

9. Drobinsky, Ruben, Über die Wechselbeziehungen zwischen Bakterien und Zellen in der Morphologie des gonorrhoeischen Sekrets. Inaug.-Diss., Berlin 1903.
10. Carstanjen, Max, Wie verhalten sich die prozentischen Verhältnisse der verschiedenen Formen weißer Blutkörperchen beim Menschen unter normalen Verhältnissen. Jahrbuch für Kinderheilkunde, Bd. 52, 1903.
11. Rosin und Bibergeil, Das Verhalten der Leukocyten bei der vitalen Blutfärbung. Dieses Archiv, Bd. 178, 1904.
12. Pappenheim, Atlas der menschlichen Blutzellen. I. Lief., 1905, S. 37.
13. Bibergeil, Beitrag zur vitalen Färbung des gonorrhoeischen Urethralsekrets. Archiv f. Derm. u. Syph., Bd. 62, 1902.
14. Kruse, in: Die Mikroorganismen, herausgegeben von Prof. Flügge, 3. Aufl., 1896, S. 405.
15. Michaelis, Die celluläre Reaktion bei der intraperitonäalen Streptokokkeninfektion. Deutsche med. Wochenschr., 1903, Vereinsbeilage Nr. 16, S. 123.
16. Bab, Die Colostrumbildung als physiologisches Analogon zu Entzündungsvorgängen. Berlin 1904, S. 56.
17. Arnold, Julius, Über Teilungsvorgänge an den Wanderzellen, ihre progressiven und regressiven Metamorphosen. Archiv f. mikroskopische Anat., Bd. 30, 1887.
18. Flemming, Studien über Regeneration der Gewebe. Archiv f. mikroskopische Anat., Bd. 24, 1885.

---

## XVII.

### **Differentialdiagnostische Studien über Pneumokokken und Streptokokken.**

(Aus dem Pathologischen Institut der Universität Berlin.)

Von

Dr. Richard Levy,  
Volontärassistent am Institut.  
(Hierzu eine Tabelle.)

---

Die rasch fortschreitende Vermehrung unserer Kenntnisse der morphologischen und vor allem der biologischen Eigenschaften der pathogenen Mikroorganismen hat zu einer ungeahnten Komplikation der bakteriologischen Diagnostik geführt. Solange sich die Identifizierung bestimmter Bakterienarten auf eine nur geringe Anzahl von Merkmalen stützte, erschienen die systematischen Einheiten in verhältnismäßig wenige Arten scharf

voneinander abgegrenzt. Man kann sagen, daß in der Folge jedes neue Merkmal, welches mit der bestehenden Systematik in Einklang gebracht werden sollte und das sich auf der einen Seite als diagnostisches Hilfsmittel erwies, auf der andern Seite der Diagnostik auch neue Schwierigkeiten brachte.

Vor allem vollzog sich mit der Bereicherung der Merkmale derselbe Prozeß, der in der Entwicklung der gesamten botanischen und zoologischen Systematik von einschneidender Bedeutung war, es trat eine immer größere Unsicherheit des Artbegriffes auf, und qualitative und quantitative Differenzen der neugefundenen Merkmale führten immer wieder vor die Frage, ob neue Arten abzugrenzen oder nur Varietäten einzuordnen wären. Daß in diesen Fragen eine langdauernde Fluctuation stattfinden muß, ist ganz selbstverständlich, da erst eine jahre-, sogar jahrzehntelange Erfahrung in sehr zahlreichen Einzeluntersuchungen über Konstanz und Variationsbreite neuer Merkmale Aufschluß geben kann. Ich erinnere hier nur an die Forschungen der letzten Jahre über die Differentialdiagnose des Typhus- und Paratyphusbacillus, der verschiedenen Typen der Dysenteriebazillen und endlich an die so actuelle Frage der Systematik der Tuberkelbazillen verschiedenen Ursprungs.

Ganz analoge Unsicherheiten sind nun im Laufe der letzten Jahre in der Differentialdiagnose zweier wichtiger pathogener Kokkenarten aufgetreten, der Streptokokken und Pneumokokken. Die Ähnlichkeit im Wachstum auf den üblichen Nährböden, die gemeinsame Eigenschaft der Nichtverflüssigung der Gelatine, die Möglichkeit der Kettenbildung beim Pneumokokkus, die Vorliebe mancher Streptokokkenstämme zur Annahme der Diplokokkenform sind ja hinreichend bekannt, wie auch die Tatsache, daß beide Arten viele ähnliche Krankheitsprozesse hervorzurufen imstande sind. Der typische lanzettförmige Pneumokokkus mit Kapsel ist fast ausschließlich in den Organsäften inficierter Tiere bzw. des Menschen zu finden. Der Erfolg einer Tierimpfung steht keineswegs immer im voraus fest, womit also unter Umständen das einzig ausschlaggebende morphologische Kriterium wegfällt. Um die Frage der Arteinheit der Streptokokken zu klären, hat man auch die Agglutination zu Hilfe genommen. Nach den Untersuchungen und der Ansicht von

Baumann muß man aber die früher mitgeteilten Ergebnisse anderer Autoren mit grosser Vorsicht aufnehmen, da sehr leicht Spontanagglutination der Streptokokken eintritt. Auf die in besonderer Weise und in sehr umfangreichem Maße von Hiss angestellten, anscheinend einwandfreien Agglutinationsversuche komme ich später zu sprechen.

Schottmüller glaubte mittels Blutagarmischung (2 Blut : 5 Agar) verschiedene Streptokokkenarten und den Pneumokokkus kulturell unterscheiden zu können, Hiss mit einem Inulinserumwasser-Nährsubstrat und E. Fraenkel durch den zur Typhusdiagnose so wertvollen Lakmusnutroseagar. Aus meinen Ausführungen wird sich ergeben, daß alle diese Kulturverfahren nicht die Erwartungen erfüllten, die die betreffenden Autoren darauf gesetzt hatten.

Schottmüller nimmt nach ihrem Verhalten auf Blutagar drei verschiedene Streptokokkenformen an. Der Streptokokkus pathogenes longus sive erysipelatos ruft im Bereich des Impfstriches und in dessen Umgebung Hämolyse und eine Entfärbung des ausgetretenen roten Blutfarbstoffes hervor, so daß die Farbe des Agar etwas grünlich schimmernd zutage tritt. Dieser Streptokokkus pathogenes ist für unsere Versuchstiere virulent und der Erreger der schweren und typischen Streptokokkenkrankungen des Menschen, im Gegensatz zu der zweiten Streptokokkenart Schottmüllers, dem Streptokokkus mitior sive viridans, der gar keine Tiervirulenz besitzt und nach Schottmüllers Angabe nur als Saprophyt oder in sehr schleichend verlaufenden septischen Erkrankungen gefunden wird. „Auf Blutagar ausgestrichen bildet der Streptokokkus mitior nach 24stündigem Wachstum eine sehr feine, graue oder schwarzgraue Auflagerung; nur, wenn das Ausgangsmaterial reichlich aufgetragen wird, findet ein üppigeres Wachstum statt. Im allgemeinen war das Wachstum aller Stämme dieser Gruppe ein gleichartiges, nur bei einzelnen Vertretern fand ihre Entwicklung recht langsam statt, so daß zuweilen, namentlich bei den ersten Generationen, 36—48 Stunden vergingen, bis makroskopisch eine Entwicklung deutlich sichtbar war. Andere Stämme boten wieder ein üppigeres Wachstum dar als die Mehrzahl derselben.“ Isolierte Mitiorcolonien wachsen auf Blutagar anfangs als feine,

fast farblose Punkte, später erscheinen sie grau bis grünlich-schwarz. Im Innern des Nährbodens treten sie in der Regel nach 36—48 Stunden als feine grüne Punkte hervor. In seltenen Fällen fand Schottmüller eine Andeutung von Hämolyse, im gewöhnlichen ist sie aber bei dem *Streptokokkus mitior* so gering, daß makroskopisch davon nichts wahrzunehmen ist. Nun hat Rieke beobachtet, daß zwei seiner *Mitior*-stämmen mit einem Male deutliche Hämolyse auf Blutagar zeigten. Diesen kann ich aus meinem Untersuchungsmaterial zwei Stämme an die Seite stellen, die anfangs gar nicht, bei später wiederholter Prüfung aber sehr stark hämolysierten. Der eine Stamm (S. Mi.) rührte aus einer tuberkulösen Kaverne her und war für weiße Mäuse nicht pathogen, der andere (R) wurde aus einem Absceß gezüchtet und war für Mäuse virulent. Beitzke und Rosenthal sahen einen *Mitior* nach zweimonatlicher Fortzucht „auf Blutagar zwei bis 3mm große Höfe bilden, in denen die Blutkörperchen zwar nicht völlig aufgelöst, aber doch stark gelichtet waren.“ Bei drei Stämmen gelang es ihnen durch Mäusepassage den *Mitior* in einen hämolysierenden *Streptokokkus* umzuwandeln. Umgekehrt zeigten nach mehrmonatlicher Fortzucht drei *Longus*-stämmen die Charakteristica eines *Mitior*. Zwar hatte Schottmüller schon darauf aufmerksam gemacht, daß bei einem geringeren Blutzusatz, als in dem angegebenen Mischungsverhältnis von 2 Teilen Blut zu 5 Teilen Agar der *Mitior* Hämolyse zu verursachen vermag, für meine Versuche muß ich jedoch diese Fehlerquelle für ausgeschlossen halten, und es ist anzunehmen, daß sich auch die eben citierten Autoren bei der Bereitung des Nährbodens an die Schottmüllerschen Vorschriften gehalten haben. Überdies war, wie gesagt, die Hämolyse in diesen Fällen sehr stark. Für den Übergang von *Streptokokkus longus* in den nicht hämolysierenden *Mitior* läßt sich aber schwerlich eine ungenaue Mischung des Blutagar verantwortlich machen. E. Fraenkel stellte fest, daß der *Streptokokkus mitior* wiederholt gerade für Mäuse pathogen war, was durchaus mit meinen Erfahrungen und denen von Beitzke und Rosenthal übereinstimmt. Als weiteres Hilfsmittel zur Differentialdiagnose zwischen *Streptokokkus longus* und *mitior* bezeichnet Schottmüller

die Fähigkeit der Mitiorstämme gewöhnlich Milch zu coagulieren, was bei den Longusstämmen meist nicht der Fall sein soll. Nachdem Beitzke und Rosenthal gezeigt haben, daß zwar alle von ihnen untersuchten Mitiorstämme Milch coagulierten, dies aber auch bei 12 von 21 Longusstämmen der Fall war, so dürfte also auch diese Methode nicht imstande sein, eine scharfe Trennung von *Streptokokkus longus* und *mitior* aufrecht zu erhalten. Dazu kommt noch, daß entgegen den Schottmüllerschen Angaben, der nicht hämolysierende *Streptokokkus mitior* auch bei schweren, rasch verlaufenden Krankheitsfällen von Beitzke und Rosenthal und von mir als Erreger gefunden worden ist, z. B. bei puerperaler Sepsis, Pyämie, Endometritis puerperalis, Peritonitis, fibrinöser Pneumonie, Scharlachangina. Im Ausstrichpräparat des Mitior „sieht man die Kokken einzeln, meist aber in Diploform, häufig auch in kürzeren oder längeren Ketten gelagert“.

„Nicht ganz so einfach,“ sagt Schottmüller selber, „ist unter Umständen die Unterscheidung von *Pneumokokkus* und *Streptokokkus mitior*. Sie wird durch die Berücksichtigung folgender Punkte herbeigeführt: Während der *Pneumokokkus* im Menschen oder Tierkörper Lanzettformen und Kapseln bildet, konnte ich beim *Streptokokkus mitior* ein derartiges Verhalten nie beobachten. Auf Blutagar bildet der *Pneumokokkus* grössere isolierte Kolonien und einen viel üppigeren und saftigeren Impfstrich.“ E. Fraenkel hat, wiewohl er stets die Vorzüge des Blutagar hervorhebt, zur Überwindung dieser Schwierigkeiten ein besonderes Kulturverfahren für die *Streptokokken*, den Lakmusnutroseagar, einzuführen gesucht, eine Methode, die, wie ich später zeigen werde, nicht zuverlässig erscheint. Der *Pneumokokkus* wächst nach Schottmüller auf Blutagar saftiger und mit intensiverer Farbstoffbildung als der *Streptokokkus mitior*, auch entwickeln sich Kolonien im Innern des Nährbodens rascher. Die mangelnde Virulenz dem in den ersten Generationen meist sehr virulenten *Pneumokokkus* gegenüber soll auch so den Mitior leichter erkennen lassen. Nun steht aber fest, daß der Mitior wohl Virulenz besitzen kann, der *Pneumokokkus* dagegen sie nicht in allen Fällen besitzen muß. Fehlt somit mitunter die Möglich-

keit, durch Feststellung von Kapselbildung im Tierkörper bzw. durch den Mangel von Kapseln zu entscheiden, ob wir es mit Pneumokokken oder Streptokokken zu tun haben, der Blutagar wird uns keineswegs immer den richtigen Weg zu weisen vermögen. So beobachtete ich zwei Stämme von *Streptokokkus mitior* (1118 u. 1178a) mit Kapselbildung in geeigneten Nährböden, jedoch nicht im Tierkörper. Auf Blutagar wuchsen sie ebenso üppig und mit gleich intensiver Farbstoffbildung wie der *Pneumokokkus*, so daß man sie sicherlich für *Pneumokokken* hätte halten können, wären nicht andere Mittel zur exacten Diagnose zur Hand gewesen. Da nun auch *Pneumokokken* schon nach 48 Stunden, häufiger nach 8—10 Tagen auf Blutagar hämolytische Höfe zeigen können, so kommen wir zu dem Schluß, daß der Schottmüllersche Nährboden weniger eine Methode zur Artunterscheidung der *Streptokokken* darstellt, als einen Hinweis auf die nahe Verwandtschaft der verschiedenen *Streptokokken* gibt.

Neben dem *Streptokokkus longus* und *mitior* stellt Schottmüller als eine dritte Art den *Streptokokkus mucosus* auf. Dieser zeichnet sich durch sein schleimiges Wachstum auf Blutagar aus, auf dem er unter Bildung eines dunkelgraugrünen Farbstoffes rasch und üppig gedeiht, wobei isolierte Kolonien Linsengröße erreichen können. Mitunter erscheinen diese Eigenschaften weniger stark ausgesprochen, so daß das Bild sehr dem der *Pneumokokken* ähnelt. Von der Verwandtschaft dieser beiden Mikroorganismen soll erst später ausführlicher die Rede sein.

Ich komme zurück auf den oben erwähnten von E. Fraenkel zur Unterscheidung der *Streptokokken* empfohlenen Lakmusnutroseagar: „Während nämlich,“ schreibt Fraenkel, „der *Diplokokkus lanceolatus* auf diesem Nährboden äußerst kümmerlich gedeiht, so daß sich im Bereich der Impfstelle nur ein mattglänzender, die schön blaue Farbe des Nährmediums nicht beeinflussender, dünner Belag bildet, wächst der *Streptokokkus viridans* auf demselben in sehr üppiger grauweißer Schicht unter gleichzeitiger intensiver Rotfärbung des Agar. Es handelt sich dabei um ein leuchtendes, sattes Rot, das unter Abnahme der Intensität allmählich in weiter Ausdehnung auf die Nach-

barschaft der geimpften Fläche übergreift... Auch der Streptokokkus pyogenes ruft allerdings eine Rotfärbung des Nährbodens hervor, die indes wesentlich langsamer erfolgt, als bei dem Streptokokkus viridans und ferner eine mehr bläulich-rote Nuance gegenüber dem schönen leuchtend-roten durch den Streptokokkus viridans bedingten Farbenton aufweist... Auf diesem Nährmedium zeigt der Streptokokkus mucosus ein außerordentlich üppiges Wachstum und die Kulturen lassen meist nach 24 Stunden den charakteristischen schleimigen Belag erkennen, der nach weiteren 24 Stunden gewöhnlich das Maximum der Entwicklung aufweist, aber auch nach drei und vier Tagen noch deutlich kenntlich ist... Dabei bleibt die schön blaue Farbe einer gut gelungenen Lakmusnutroseabkochung auch bei älteren Kulturen vollkommen erhalten... Dem auf dem genannten Nährsubstrat äußerst kümmerlich wachsenden Diplokokkus lanceolatus gegenüber weist der Streptokokkus mucosus eine geradezu glänzende Entwicklung auf, teilt mit ihm die Eigenschaft, die blaue Farbe des Lakmusagar nicht zu beeinflussen, unterscheidet sich aber von dem einen glanzlosen dünnen Belag bildenden Lanceolatus durch das saftige, schleimig-glänzende Aussehen der Kultur...“ Ich mache auch hier wieder auf die dem Pneumokokkus und dem Mucosus von Fraenkel selbst zugesprochene gemeinsame Eigenschaft aufmerksam. Meine Erfahrungen mit dem Lakmusnutroseagar bestätigen die schlechten Resultate von Beitzke und Rosenthal mit diesem Nährboden vollkommen. Sie fanden folgendes: „10 Stämme (8 Longus- und 2 Mitiorstämme) wuchsen mit, 6 (3 Longus-, 1 Mitior-, 2 Mucosusstämme) ohne Rotfärbung.“ Von 6 Pneumokokkenstämmen brachten sie nur zwei zum Wachsen auf Lakmusnutroseagar, fast die Hälfte ihrer Stämme, nämlich 10 Longus- und 4 Mitiorstämme, war trotz mehrfacher Versuche überhaupt nicht zum Wachsen zu bringen, also von insgesamt 36 Stämmen waren 18 nicht gediehen. Meine Zahlen klingen ähnlich: Von 32 Stämmen bei 18 kein Wachstum. Daß eine fehlerhafte Bereitung des Nährbodens an diesem Ergebnis nicht die Schuld trug, mag beweisen, daß auf einer erfolglos beschickten Platte Typhus- und Colibazillen sehr üppig in typischer Weise nach 24 Stunden wuchsen. Die Beobachtungen mit dem

Lakmusnutroseagar erstreckten sich bei den Kokkenstämmen auf jeweils 8—10 Tage. Bei den 14<sup>1)</sup> auf diesem Nährmedium aufgegangenen Stämmen war niemals eine Rotfärbung zu erkennen, was ich darauf zurückführe, daß das Wachstum auch bei diesen ein sehr dürftiges war. Während somit der Lakmusnutroseagar eine Enttäuschung bereitet hatte, zeigte es sich, daß man aus dem Wachstum auf Löffler-Serum in der Regel ziemlich sichere Vermutungsschlüsse darauf ziehen kann, ob es sich um Streptokokken, Pneumokokken oder Streptokokkus mucosus handelt. Die Kulturunterschiede auf dem genannten Nährsubstrat waren mir bereits früher aufgefallen und in den Mitteilungen von Hiss konnte ich meine Beobachtungen nur bestätigt finden. Der Pneumokokkus bildet auf Löffler-Serum feuchte, bis höchstens hirsekorngroße, isolierte Kolonien, die nach einigen Tagen gewöhnlich verschwinden. Das Wachstum der Streptokokken ist trocken, nur in der Nähe des Kondenswassers mitunter etwas feuchter. Die einzelnen Kolonien sind sehr klein und meist so dicht beieinander, daß ein fein granulierter Belag entsteht. Der Streptokokkus mucosus wächst unter Bildung von wassertropfenartigen, häufig konfluierenden, glattrandigen Kolonien, die, wie beim Pneumokokkus, nur von kurzem Bestand sind. Bei einem Stamm von Streptokokkus mucosus blieb das Wachstum auf Löffler-Serum aus; Bürger bezeichnet dieses Verhalten als die Regel bei den von ihm untersuchten Mucosusstämmen. Die Kolonien zweier auf Löffler-Serum gezüchteten Mitiorstämmen zeichneten sich durch einen eigentümlichen Glanz aus, wodurch sie weder trocken wie Streptokokken, noch feucht wie Pneumokokken erschienen. Ich will keineswegs auf Grund meiner oder der Beobachtungen von Hiss das Löffler-Serum als ein sicheres Mittel zur Unterscheidung der Arten aus der großen Gruppe der Streptokokken bezeichnen, sondern nur hervorheben, daß bei einiger Übung aus der Betrachtung von Kulturen auf diesem Medium häufig sehr gute Anhaltspunkte zu erhalten sind. Ein zufällig von mir erhobener Befund ist nicht uninteressant, bei dem ein Streptokokkenstamm 4½ Monate

1) 8 Longus-, 3 Mitior-, 2 Mucosusstämmen und 1 Pneumokokkusstamm.



nach der Beschickung eines Löffler-Serum-Röhrchens nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur sich noch auf Bouillon übertragen ließ und auch bei weiterer Überimpfung ein üppiges Wachstum zeigte.

Hiss hat den Einfluß von Kokken auf verschiedene Kohlehydrate studiert und gefunden, daß das Inulin zur Unterscheidung der Streptokokken und Pneumokokken sich besonders eignet. Zu diesem Zweck hat er einen Nährboden von folgender Zusammensetzung hergestellt:

- 1 Teil Ochsen Serum
- 2 Teile destilliertes Wasser
- dazu 1% Inulin.

Diese Mischung wird, nachdem man das Inulin vorher bei etwa 50 bis 60° C im Wasser zur Lösung gebracht hat, an drei aufeinanderfolgenden Tagen 10 Minuten bei 100° im strömenden Dampf sterilisiert, ohne daß das Serum gerinnt. Das Nährsubstrat wird nach den Angaben von Hiss vom Pneumokokkus und dem Streptokokkus mucosus zum Coagulieren gebracht, der Streptokokkus longus und mitior wächst zwar darin, aber ohne die geschilderte Veränderung des Nährbodens herbeizuführen. Die erstgenannten Keime vergären das Inulin unter starker Säurebildung, die letzteren verursachen keine Vergärung des Inulins und ihre Säurebildung reicht nicht dazu aus, das durch Erhitzen denaturierte Serumeiweiß zur Gerinnung zu bringen. Nach Hiss soll die Coagulation durch Pneumokokken und Streptokokkus mucosus nach 48 Stunden bestimmt eingetreten sein. Bei einem seiner Pneumokokken zeigte sie sich aber erst nach acht Tagen. Von meinen Streptokokkenstämmen hat kein einziger (s. u.) den Inulinnährboden coaguliert, obwohl sie sämtlich gut darin gediehen sind, was mit den Erfahrungen von Hiss und anderen harmoniert. 4 von 5 auf Inulin gezüchteten Stämmen von Streptokokkus mucosus konnten in zehntägiger Beobachtung den Nährboden nicht coagulieren, ebenso auch nicht alle Pneumokokkusstämmen. Interessant erscheint die Beobachtung von Park und Williams, daß eine Anzahl von Pneumokokken, welche sofort nach der Isolierung sich als typisch erwiesen, nachher die Eigenschaften von Streptokokken annahmen und auch nicht mehr imstande waren, Inulinserum

zur Gerinnung zu bringen. Es ist ja bekannt, daß die Pneumokokken beim Fortzüchten leicht ihre typischen Eigenschaften in den Kulturen aufgeben, und das ist es ja, was die Differentialdiagnose erschwert. Und wenn der Inulinnährboden in solchen Fällen versagt, so kann er eben als sicheres Mittel zur Unterscheidung nicht betrachtet werden. Außerdem hat er auch bei einem von mir frisch isolierten Mucosus nicht die ihm zugeschriebene Eigenschaft gezeigt; die andern Stämme, von denen eine Coagulation des Serums zu erwarten war, bei denen sie aber nicht eintrat, waren wohl schon längere Zeit fortgezüchtet. „Allerdings,“ so heißt es in dem Referat (a. a. O.) über die Hissche Arbeit, „kamen auch Mikroorganismen zum Vorschein, welche das Inulin in Gärung versetzten und welche man weder für Pneumokokken noch für Streptokokken halten konnte. Manche von diesen stimmten mit dem Pneumokokkus in der Morphologie überein, besaßen aber keine Kapseln; andere waren typische Streptokokken, meistens ohne oder mit schlecht entwickelten Kapseln . . . Wie andere physiologische Eigenschaften der Mikroorganismen im allgemeinen, ist auch die Gärungsgeschwindigkeit eine sehr schwankende Lebensäußerung.“ Einer meiner Stämme (S. K.) hat einmal nach 48 Stunden coaguliert, einmal — einige Wochen später — bei 10tägiger Beobachtung nicht mehr. Dieser Stamm verdient besonderes Interesse, ich werde deshalb weiter unten näher auf ihn zu sprechen kommen.

Ich glaube also, daß der Streptokokkus longus bzw. mitior im allgemeinen nicht imstande ist, Inulinserum zu coagulieren, daß dem Pneumokokkus und Streptokokkus mucosus diese Eigenschaft zukommen kann, aber nicht muß. Auf Grund dieser erneuten Ähnlichkeit zwischen Streptokokkus mucosus und Pneumokokkus sind Park und Williams der Ansicht, daß man den Streptokokkus mucosus als eine Abart des Diplokokkus lanceolatus betrachten sollte, und sie schlagen dafür den Namen Streptokokkus lanceolatus var. mucosus vor. Als fernere Gründe, warum sie den Mucosus den Pneumokokken unterstellen, führen sie an:

Auf serumfreiem Kulturboden nach 2—3 Umzüchtungen produciert er weiter keine schleimartige Substanz mehr und

zeigt auch Kapseln und keine Ketten, sondern erscheint als typischer Pneumokokkus. — — — Er wurde in Fällen typischer lobärer Pneumonie in Reinkultur gefunden — Absorptionsversuche deuten auf eine enge Verwandtschaft zwischen Pneumokokken und Streptokokkus mucosus hin, während eine solche zwischen diesen und typischen Streptokokken als nicht bestehend angenommen werden muß.

Da bei der Coagulierung des Inulinnährbodens sowie bei der Unterscheidung mit Lakmusnutroseagar die Säurebildung eine Rolle spielt, suchte ich durch Züchtung meiner Streptokokken- und Pneumokokkenstämme auf Lakmusmolke Anhaltspunkte darüber zu gewinnen. Baumann konnte bei den von ihm beobachteten Stämmen überhaupt kein Wachstum in diesem Nährsubstrat konstatieren. Von 32 meiner Stämme gediehen ebenfalls 10 nicht in Lakmusmolke, davon waren 4 Mucosi, 2 Pneumokokken, 4 Streptokokken. Bei den 22 Stämmen, die in diesem Medium wuchsen, war immer Säurebildung an der Rotfärbung zu erkennen, jedoch ließen sich aus der Intensität keine Schlüsse auf die Art der Kokken ziehen.

Besitzen wir nun aber überhaupt ein Mittel — vom Tierversuch, der ja mitunter auch versagt, abgesehen — zur sicheren Differentialdiagnose von Pneumokokken und Streptokokken? Ich glaube, diese Frage nach der positiven Seite beantworten zu können.

Im Jahre 1900 hat Neufeld eine spezifische bakteriolytische Wirkung der Galle auf Pneumokokken beschrieben, die bisher für die bakteriologische Diagnose weder von diesem Autor selbst, noch von anderer Seite benutzt worden ist. Wir wissen, daß die dem Tierkörper entnommene Galle eine große Neigung zur Fäulnis besitzt, daß außerdem z. B. bei Typhusleichen die Erreger dieser Krankheit aus der Galle zu besonders üppigem Wachstum gebracht werden können. Diese Erfahrung dürfte sich wohl auch Conradi bei der von ihm jüngst empfohlenen und vielfach bewährten Züchtung von Typhusbazillen aus dem Blut mittels der Gallenkultur zunutze gemacht haben. Im Gegensatz zu diesem das Wachstum vorteilhaft beeinflussenden Verhalten entfaltet die Galle eine spezifische, schädigende Wirkung auf Fraenkelsche Diplokokken. „Bringt man beispielsweise“,

schreibt Neufeld, „0,1 cem Kaninchengalle in ein Reagensröhrchen, füllt dazu 1,0 bis 2,0 cem einer Bouillonkultur von Pneumokokken und schüttelt kräftig durch, so bemerkt man meist schon sogleich, wenn man einen hängenden Tropfen des Gemisches anfertigt, daß die Kokken spärlicher sind, als sie es in der Bouillonkultur waren; die Ketten sind kürzer, einzelne Glieder davon erheblich kleiner und am Rande unregelmäßig, wie angenagt. Im Verlauf der nächsten Minuten sieht man die Mikroorganismen, teils immer kleiner, teils auch nur undeutlicher, schließlich ganz schattenhaft werden, bis sie endlich völlig unsichtbar sind. In keinem Stadium ist dabei eine Quellung zu konstatieren. Der ganze Prozeß nimmt eine etwas variable Zeit in Anspruch; manchmal ist er in 3 bis 4, manchmal erst in 15 bis 20 Minuten oder noch etwas später beendet. Alsdann haben wir eine Flüssigkeit vor uns, welche dem bloßen Auge absolut klar und durchsichtig, natürlich durch den Gallenfarbstoff grünlich oder bräunlich gefärbt erscheint. Auch mit dem Mikroskop entdeckt man nichts darin, als etwa einige in der Galle enthaltene Epithelzellen. Die Bakterien sind völlig in Lösung übergegangen. Auf einen neuen Nährboden übertragen, erweist sich die Flüssigkeit, wenn man den völligen Ablauf des Prozesses abgewartet hat, als steril.“ Neufeld hat bei der Gallenwirkung bisweilen Stadien beobachtet, wo nur noch ganz kleine eckige Körnchen, die auch gefärbt gar nicht an Kokken denken ließen, mikroskopisch sichtbar waren, während ein Agarausstrich eine so reichliche Kultur ergab, daß er nicht annimmt, sie sei aus vereinzelter gut erhaltenen Diplokokken hervorgegangen, die etwa im Präparat übersehen sein könnten. Kulturen von Milzbrand, Cholera, Typhus, *Bacterium coli*, *Pyocyaneus*, Staphylokokken, Diphtherie, einige Stämme aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie, Rotlauf sowie einige Streptokokkenstämme zeigten Neufeld bei Zusatz von Galle nicht nur keine Auflösung, sondern die meisten dieser Mikroorganismen vermehrten sich reichlich in Galle. Verschiedene von Neufeld untersuchte Pneumokokkenstämme wurden in gleicher Weise von Galle aufgelöst. „Eine völlige Ausnahme machte dagegen eine aus einem chronischen, fieberlosen, nach Ablauf einer Pneumonie zurückgebliebenen Prozeß isolierte

Kultur Fraenkelscher Diplokokken. Sie wurde durch menschliche, Kaninchen- und Meerschweinchengalle absolut nicht beeinflußt, sondern wuchs sogar gut darin unter Bildung besonders ausgeprägter Kapseln. Diese Kultur war zugleich die einzige, welche, während sie für Mäuse stark virulent war, jeder Pathogenität für Kaninchen und Meerschweinchen entbehrte. Die Tiere vertrugen bis zu 10 ccm davon ohne Schaden.“ Ich halte es für sehr leicht möglich, daß Neufeld hier einen Streptokokkus mitior vor sich gehabt hat, wenigstens spricht die Herkunft, die Kapselbildung in Galle und das merkwürdige Verhalten in der Virulenz schon dafür.

Nachdem Neufeld bereits nachgewiesen hatte, daß die auf den Pneumokokken wirkende Substanz auch in die „kristallisierte Galle“ übergeht, das heißt die Ätherfällung der in Alkohol löslichen Bestandteile, welche im wesentlichen die glykochol- und taurocholsauren Salze enthält, und er vermutete, daß die spezifische Wirkung an die Cholalsäure gebunden sei, lag es für mich nicht mehr so fern, gallensaure Salze zur Anstellung differentialdiagnostischer Untersuchungen zu verwenden. Dieses Versuchsobjekt hat gegenüber der Benutzung der Tiergalle den Vorteil, daß man es jederzeit in beliebiger Menge vorrätig halten kann und daß man nicht genötigt ist, zu jeder Reaktion ein Tier zu töten. Der Hauptvorteil ist jedoch darin zu erblicken, daß es die Möglichkeit ergibt, eine genaue quantitative Konzentrationsgrenze festzusetzen. Bei tierischer Galle haben wir es nie in der Hand, einen bestimmten Grad der Konzentration zu erreichen, denn einmal ist sie mehr, andere Male weniger eingedickt, und es fehlen die Anhaltspunkte, ob und wieviel von der wirksamen Substanz in ihr enthalten ist. Meine Versuche wurden durchweg mit taurocholsaurem Natrium (von E. Merck) ausgeführt, die Verdünnungen mit Nährbouillon hergestellt. Die Lösung des taurocholsauren Natriums ist bei jedem Versuch frisch zu bereiten oder darf wenigstens nicht älter sein als wenige Stunden, da bei nicht sterilem Vorgehen und längerem Stehen alle möglichen Keime darin zur Entwicklung kommen und den Erfolg der Reaktion beeinträchtigen.

Es zeigte sich, daß das taurocholsaure Natrium in einer Konzentration von 2,5 % bei allen untersuchten



die Lösungen gut mischen, was rasch geschieht, und in der Regel sieht man sofort, selten erst nach einigen Minuten, daß die mit gallensaurem Salz versetzten Röhrchen mit Pneumokokken- oder Streptokokkus mucosus-Kultur gegenüber der trüben Kontrolle vollkommen aufgehellte und klar erscheinen. Hat man vergleichshalber auch eine Reaktion gleichzeitig mit einem gewöhnlichen Streptokokkus angestellt, so ist der Unterschied sehr eklatant. Die makroskopische Betrachtung reicht indes nicht zur sicheren Beurteilung aus. Hat man z. B. nicht sehr üppig gewachsene Kulturen vor sich in einer vielleicht noch sehr hellen Bouillon, so kann schon durch die Verdünnung allein die Mischung aufgehellte erscheinen. Die Entscheidung liefert einzig der hängende Tropfen. Hatte ich Streptokokken vor mir, so war in keinem Falle ein Unterschied in der Anzahl oder dem Aussehen der Kokken in den Versuchsröhrchen und der Kontrolle zu sehen. Handelte es sich hingegen um den Pneumokokkus oder den Streptokokkus mucosus, so war bei den angegebenen Konzentrationen niemals auch nur eine Spur von Kokken im hängenden Tropfen zu erkennen, in der Kontrolle hingegen fanden sie sich in reichlicher Anzahl. Wird die Konzentration des taurocholsauren Natrium schwächer, so erscheinen nicht in jedem Falle gleichmäßig, bald bei 1,25 %, bald erst bei 0,3 % die Kokken nur selten intakt, meist wie vom Rande her angefressen, mit unregelmäßigen zackigen Konturen und gewöhnlich sehr lebhafter Molekularbewegung. Diese Gestaltsveränderung kann man auch direkt unter dem Mikroskop beobachten, wenn man zu einem kleinen, zwischen gewöhnlichem Objektträger und Deckglas ausgebreiteten Bouillonkulturtropfen etwas von der Salzlösung zuffießen läßt. Die Versuche wurden bei Zimmertemperatur angestellt. Da das Resultat der Untersuchung immer sehr bald vorliegt, so ist ein absolut steriles Vorgehen nicht unbedingt erforderlich, weil die Zeit zur Entwicklung verunreinigender Keime zu kurz ist.

Der Wert der verschiedenen differentialdiagnostischen Hilfsmittel ergibt sich am klarsten aus den Einzelheiten der

beigefügten Tabelle, in der ich die von mir untersuchten Stämme mit ihren wesentlichen Merkmalen aufgeführt habe, und ich glaube, daß nach diesen Ergebnissen die Gallenreaktion vor allen anderen Methoden unser Vertrauen in Anspruch nehmen darf.

Das Wachstum auf Lakmusmolke und Lakmusnutroseagar bedarf keiner weiteren Worte der Erläuterung. Man sieht, daß in Bouillon die Gruppe der Pneumokokken gewöhnlich nur mit diffuser Trübung wächst, während die Streptokokken auch noch einen Bodensatz bilden. Aber dieser Unterschied erwies sich keineswegs als konstant, und gleitende Übergänge waren wiederholt zu beobachten, wie auch bei dem Wachstum auf Löffler-Serum die weiter oben erwähnten unterscheidenden Merkmale öfters verwischt erschienen. Die bei der Besprechung des Blutagar an ihm gerügten Nachteile zeigt die Tabelle sehr deutlich. Mit diesem Nährboden allein werden wir beim Fehlen der Hämolyse niemals eine sichere Entscheidung treffen können, da die Üppigkeit des Wachstums und die Farbstoffbildung in ihrer Intensität erhebliche Schwankungen aufweisen.

Der Inulinnährboden hat ebenfalls nicht das gehalten, was man nach den Schilderungen von Hiss davon hätte erwarten sollen.

Wir kommen somit zu dem Ergebnis, daß der Tierversuch, vorausgesetzt, daß er gelingt, von den bisher üblichen Methoden allein zuverlässig ist. Gleich gute Resultate lieferte die Gallenreaktion. Aus der immerhin relativ kleinen Anzahl von Fällen möchte ich den Schluß ziehen, daß das Phänomen der Bakteriolyse durch taurocholsaures Natrium für die Pneumokokken spezifisch und konstant ist, jedoch nur umfangreiche Nachprüfungen werden zu einer endgültigen Bewertung dieser einfachen Methode imstande sein. Soviel zeigt auch sie uns schon jetzt, daß wir es aufgeben müssen, den Mucosus den Streptokokken beizuordnen.

Irgendwelche Ähnlichkeit mit dem Streptokokkus longus konnte ich weder in den bisher erschienenen Arbeiten, noch bei meinen Untersuchungen entdecken, wohl aber treten überall die nahen Beziehungen zum Pneumokokkus hervor. Die längliche Gestalt der einzelnen Kokken des Mucosus, die manchmal täuschend der Lanzettform ähnlich wird, die Diploform, die hohe



Tierpathogenität, die Kapselbildungen, mitunter sogar mit Einschnürung, wie beim Pneumokokkus, das Verhalten auf Blutagar und zuweilen in Inulin, das rasche Eintrocknen und Verschwinden von dem Nährboden, das nicht allzu seltene Vorkommen als Erreger echter fibrinöser Pneumonie bilden zusammen mit der spezifischen Reaktion auf taurocholsaures Natrium genügende Stützpunkte, ihn dem Pneumokokkus nahezustellen. Von diesem ist er unterschieden durch die Schleimbildung, die längliche, meist nicht zugespitzte Form, durch das Vorhandensein von Ketten im Organsaft oder Blut inficierter Tiere und durch die gewöhnlich weiten, meist nicht eingekerbten Kapseln.

Einen weiteren, sehr wichtigen Beweis der nahen Verwandtschaft liefern die sehr interessanten Ergebnisse der umfangreichen Agglutinationsversuche von Hiss. Als Nährboden benutzt er 1 bis 2 % Pepton enthaltendes Fleischinfus, das vor dem Kochen neutralisiert wurde. Nach dem Filtrieren: Zusatz von 1 % Dextrose oder einer anderen geeigneten Zuckerart und 1 % Calciumcarbonat. Abfüllen in kleine Kolben, Sterilisation an drei aufeinander folgenden Tagen. Züchtung bei 37° C. Mehrmals am Tage schütteln zum Lösen der Kokkenhaufen. Nach drei bis vier Tagen Agglutinationsversuch. Eine Stunde vorher wurden die Kulturen geschüttelt und nach dem Absetzen oder Zentrifugieren die Proben aus dem oberen Teil des Kölbchens entnommen, so daß die Verteilung eine sehr feine war. 1 ccm Kultur und 1 ccm Serumverdünnung wurden zwei bis drei Stunden bei 37° und dann 18 bis 24 Stunden auf Eis stehen gelassen. Jedesmal wurden Kontrollen mit Pneumokokken-Immunserum, normalem Kaninchenserum und mit Kochsalzlösung angelegt. Die Resultate waren folgende:

Streptokokken-Immunserum agglutinierte nur Streptokokken, die jedoch von keinem anderen Serum agglutiniert wurden. Der Streptokokkus mucosus wurde durch sein homologes Serum nur in Verdünnung von 1:20, 1:50 agglutiniert, im Pneumokokkus-Immunserum wenig oder gar nicht. Dagegen erfolgte eine Agglutination der Pneumokokken durch Streptokokkus mucosus-Immunserum, ebenso in den stärksten Verdünnungen, wie durch das Pneumokokken-Immunserum. Diese Übereinstimmung in Agglutination und Gallenreaktion läßt in Ver-

bindung mit den übrigen, oben ausführlich aufgezählten Ähnlichkeiten keinen Zweifel mehr, daß der *Streptokokkus mucosus* einen sehr nahen Verwandten des *Pneumokokkus* darstellt, der nur durch die Schleimbildung von diesem verschieden ist. Beitzke und Rosenthal hatten daher schon auf Grund ihrer Versuche den Namen *Pneumokokkus mucosus* vorgeschlagen, Park und Williams *Streptokokkus lanceolatus* var. *musosus*.

Einen besonders bemerkenswerten *Streptokokkenstamm* (S. K.) bezog ich aus dem Králschen bakteriologischen Laboratorium in Prag, von dem er mir als *Streptokokkus mucosus capsulatus*, isoliert aus einer Otitis, übersandt wurde. Er wuchs in Bouillon mit diffuser Trübung ohne Bodensatz, auf Agar mit tautropfenartigen isolierten Kolonien, von denen infolge ihrer gallertartigen Beschaffenheit schwer etwas mit der Öse zu entfernen war. Das Wachstum auf Löffler-Serum erschien wassertropfenartig, teilweise konfluierend, auf Lakmusnutroseagar war es eben erkennbar ohne Rotfärbung. Auf Blutagar bildete der Stamm dunkelgrünen Farbstoff, doch war der Rasen nur wenig schleimig. Nach 10 Tagen zeigte sich ein hämolytischer Hof um die eintrocknenden Kolonien, von denen isolierte fast Linsengröße erreicht hatten. Lakmusmolke wurde schon nach 24 Stunden stark gerötet, Inulinserumwasser nach 48 Stunden zur Gerinnung gebracht. Die Pathogenität für weiße Mäuse war gering. Im Blute fanden sich spärlich runde Diplokokken, an denen Kapseln nicht nachzuweisen waren, doch waren im Inulin und anderen flüssigen Serumnährböden meist Kapseln zu sehen. In diesen Medien lagen die runden Kokken einzeln, in Diploform und in geraden, kurzen und seltener längeren Ketten, die Kapseln meist weit ohne sichtbare Einkerbungen. Nach mehrwöchentlicher Fortzüchtung auf Bouillon, wobei niemals Schwierigkeiten erwuchsen, verimpfte ich diesen Stamm wieder auf Inulinserumwasser. Diesmal blieb die Coagulation aus, ich konnte aber gutes Wachstum der Kokken mit Kapselbildung konstatieren. Während das Verhalten auf den gewöhnlichen Nährböden sowie auf Blutagar, Löffler-Serum und anfangs in Inulin, ferner die Anwesenheit von Kapseln nur zu sehr an den *Streptokokkus mucosus* erinnerten, konnte diese Diagnose angesichts des Aus-

falles der Reaktion mit taurocholsaurem Natrium nicht zurecht bestehen. Trotz wiederholter Versuche war niemals etwas von Aufhellung der Flüssigkeit, von Veränderung oder Verschwinden der Kokken zu bemerken. Da sich die Kulturen dieses Stammes auf Agar bis zu 10 Tagen übertragbar erhielten, die Virulenz für weiße Mäuse sich gering erwies und Kapseln im Blut der infizierten Tiere nicht nachweisbar waren, dürfen wir wohl hiermit weitere Stützen für den Ausschluß des *Streptokokkus mucosus* gefunden haben. Wir müssen annehmen, daß es sich um einen dem *Streptokokkus mitior* ähnlichen, aber schleimiger und üppiger wachsenden Stamm gehandelt hat. Dieser Stamm besitzt deshalb großes Interesse, weil er beweist, daß Blutagar und Inulinnährboden uns leicht auf falsche Fährte bringen können, während die Reaktion mit taurocholsaurem Natrium gerade in schwierigen Fällen eine sichere Diagnose spielend zu ermöglichen scheint und die Vorzüge dieser Methode besonders erkennen läßt, nämlich ihre Einfachheit und die Raschheit der Ausführung und der Erlangung des Resultats.

Die eigenartige Reaktion der Leibessubstanz der Pneumokokken auf Lösungen von taurocholsaurem Natrium weist, wie schon Neufeld bemerkte, auf ganz bestimmte chemische Beziehungen zwischen Bakterium und Reagens hin. Gerade dieser Umstand, daß es sich nicht um das variable Merkmal von Lebensäußerungen handelt, die von äußeren Verhältnissen abhängen, läßt erwarten, daß die Reaktion sich auch bei weiteren Untersuchungen als eine konstante erweisen wird. Für eine Deutung des Wesens des außerordentlich merkwürdigen Auflösungsvorganges selbst fehlt uns vorläufig die Grundlage. Daran denken muß man natürlich, daß zwischen der hier beobachteten Bakteriolyse und der Hämolyse durch gallensaure Salze, wie sie von Kobert und seinen Schülern eingehend erforscht worden sind, Beziehungen bestehen. Kann man sich hier aber wenigstens die Vorstellung bilden, daß die gallensauren Salze vor allem in der Lipoidhülle der Blutkörperchen ihre Angriffsstelle finden, so mangelt angesichts der geringen Kenntnisse vom chemischen und morphologischen Aufbau des Bakterienkörpers für bestimmte Vorstellung über die Bakteriolyse jede Basis. In irgendwelche Parallele mit der spezifischen

Bakteriolyse und Hämolyse, wie dies Neufeld getan hat, kann man meines Erachtens den Vorgang nicht setzen.

Die Ergebnisse meiner Versuche lassen sich in folgenden Sätzen zusammenfassen.

Abgesehen vom Tierversuch erwies sich die Reaction mit taurocholsaurem Natrium bei den von mir untersuchten Stämmen als die sicherste und einfachste Methode zur Differentialdiagnose der Pneumokokken und Streptokokken, während Blutagar, Inulinnährboden und Lakmusnutroseagar keine zuverlässigen Resultate lieferten.

Der Streptokokkus mitior Schottmüllers stellt einen vom Streptokokkus longus vollkommen absondernden Typus nicht dar.

Der Streptokokkus mucosus ist nach allen bis jetzt gewonnenen Merkmalen eine Varietät des Pneumokokkus und entsprechend zu bezeichnen (Pneumokokkus var. mucosus).

Herrn Prof. Dr. Morgenroth spreche ich für die Anregung zu dieser Arbeit und die wertvolle Unterstützung bei ihrer Anfertigung auch hier meinen wärmsten Dank aus.

#### Literatur.

1. Baumann, Münch. med. Wochenschr., 1906, Nr. 25.
  2. Beitzke und Rosenthal, Arbeiten aus dem Path. Institut der Univ. Berlin, 1906, S. 349.
  3. Buerger, Centralbl. f. Bakt. usw., Bd. 41, S. 314.
  4. Fraenkel, E., Münch. med. Wochenschr., 1905, Nr. 12 u. 39.
  5. Hiss, Philipp Hanson u. A., Studies from the Departement of Pathology of the Coll. of Phys. and Surg. Columbia University, Vol. X. Referat: Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, Nr. 21—23.
  6. Neufeld, Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskr., Bd. 34, S. 455.
  7. Park, Williams u. A., The Journal of Experim. Medic., Vol. VII, No. 5. Referat: Centralbl. f. Bakt., Bd. 38, Nr. 21—23.
  8. Rieke, Centralbl. f. Bakt., Bd. 36, S. 321.
  9. Schottmüller, Münch. med. Wochenschr., 1903, Nr. 20 u. 21, und 1905, Nr. 30.
  10. Süpfle, Centralbl. f. Bakt., Bd. 42, Heft 4.
-