

## Zur Frage nach dem Scharlacherreger.

Von

Dr. A. Smirnowa-Zamkowa,

Oberassistentin am Kiewer Pathologisch-Anatomischen Institut.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. März 1926.)

Viele Forscher äußern die Vermutung, daß der Scharlach von einem besonderen, unbekannten Virus hervorgerufen wird, auf dessen Boden sich der Streptokokkus entwickelt. Denselben Gedanken haben auch wir in unserer Arbeit „Untersuchungen der Gallenblase beim Scharlach“ durchgeführt, nämlich „der Scharlacherreger ist unbekannten Charakters, besitzt angiotrope Eigenschaften und indem er in den Organismus eindringt und sich vorwiegend im Magen-Darmkanal festsetzt, schafft er einen günstigen Boden für die Ansiedlung des Streptokokkus, und das weitere Krankheitsbild verläuft als Streptokokkensepsis“.

Die von uns weiter unten beschriebenen Versuche erscheinen gewissermaßen als Bestätigung einer solchen Ansicht. Als Richtschnur für unsere Versuche diente 1. die Tatsache, daß in Ausstrichpräparaten von Galle aus Gallenblasen von Scharlachleichen oxyphile Körperchen von uns nachgewiesen wurden, ähnlich denen, die wir in den Organen beschrieben haben, und 2. waren in einigen Gallenkulturen 1. Züchtung außer Streptokokken auch stark lichtbrechende Körperchen vorhanden, die sich bei gewöhnlicher Färbungsmethode gleichzeitig mit den Streptokokken nicht färbten, sich dagegen bei Färbung mit starker Eosinlösung als ebensolche oxyphile „Rubinkörperchen“ darstellten (Abb. 1 u. 1a).

Die Versuche wurden folgendermaßen ausgeführt:

Eine Gallenkultur von einer Scharlachleiche wurde auf Zuckerbouillon angelegt, aus welcher der Streptokokkus durch Überimpfung auf Agar ausgeschieden wurde, und in welcher wir außer dem Streptokokkus auch noch das Vorhandensein des gesuchten Erregers vermuteten; hierauf wurde die Kultur im Brutschrank bis zum Untergang des Streptokokkus aufbewahrt (11 Tage ohne Überimpfung), mit der Annahme, daß das gesuchte Virus eine größere Widerstandsfähigkeit besitzen könnte als der Streptokokkus. Nachdem dieser letztere zugrunde gegangen, wurde die Kultur, in der man das Vorhandensein von Streptokokkentoxin und dem unbekannten Erreger vermuten konnte, in einer Quantität von 0,2 ccm 3 Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt.

Da wir eine schnelle Entwicklung und ein rasches Passieren des Virus durch das Blut und sein weiteres Festsetzen in den Organen annahmen,

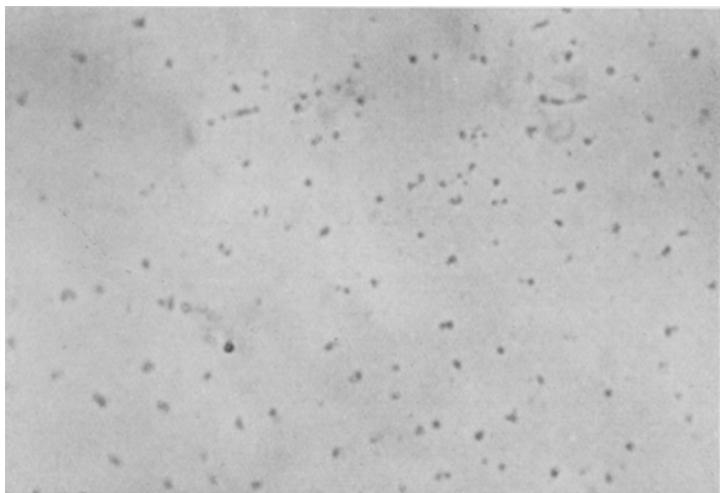


Abb. 1. Ausstrichpräparat einer Gallenkultur. Streptokokkenketten und „Rubinkörperchen“.



Abb. 1a.

wo sein Nachweis viel schwerer sein mußte, so nahmen wir nach 6 Stunden 2—4 ccm Blut aus der linken Herzkammer des einen Kaninchens und züchteten auf Zuckerbouillon; beim 2. Kaninchen wurde dasselbe nach 12 Stunden vorgenommen; das 3. Kaninchen wurde unter Beobachtung gestellt.

Die Blutkultur wurde von uns nach 24 und 48 Stunden auf Bouillon übergeimpft und hierauf 0,3 ccm davon weiteren 3 Kaninchen in die Ohrvene eingeimpft; im gegebenen Falle fehlte das Streptokokkotoxin schon, und es konnte unseren Voraussetzungen nach nur noch

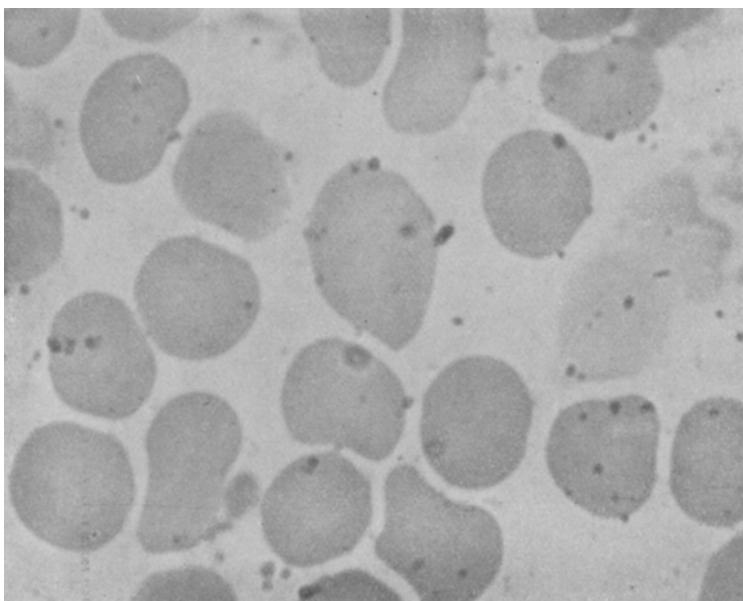


Abb. 2. Kaninchenblut 3 Stunden nach der Injektion. Strukturlose „Rubinkörperchen“ stark lichtbrechend.

der gesuchte Erreger erhalten geblieben sein oder sich vermehrt haben. Weiter wurde der Versuch wie im 1. Falle ausgeführt, d. h. es wurden Blutkulturen aus der linken Herzkammer nach 6 und 12 Stunden angelegt, auch wurden Ausstrichpräparate des Blutes gemacht. Die aus der 2. Passage durch die Kaninchen gewonnenen Kulturen wurden zu je 0,3 ccm 3 Kaninchen eingeführt; das Blut für die Untersuchung wurde alle 2—3 Stunden dem Ohr entnommen. Sowohl in den Kulturen als auch in den Blutaussstrichen wurden eigenartige Körperchen von uns nachgewiesen, deren ganz bestimmte Struktur und ständiges Vorhandensein in allen durchgeführten Versuchen für ihren möglichen Zusammenhang mit der Scharlacherkrankung sprechen.

In den Blutausstrichen des Kaninchens, das 3 Stunden nach der Einspritzung der den vermeintlichen Virus enthaltenden Kultur getötet wurde, zeigte sich eine große Menge stark lichtbrechender, oxyphiler „Rubinkörperchen“; man kann sie auch freiliegend sehen, aber die Mehrzahl davon ist sowohl auf der Oberfläche der Erythrocyten als auch innerhalb der Zellen mit oxyphiler Körnelung gelagert. Diese Körperchen sind von verschiedener Größe: die kleinsten sind kleiner als ein Streptokokkus, andere etwas größer und ihr Bau ist nicht zu

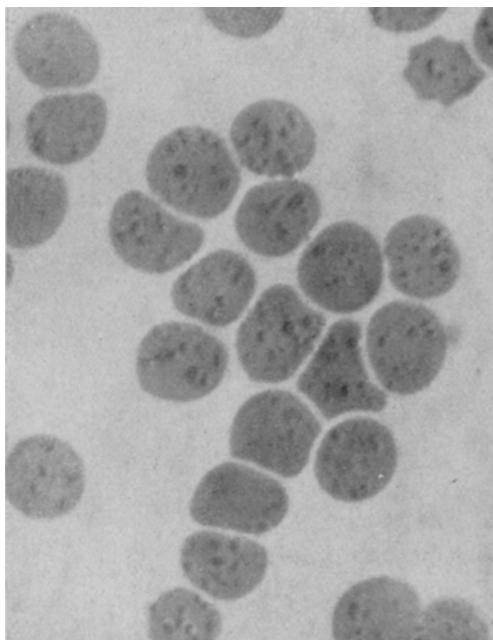


Abb. 3. Kaninchenblut 6 Stunden nach der Injektion. „Rubinkörperchen“ mit angedeuteter undeutlicher Struktur.

unterscheiden (Abb. 2). In den nach 6 Stunden gemachten Ausstrichen des Kaninchenblutes sind eben solche oxyphile Körperchen vorhanden, aber in geringerer Menge, und sie lagern vorwiegend auf den roten Blutkörperchen. Diese Körperchen sind bald von regelmäßig runder Form, bald erscheinen sie mehr länglich, eines ihrer Enden erscheint dünner, gleichsam zugespitzt. Wir geben ein Mikrophotogramm dieser Körperchen auf Abb. 3 und ebenfalls im Dunkelfelde auf Abb. 4. Auf Abb. 4 tritt an vielen Stellen in diesen Körperchen die bipolare Form hervor, andere erscheinen vollkommen rund; genau ebensolche Körperchen beobachteten wir auch in den Ausstrichpräparaten der

Kulturen, und ebenfalls bei der mikroskopischen Untersuchung von Organen Scharlachkranker an nekrotischen Stellen des Gewebes und bei Anhäufung von Streptokokken. In den Blautausstrichen des nach 12 Stunden getöteten Kaninchens bietet sich ein etwas verändertes Bild dar; die Zahl der stark oxyphilen oben beschriebenen Körperchen nimmt bedeutend ab und die Zahl der Zellen mit oxyphiler Körnelung nimmt zu; bei Färbung nach *Leishmann* sind runde Gebilde wahrnehmbar, die sich hellblau färben und deren Größe zwischen der

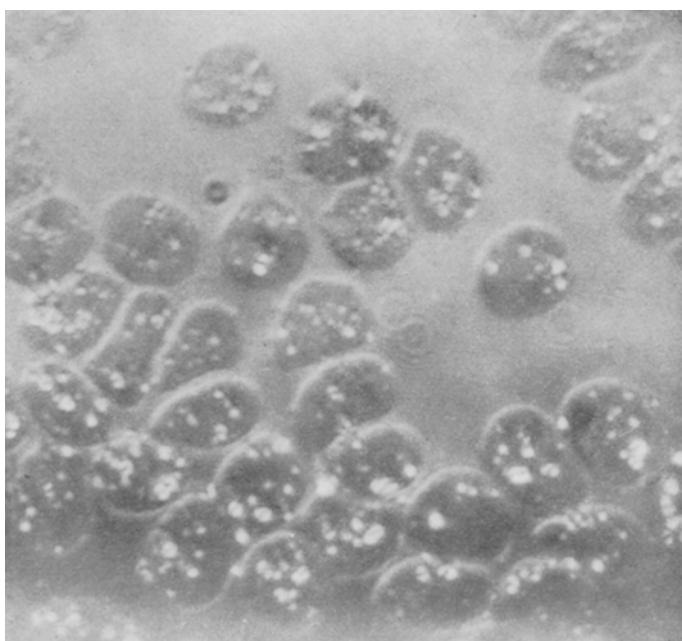


Abb. 4. Kaninchenblut 6 Stunden nach der Injektion; die Aufnahme ist im Dunkelfelde gemacht. Deutliches Hervortreten der bipolaren Form vieler Körperchen.

eines Kokkus und der Größe etwa eines Viertels eines roten Blutkörperchens schwankt. Diese Körperchen sind von einem stark lichtbrechenden schmalen Ring wie von einer Membran umgrenzt. In den kleineren Körperchen ist ein leuchtend roter Punkt wahrnehmbar, der im Zentrum gelegen und von einem zartblauen Ring umgeben ist (Abb. 5). Innerhalb der größeren sieht man zwei oder mehr stark lichtbrechende, runde Körperchen, ähnlich den oben von uns beschriebenen „Rubinkörperchen“ (Abb. 6). Sie liegen an den entgegengesetzten Enden unmittelbar unter der Kapsel. An vielen Stellen erscheinen die Körperchen je zu zwei vereinigt.

Wir haben noch einen Versuch gemacht, Kaninchen mit Kulturen 3. Passage anzustecken, und außer den oben beschriebenen Formen beobachteten wir bei Färbung nach *Leishmann* und ergänzender Färbung nach *Giemsa* stark basophile Körperchen von der Größe ungefähr eines Viertels der Erythrocyten mit angedeuteter Struktur im Zentrum, von einem helleren blauen Saum umgeben. Außerdem sind noch Körperchen von großem Umfang vorhanden, bis zur Größe eines Erythrocyten, die schwach basophil gefärbt sind und keine bestimmte Struktur im Zentrum aufweisen und auch nicht so scharf

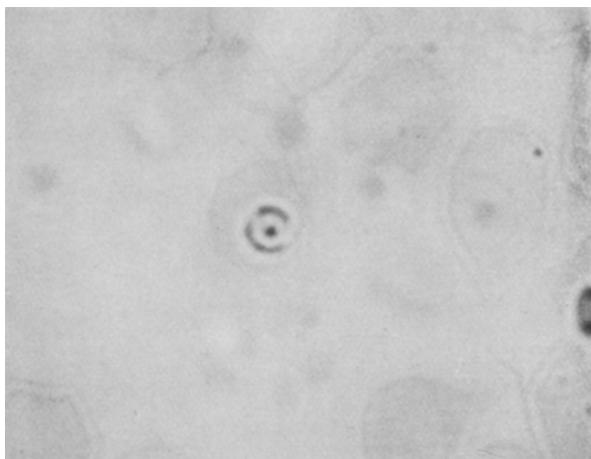


Abb. 5. Kaninchenblut 12 Stunden nach der Injektion. Rundes basophiles Körperchen mit „Rubinkörperchen“ im Zentrum.

umrissen sind wie die oben beschriebenen Formen. An der Peripherie sind im Gesichtsfeld einzelne kleine oxyphile „Rubinkörperchen“ verstreut.

Das zur Beobachtung bestimmte Kaninchen aus der 1. Versuchsreihe wies deutliche Krankheitszeichen auf, besonders schlecht fühlte es sich am 8.—9. Tage nach der Einspritzung. In der 2. Versuchsreihe wurde demselben Kaninchen wieder eine Kultur mit dem vermeintlichen Virus eingimpft und es erkrankte wieder im Laufe der 2—3 ersten Tage.

Ferner wurden Kulturen des vermeintlichen Virus 2. Passage durch Kaninchen auch Meerschweinchen intraperitoneal eingeführt. Allstündliche Blutuntersuchungen zeigten, daß von der 3., bei einigen von der 5. Stunde an im Blute Zellen mit oxyphiler Körnelung aufzutreten beginnen, deren Zahl nach 8 Stunden eine große Höhe erreicht. Es lassen sich ebenfalls „Rubinkörperchen“ beobachten, die außerhalb der roten Blutkörperchen oder auf ihnen liegen, jedoch in bedeutend

geringerer Menge als bei den Kaninchen. Gleichzeitig wurden anderen Meerschweinchen aus der Gallenblase isolierte Reinkulturen des Streptokokus eingimpft, die Untersuchung ergab keinerlei Veränderungen. Das Blut zu den Untersuchungen wurde sowohl dem Ohr als auch den Herzkammern, der rechten und der linken, entnommen. Diese Angaben geben uns die Möglichkeit, das Auftreten von oxyphilen Körnchenzellen als Antwort auf die Einführung eines Virus anzusehen.

Eines der Meerschweinchen, denen der Streptokokus eingespritzt wurde, ging aus zufälligen Gründen 11 Stunden nach der Einspritzung ein. Wir legten Kulturen mit Blut aus dem Herzen und auch mit Galle an. Der Streptokokus ließ sich nur in den Gallenkulturen züchten.

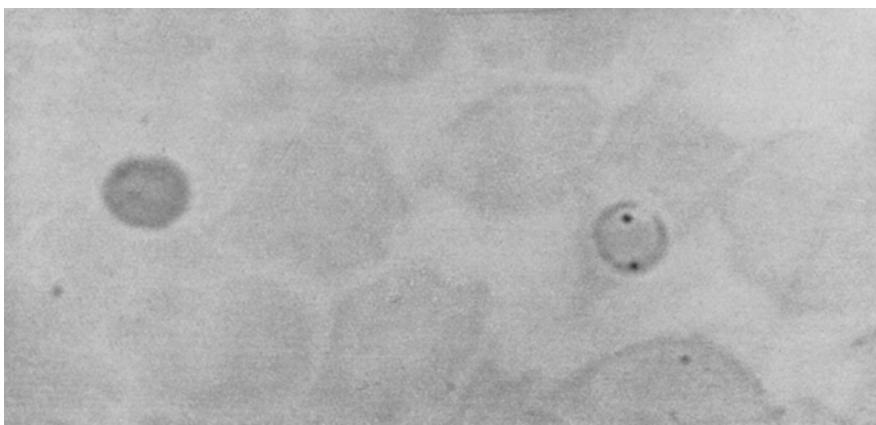


Abb. 6. Kaninchenblut 12 Stunden nach der Einspritzung. Basophiles Körperchen mit deutlichem Ring und zwei „Rubinkörperchen“ an den Polen. Basophiles strukturloses Körperchen. Einzelne „Rubinkörperchen“.

Was die „Eosinophilie“ anbelangt, die bei gutartigem Scharlachverlauf beim Menschen zu beobachten ist, so muß man sie auf Grund von vorhandenen experimentellen Angaben eher als nicht echte Eosinophilie ansehen, sondern als Oxyphilie, vielleicht als Ergebnis der phagozytären Tätigkeit der Zellen.

Da wir den Wunsch hatten, die Ergebnisse unserer Versuche noch einmal zu prüfen, nahmen wir die erste beste von den (Scharlachleichen entnommenen) Gallenkulturen auf Bouillon. Diese Kultur erwies sich als vom Falle 12 unserer Arbeit „Untersuchungen der Gallenblase bei Scharlach“ stammend. Die Kultur war am 2. II. angelegt worden, hatte die ganze Zeit ohne Unterbrechung im Brutschrank gestanden, der Versuch wurde am 4. III. ausgeführt. Wir spritzten einem Kaninchen in die Ohrenvene 0,5 ccm dieser Kultur. Die Blutuntersuchung ergab nach 3 Stunden eine ungewöhnlich große (für Versuche an Kanin-

chen) Menge von Zellen mit oxyphiler Körnelung, hier und da konnten wir die von uns oben beschriebenen blauen Körperchen beobachten, in etwas größerer Menge oxyophile „Rubinkörperchen“, die vorwiegend auf den Erythrocyten lagern. Somit bestätigt dieser Versuch, mit einiger Variation des Resultates — vielleicht der Aufstellung wegen —, vollkommen die Ergebnisse der vorhergehenden Versuche.

Die Bouillon bleibt in den überimpften, aus dem Blute von Kaninchen, ausgeschiedenen Kulturen völlig klar, und nur beim Schütteln erhebt sich vom Boden der Bouillon eine leichte zähe Trübung, bei deren mikroskopischer Untersuchung stark lichtbrechende oxyphile Körperchen von uns nachgewiesen wurden.

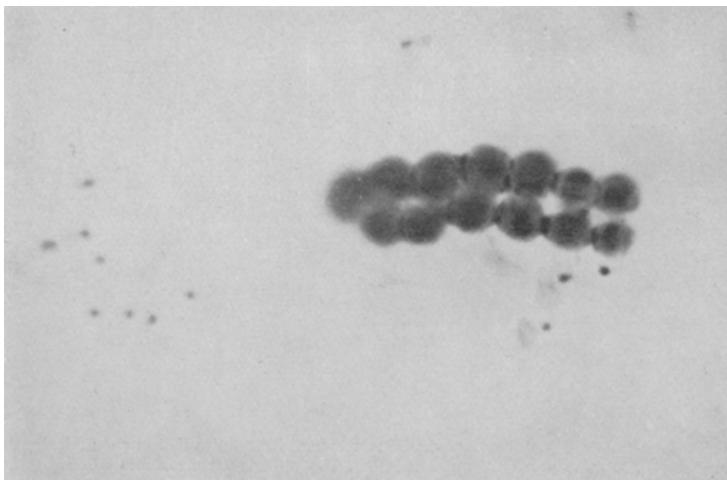


Abb. 7, 8, 9 u. 10. Ausstrichpräparate von Kulturen auf Blutagar. Verstreute „Rubinkörperchen“. Basophile Körperchen — einige von ihnen sehr stark gefärbt, andere zart hellblau. Stellenweise sind sie kettenförmig angeordnet, gewissermaßen mit einer Membran verbunden mit stark verengten Stellen. Zeiss, Oe. 4 com., Obj.  $\frac{1}{12}$  imm.

Die Kulturen behalten, ins Blut von Kaninchen eingeführt, durch Wochen hindurch ihre Vermehrungsfähigkeit. Nach der Passage durch Kaninchen nimmt die Fähigkeit der Kulturen, sich im Blute zu vermehren, erheblich zu.

Ihre Wachstumsfähigkeit auf gewöhnlichen Nährböden behalten die Kulturen durchaus nicht lange. So halten sie in Zuckerbouillon 3, höchstens 4 Überimpfungen aus, in weiteren Überimpfungen aber bleibt die Bouillon vollständig klar. Auf Blutagar erzielt man ebenfalls ein sehr langsames und schwaches Wachstum. In einer der Kulturen jedoch erschien am 5. Tage ihres Aufenthaltes im Brutschrank ein weißlicher Anflug. Bei der mikroskopischen Untersuchung von Ausstrichen

dieser Kultur wurden sämtliche Formen von uns wahrgenommen, die wir sowohl in den verschiedenen Ausstrichen vom Blute der Versuchstiere, in Bouillonkulturen und ebenfalls in pathologisch-histologischen Präparaten von Scharlachleichen gesehen hatten. Die „Rubinkörperchen“ sind von verschiedener Größe, rund und länglich, mit zugespitztem Ende. Die basophilen Körperchen mit in ihnen eingeschlossenen „Rubinkörperchen“ sind oft in Form von Ketten angeordnet. Die Mikrophotogramme dieser Ausstrichpräparate sind auf Abb. 7, (8), (9) u. 10 dargestellt.

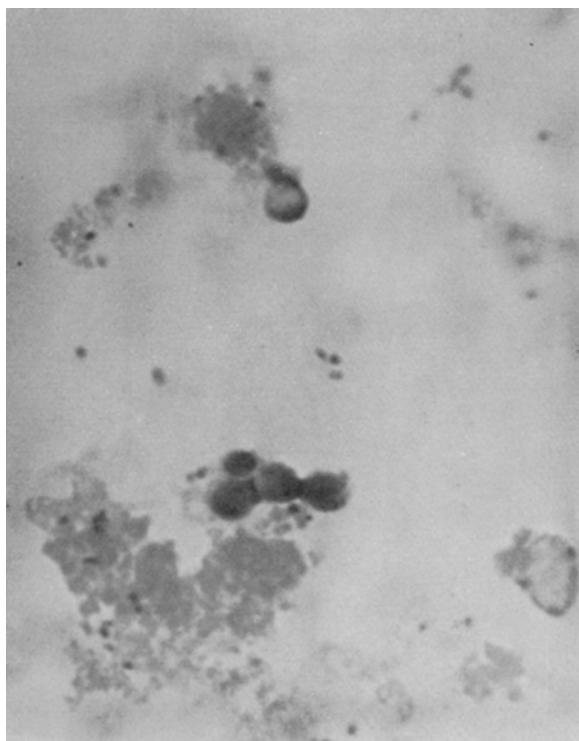


Abb. 8.

Als Färbung der Wahl erscheint folgende:

Gesättigte Eosin-Wasserlösung 5 Minuten, rasche Abspülung mit 60 proz. Alkohol; ergänzende Färbung nach *Giemsa* (2 Tropfen auf 1 ccm Aq. dest.) 5 Min. (die Farbe gewechselt); Abspülung mit Wasser und Einbettung in Balsam. Auf diese Weise färben sich die Körperchen leuchtend rubinrot, Kerne und Streptokokken dunkelblau, Protoplasma und Eiweißteilchen hellrosa.

Die Färbung nach *Leischmann* mit ergänzender Giemsa-Färbung oder auch ohne dieselbe ergibt auch ein demonstratives Präparat, indem sie hauptsächlich die basophilen Körperchen hervortreten lässt.

Auf Grund alles oben Gesagten erlauben wir uns folgende Schlüsse zu ziehen:

1. In dieser Arbeit wird eine besondere Methode zum Studium des Scharlachvirus angewandt, und zwar: Galenkulturen aus Scharlachleichen in Zuckerbouillon, in denen außer Streptokokken das Vorhandensein des gesuchten Virus als möglich vorausgesetzt wird, und die Einimpfung dieser Kulturen den Versuchstieren (Kaninchen und Meerschweinchen) zu einer Zeit, wo der Streptokokus schon zugrunde gegangen ist, das vermeintliche Virus aber seine Lebensfähigkeit noch besitzt. Mittels dieser Methode wäre es

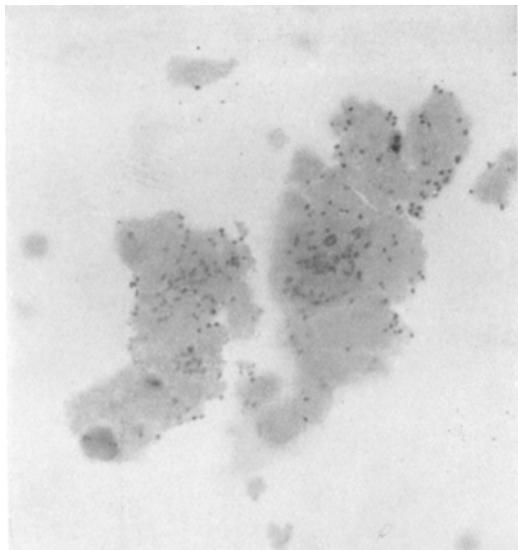


Abb. 9.

vielleicht möglich, das unbekannte Scharlachvirus von dem Streptokokus zu trennen und das erstere einzeln zu studieren durch Gewinnung von Subkulturen und Impfung von Kaninchen und Meerschweinchen.

2. Bei Verimpfung dieser Kulturen aus der Galle von Scharlachleichen auf Kaninchen kann man in dem Blute derselben nach einigen Stunden das Auftreten besonderer oxyphiler Körperchen beobachten, desgleichen auch basophile Formen, deren Einzelheiten und Struktur in Mikrophotogrammen dargestellt sind.

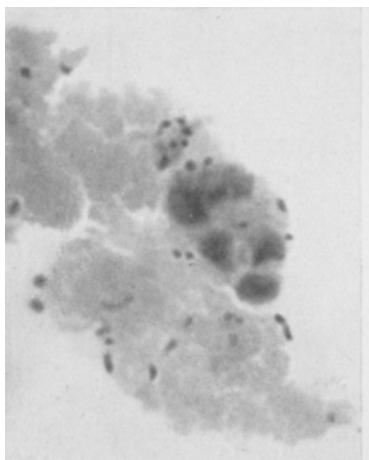


Abb. 10.

3. In allen von uns nachgewiesenen Formen, sowohl oxyphilen „Rubinkörperchen“ (in den Organen am Scharlach Verstorbener, in Ausstrichpräparaten der Galle, in Kulturen und Blut von Versuchstieren) als auch in den runden basophilen Formen kann man einige gemeinsame

körperchen“ (in den Organen am Scharlach Verstorbener, in Ausstrichpräparaten der Galle, in Kulturen und Blut von Versuchstieren) als auch in den runden basophilen Formen kann man einige gemeinsame

Züge feststellen, was uns gestattet, sie in genetischer Hinsicht zu einem Ganzen zu vereinigen.

4. Man kann der Vermutung Raum geben, daß diese Gebilde irgend einen Zusammenhang mit dem Scharlachvirus haben.

5. Die Gewinnung von Reinkulturen (auf Blutagar), in welchen alle von uns früher für sich beobachteten Formen vorhanden sind, berechtigt uns, alle diese Formen als verschiedene Entwicklungsstadien ein und derselben biologischen Einheit anzusehen.

6. Vermittels solcher Kaninchen- und Meerschweinchenimpfungen läßt sich bei ihnen eine Oxyphilie beobachten, ähnlich der, die beim scharlachkranken Menschen beobachtet wird.

7. Auf Grund unserer Untersuchungen ließe sich annehmen, daß der von uns nachgewiesene und beschriebene Mikroorganismus Beziehung zur Scharlacherkrankung hat, doch erfordert die Frage noch weitere experimentelle Untersuchungen.

8. Was die Natur des von uns nachgewiesenen Mikroorganismus anbetrifft, so erfordert diese Frage natürlich noch weitere Untersuchungen. Jedoch das üppige Wachstum des Erregers auf gewöhnlichen Nährböden, sein Nachweis und sogar seine Vermehrung im Blut sprechen gegen seine gemeine Herkunft. Die Mannigfaltigkeit seiner Entwicklungsformen entfernt ihn naturgemäß von den Bakterien im eigentlichen Sinne des Wortes.

Die Mikrophotogramme sind von dem Direktor des Kiewer Instituts für Wissenschaftlich-gerichtliche Expertise, Professor *W. I. Faworsky*, hergestellt worden, wofür ich ihm hiermit meinen aufrichtigsten Dank ausspreche.

---