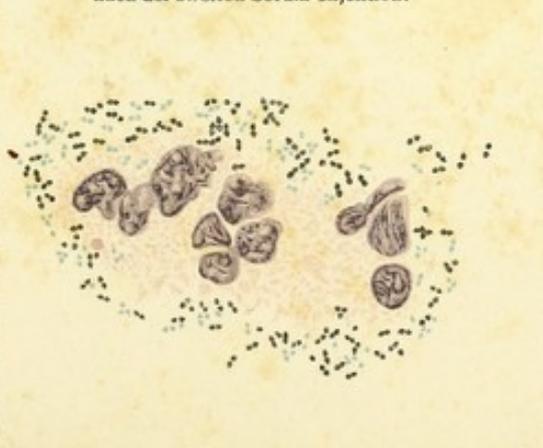
Fall Müller.
48 Stunden
nach der 1. Serum-Injektion.



Fall Keller.
Aufnahme.



Fall Keller.
20 Stunden
nach der zweiten Serum-Injektion.



Fall Keller.
20 Stunden
nach der ersten Serum-Injektion.



225

