

Aus der Hautabteilung des Stephanspitals in Budapest (Chefarzt: Prof. Dr. E. Rajka) und aus dem Institut für Produktion und Forschung von Impfstoffen „Human“, Budapest (Direktor: Dr. G. Veres), Ungarn

ÜBER DIE BEHANDLUNG VON KOKKOGENEN EKZEMKRANKEN MITTELS STAPHYLOKOKKUS-ANATOXIN

Von

S. KOROSSY, GY. DOBIÁS, R. BACKHAUSZ & M. GÓZONY

Die heute noch ungeklärte Schlüsselfrage um das kokkogene Ekzem betrifft das Antigen, das für die Entstehung der Sensibilisation verantwortlich ist. Theoretisch kann diese Frage auf mehrfache Weise beantwortet werden (31, 32, 21, 22):

1. *Staphylococcus aureus haemolyticus* (Sta. aur. haem.), der in primären Hautläsionen oft in Reinkultur gegenwärtig ist, enthält mehrere somatische Antigene; auch seine Toxine, Enzyme und manche seiner löslichen Stoffwechselprodukte sind ebenfalls mit Antigencharakter behaftet (3, 26, 39, 43). Demnach kann einer dieser Stoffe das adäquate Antigen des kokkogenen Ekzems sein.
2. Auch kann angenommen werden, dass eine kokkogene Sensibilisation nur dann zustandekommt, wenn eines der Sta. Antigene im Organismus an einen „Schlepper“ haptenartig gebunden, *komplexes Antigen* bildet.
3. Es besteht auch die Möglichkeit, dass durch Einwirkung eines Mikrobenantigens, oder etwa infolge des Zusammenstreffens des Mikrobenantigens und seines homologen Antikörpers, die Struktur der Hautzellen oder des Bindegewebes zu einem „Autoantigen“ wird und somit für das Bestehen des Ekzems und für die häufigen Rezidiven ein Autosensibilisationsmechanismus verantwortlich ist.

Mit Hinsicht auf die Komplizität der zu lösenden Aufgabe stellten wir uns in erster Stufe die Klärung jener Frage zum Ziel, welche Bedeutung in der kokkogenen Sensibilisation dem wichtigsten und am meisten pathogenen Stoffwechselprodukt der Staphylokokken, dem *Alpha-Toxin* – gegen welches das im Organismus gebildete Alpha-Antitoxin eine wichtige Rolle im Auftreten der Staphylokokkus-Immunität spielt – zukomme. Zu diesem Zweck untersuchten wir an mit Staphylokokkus-Anatoxin (SA) behandelten kokkogen Ekzemkranken: 1. welche therapeutischen Wirkungen zu erreichen sind, 2. ob und wie sich die Positivität der intrakutanen Hautproben verändert, 3. wie sich der Spiegel des Staphylokokkus-Alpha-Antitoxins verändert, 4. welche präzipitierenden Antikörper in Seren der Kranken durch Agardiffusionsanalyse nachweisbar sind, und 5. wie lange Sta. aur. haem. aus primären Hautläsionen auszüchtbar ist. Durch Vergleich der Ergebnisse klinischer, immunologischer und bakteriologischer Untersuchungen wünschten wir folgende Fragen zu beantworten: 1. Ist Staphylokokkus-Alpha-Toxin das adäquate Antigen des kokkogenen Ekzems? 2. Welche Zusammenhänge sind feststellbar zwischen dem Ablauf des klinischen Prozesses, den allergischen Progen und den Ergebnissen der immunologischen und bakteriologischen Untersuchungen? 3. Welche Schlüsse können hinsichtlich des gegenseitigen Verhältnisses der mit Immunität und Allergie zusammenhängenden Antigene bei kokkogenem Ekzem gezogen werden?

VERSUCHSMATERIAL UND METHODEN

1. *Anatoxine*. Die Untersuchungen wurden mit zwei SA verschiedener Stärke, mit Produktionsnummer K/3 bzw. K/5, durchgeführt. Zur Produktion des Toxins und für Bereitung des Anatoxins verwendeten wir den allgemein angewendeten Staphylokokkus-Stamm Wood 46, der auf im Institut „Human“ modifiziertem Linggood'schem Nährboden gezüchtet wurde. Diese Linggood-Brühe enthält ausser den ursprünglichen Komponenten 0,3 % Dextrose, 0,4 % Agar und einen auf pH = 7,6 eingestellten Phosphatpuffer. Die eingepfachten Nährböden wurden durch 4–5 Tage bei 37° C gebrütet, sodann zentrifugiert und durch Seitz-Filter gefiltert. Das so gewonnene Toxin wurde durch 4 Wochen bei 37° C in Gegenwart von 0,3 % Formalin detoxifiziert. Zum Entfernen der Phosphate

wurden die Anatoxine durch 24 Stunden gegen eine 0,25 % Karbol und 1:10000 Merthiolat enthaltende phys. Kochsalzlösung dialysiert. Das endgültige pH des SA wurde auf 6,9–7,1 eingestellt, sodann das Anatoxin steril gefiltert und verteilt. Die SA wurden bei Prüfung an Mäusen und Meerschweinchen reaktionslos vertragen und verursachten an der Haut von Kaninchen keine Nekrosen. Die *Wirksamkeit* der SA geben wir teils in Form der minimalen hämolysierenden Dosis (M.H.D.) des zur Produktion verwendeten Toxins, teils auf Grund ihres Vermögens, Standard-Antitoxin zu neutralisieren, in Bindungseinheiten (B.E.) an. Die bei den Untersuchungen angewendeten SA sind durch folgende Angaben gekennzeichnet:

Toxin	K/3	K/5
M.H.D.	0,01 ml	0,0005 ml
Anatoxin	K/3	K/5
B.E.	0,1 B.E./ml	1,0 B.E./ml

Die Anatoxine wurden in ungereinigter, nativer Form angewendet, sie enthielten somit sämtliche gelöste makromolekuläre Produkte des Bakterienstoffwechsels.

2. *Titrierung des Antitoxine.* Der Alpha-Antitoxin-Titer wurde nach den Grundsätzen von *Ipsen* mit der Modifikation von *Szathmáry* (40 a) bestimmt, mittels standardisiertem Alpha-Toxin, auf dem Niveau Limes haemolysans 1/100 IE. Zu abnehmenden Mengen des zu prüfenden Serums wurden gleiche Toxindosen versetzt, sodann den Gemischen eine Suspension von gewaschenen Kaninchen-Erythrozyten zugemessen. Nach Inkubation bei 37° C durch 1 Stunde ist die minimale hämolysenhemmende Serumdosis feststellbar, die mit dem Antitoxingehalt des Serums je ml in geradem Verhältnis steht. Der Antitoxintiter der Krankenserum wurde vor der Behandlung, 7–10 Tage nach der letzten Impfung und bei der Kontrolluntersuchung bestimmt.

3. *Agardiffusions-Analyse.* Das Antiserum wird nach dem Verfahren von *Oudin* (27) auf 50° C erwärmt und mit der gleichen Menge 0,6 %-iger Agarlösung gleicher Temperatur vermischt. Die Gemische werden mit Kapillarpipette in vorher mit Agar ausgekleideten Glasröhrchen von etwa 3 mm Durchmesser gefüllt, sodann nach Erstarrung des Agars mit Anatoxinlösung überschichtet. Die Entfernung der Präzipitationsbündel von der Berührungsfläche wird durch 8–12 Tage täglich, später zweitäglich bestimmt. Diese Entfernung, x , steht in geradem Verhältnis zur Quadratwurzel der Zeit T . Die Wanderungsgeschwindigkeit beträgt somit $k = x/\sqrt{T}$.

Zum Studium des Reaktionsmechanismus, bzw. zwecks Konstruktion der zur Berechnung des Staphylokokkus-Alpha-Antitoxintiters geeigneten Kalibrationsgeraden brachten wir das bei den Versuchen angewendete SA K/3 auch mit Verdünnungen 1:2, 1:4, 1:8 einer 10 %-igen Human Gammaglobulin-Lösung zusammen.

Wir führten die Versuche mit 6, durch verschiedene Produktionsnummern gekennzeichneten Gammaglobulin-Proben durch; der Staphylokokkus-Alpha-Antitoxintiter der Gammaglobuline ergab sich, mit der Hämolysehemmungsprobe bestimmt, zu 5 A.E./ml. Zur Geldiffusionsanalyse wurden die Blutproben den Kranken vor, während und nach der Behandlung entnommen.

4. *Hautreaktionen.* An sämtlichen Kranken wurde vor und nach der Inbehandlungsnahme mit dem SA die intrakutane Hautprobe durchgeführt, um uns über die Reaktivität der Haut zu informieren. Es wurden Dosen von je 0,1 ml der Verdünnungen 1:10 und 1:100 des schwächeren SA K/3, bzw. 1:100 und 1:1000 des zehnmal stärkeren SA K/5 intrakutan eingegeben und die Ergebnisse der Früh- und sodann der Späthautreaktionen aufgezeichnet. Die Probe wurde als *früh* positiv bewertet, wenn 20 Minuten nach der Injektion in zwei Kreuzdurchmessern eine, gegen die Kontrolle mit phys. Kochsalzlösung um mindestens 3×3 mm grössere Quaddel gemessen wurde und der Reflexhof breiter war, bzw. als *spät* positiv, wenn nach 24–48 Stunden eine hyperämisch-ödematöse Entzündung von mindestens 8×8 mm aufgetreten war. Zur Kontrolle wurden ähnliche Hautproben an 26 Hautkranken nicht kockogenen Ursprungs durchgeführt.

5. *Züchtung.* Von jedem Kranken wurden vor und während der Behandlung bzw. während der Kontrollprüfungen Züchtungen aus den primären Läsionen vorgenommen. Die Diagnose des Staphylococcus aur. haem. wurde auf Grund von Alpha-Hämolyse, Koagulasenprobe, Morphologie und Pigmentbildung der Kolonien, sowie mikroskopischem Bild ausgesagt.

6. *Thrombozytopenie-Test* (19). Dem zu prüfenden, nüchternen Kranken wurden am Morgen 0,5 ml des SA K/5 subkutan verabreicht. Eine Stunde vor und nach der Injektion wurde nach der Methode von Hegedüs (17) die Thrombozytenzählung durchgeführt. Wenn die Verminderung der Thrombozytenzahl höher als 20 % war, wurde die Probe als positiv gewertet (22).

7. *Krankenmaterial.* Insgesamt wurden 23 kockogenen Ekzematiker mit SA behandelt, bzw. in den Monaten September und Oktober 1955 mit SA K/3 12 Kranke, in April und Mai 1956 mit SA K/5 11 Kranke. Bei diesen Kranken beantwortete der seit mehreren Wochen oder Monaten bestehende Prozess die übliche gezielte Behandlung mittels Antibiotika und lokaler Antimikrobenmittel nur mit vorübergehender Besserung. In 4 Fällen blieb der Vorgang auf die untere bzw. obere Extremität lokalisiert, während in 19 Fällen neben dem primären Herd auf der Extremität auch entfernte, lokalisierte oder generalisierte Kokzide bestanden.

8. *Immunisierung.* Mit SA K/3 wurden in Zwischenräumen von 3–4 Tagen, in steigenden Dosen insgesamt 5 Injektionen gegeben (0,1 und 0,2 ml i.c., 0,5, 0,75 und 1,0 ml s.c.). Die 6. Injektion wurde nach zwei Wochen, und wenn es nötig schien, die 7. Injektion nach einem Monat gegeben (bei 8 Kranken). Bei der Behandlung mit K/5 wichen wir von dieser Dosierung nur insofern ab, dass die Zahl der Injektionen auf 10 und die Dosis der beiden letzteren Injektionen auf 2,0 ml gesteigert wurde. Der Verlauf des klinischen Bildes wurde täglich

registriert, wobei besonders die durch die Injektionen verursachten Lokal, Herd- und Allgemeinreaktionen, sowie von Injektionen unabhängige Aufflammungen des Grundvorgangs in Betracht gezogen wurden.

9. *Die Bewertung der Behandlung* erfolgte in zwei Abschnitten. Die *erste* Bewertung erfolgte nach Beendigung der Behandlung, in der Gruppe der mit SA K/3 Behandelten binnen 39–127 Tagen, bei den mit SA K/5 Behandelten binnen 33–280 Tagen. Obzwar im Schrifttum in der Regel eine Beobachtungsdauer von einem halben bis einem Jahr für die Aussage der endgültigen Heilung als genügend betrachtet wird, führten wir eine *zweite* Bewertung, usw. in der ersten Gruppe nach 744–947 Tagen, in der zweiten nach 566–819 Tagen durch.

Hiedurch trachteten wir zu sichern, dass die Aufzeichnungen nicht nur vorübergehende Symptommfreiheit, sondern den endgültigen Wert der Behandlung wiedergeben. Die Kranken gelangten nämlich nach Symptommfreiheit wieder in ihre frühere Umgebung zurück, so an die Arbeitsplätze, wo sie Mikrotraumen, Infektionen wieder ausgesetzt waren.

ERGEBNISSE

1. *Klinische Wirksamkeit* der SA-Behandlung: hierüber gibt Tafel I Aufschluss.

TAFEL I
Klinische Wirksamkeit der SA-Behandlung.

SA	Anzahl der Kranken	Erste Auswertung			Anzahl der Kranken	Zweite Auswertung		
		Heilg.	Besserg.	Refr.		Heilg.	Besserg.	Refr.
K/3	12	5	7	—	10	6	1	3
K/5	11	4	7	—	8	5	1	2
	23	9	14	—	18	11	2	5

Die zweite, endgültige Auswertung vermochten wir bei 18 von 23 ekzematischen Kranken durchzuführen. Von ihnen waren 7 schon bei der Entlassung symptomfrei und dieser Zustand blieb anhaltend. Weiters heilten 4 Kranke bald nach der Entlassung und blieben rezidivfrei. Vollständige Heilung trat demnach bei 11 Kranken ein. Obzwar 2 Kranke geheilt entlassen und auch bei der zweiten Auswertung symptomfrei befunden wurden, traten inzwischen Rezidiven ein, sodass die

Wirksamkeit der Behandlung als zweifelhaft bewertet wurde. Hier soll erwähnt werden, dass bei 3 von den 12, mit SA K/3 behandelten, und bei 6 von den 11, mit SA K/5 behandelten Ekzematikern, mit der Injektion zusammenhängende Herdreaktionen beobachtet wurden. In Betracht gezogen, dass unsere wenigen Kranken ausser SA auch antimikrobielle und antiphlogistische Behandlung erhielten, dürfen wir uns über die Wirksamkeit der SA-Behandlung nur sehr vorsichtig äussern. Rasche Resultate erreichten wir in mehr als 1/3, anhaltende Ergebnisse etwa in der Hälfte der Fälle. Unsere Erfahrungen an in gleicher Weise – mit SA jedoch nicht behandelten – Kranken mit den oben berichteten vergleichend, fanden wir, dass durch SA-Behandlung vor allem eine Verminderung der Rezidivenzahl zu erreichen ist, die Pflegezeit jedoch nicht verkürzt wird. Aus der Tafel geht weiter hervor, dass die Ergebnisse in den, mit dem schwächeren SA K/3 bzw. mit dem zehnmal stärkeren SA K/5 behandelten Gruppen ähnlich sind, d. h. die Steigerung der Anzahl der Injektionen und der Dosis des Alpha-Anatoxins die Heilwirkung nicht erhöht hat.

2. *Verhalten der Hautproben.*

Die mit SA erhaltenen positiven Hautreaktionen sprechen für allergische Genese (44). Für die Frühreaktionen wird die Polysaccharidenkomponente der Staphylokokken verantwortlich gemacht, während das typenspezifische Protein nur Spätreaktionen liefert (40, 20). Über das Verhalten der Hautreaktionen in der Kontroll- bzw. der Ekzem-Gruppe gibt Tafel II Aufschluss.

Die Befunde zeigen, dass bei den Ekzemkranken wie auch bei den Kontrollindividuen die Verdünnungen 1:10 von SA K/3 bzw. 1:100 SA K/5 im Grossteil der Fälle frühe positive Frühreaktionen ergaben (urtikariogene Wirkung), während unter den Spätreaktionen die Anzahl der positiven Antworten geringer ist. Mit den Verdünnungen 1:100 von K/3 und 1:1000 von K/5 sind die Früh- wie auch die Spätreaktionen meist negativ. Als spezifisch darf somit bei SA K/3 die Reak-

tion auf Verdünnung 1 : 100, bei SA K/5 jene auf Verdünnung 1 : 1000 betrachtet werden. Das Verhalten der Hautreaktionen der behandelten Ekzemkranken zeigt im Vergleich zu jenen in der Kontrollgruppe keinen bezeichnenden deutlichen Unterschied. Es fällt auf, dass bei Ekzemkranken nach der Behandlung die Anzahl der spätpositiven Hautreaktionen im Verhältnis zum Ausgangswert – sowohl in der klinisch geheilten, als in der gebesserten Gruppe – angestiegen ist.

TAFEL II
Verhalten intrakutaner SA-Hautproben an Kontrollindividuen
und Ekzemkranken.

SA	26 Kontrollen				23 Ekzemkranke																			
	früh				spät				vor Behandlung						nach Behandlung									
									früh				spät				14 Gebesserte				9 Geheilte			
																	früh		spät		früh		spät	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-						
K/3 1:10 und K/5 1:100	19	7	11	15	20	3	7	16	13	1	9	5	5	4	7	2								
K/3 1:100 und K/5 1:1000	4	22	3	23	7	16	2	21	4	10	5	9	5	4	4	5								

Bei der zweiten Prüfung verwendeten wir zu den intrakutanen Hautproben die Verdünnung 1 : 500 und 1 : 750 von SA K/5, da bei inzwischen angestellten anderwärtigen Untersuchungen diese Dosis zur Prüfung der Hautreaktivität als besser entsprechend befunden wurde. Hier konnten wir die bei der ersten Prüfung festgestellte, häufigere Spätpositivität nicht mehr beobachten, jedoch müssen wir auf die häufige Frühpositivität der geheilten Fälle hinweisen, die bei den zweifelhaften und refraktären Fällen fehlt. Dieses Verhalten der Hautreaktionen – wenn auch die geringe Anzahl der Fälle nur eine annähernde Auswertung gestattet – stimmt mit dem Ablauf der künstlichen Sensibilisierung ungefähr überein: erst

tritt die späte und nur nachher die frühpositive Reaktion ein. Das Verhalten der Hautproben bei der zweiten Prüfung veranschaulicht Tafel III.

TAFEL III
Ergebnisse intrakutaner SA-Hautproben bei zweiter Auswertung.

SA	11 Geheilte				2 Zweifelhafte				5 Refraktäre			
	früh		spät		früh		spät		früh		spät	
	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+	—
K/5 1:500	11	—	2	9	1	1	1	1	2	3	1	4
K/5 1:750	6	5	—	11	1	1	—	2	1	4	—	5

3. Verlauf des Alpha-Antitoxintiters.

Die Antitoxintitrierung führten wir vor und nach der Behandlung bzw. während der Nachprüfung bei 21 Ekzemkranken durch. Der Verlauf des Antitoxintiters (ATT) unter dem Einfluss der Behandlung ist in Tafel IV dargestellt.

Wenn auch alle mit dem stärkeren SA K/5 geimpften Kranken nach Beendigung der Behandlung hohe ATT erreichten, waren die klinischen Ergebnisse dennoch nicht besser, als bei den mit dem schwächeren SA K/3 behandelten Kranken. Somit kann festgestellt werden, dass zwischen ATT und der Heilung keine Parallelität besteht. Bei der zweiten Auswertung war der ATT wesentlich geringer und zeigte auch diesmal keinen Zusammenhang mit der Besserung bzw. Heilung. Bei der Untersuchung des gegenseitigen Verhältnisses von ATT und intrakutanen SA-Hautproben fanden wir keinen engeren Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der beiden Prüfungsmethoden. Ein erhöhter ATT mässigte die Hautreaktionen nicht. Die Verhältnisse sind in Tafel V dargestellt.

4. Geldiffusionsanalyse.

Fürs erste veranschaulichen wir die mit verschiedenen Verdünnungen einer γ -Globulinlösung erhaltenen Ergebnisse (Bild 1). Hier beobachteten wir nur einen Präzipitationsbündel bei

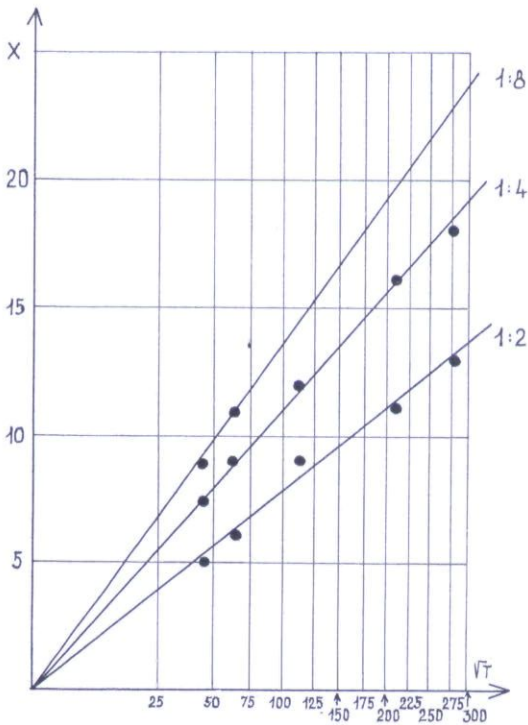


Abb. 1.

den einzelnen Verdünnungen, das aller Wahrscheinlichkeit nach dem Alpha-Antitoxin als einem der stärksten Antigene entspricht. Die Untersuchung von weiteren 5 γ -Globulin-Proben ergab ähnliche Resultate. Die in Bild 1 verzeichneten Befunde veranschaulichen gut, dass zwischen der Quadratwurzel der Zeit und dem Abstand x von der Berührungsfläche des Antigens und Antikörpers ein linearer Zusammenhang besteht.

Auch ist feststellbar, dass die Wanderungsgeschwindigkeit des Bündels bei steigender Verdünnung des Antitoxins ansteigt. Durch Berechnung der für die einzelnen Verdünnungen erhaltenen Werte k und ihrer Gegenüberstellung mit den Antitoxinmengen wird eine Gerade erhalten (Bild 2), die sich auch zur Bestimmung des Antikörpergehaltes eines Serums mit unbekanntem Antitoxingehalt eignet.

TAFEL IV
Veränderung des ATT infolge Behandlung mit SA.

SA	ATT in I.E.	Vor Be- hand- lung	Bei erster Auswertung			Bei zweiter Auswertung			
			ge- samt	ge- heilt	gebessert	ge- samt	ge- heilt	zweifel- haft	refrak- tär
K/3	Niedrig								
	0-0,8	2	1	1	—	1	1	—	—
	Mittelmässig								
	1-2,5	10	4	1	3	4	2	—	2
	Hoch								
K/5	3-40	1	6	2	4	4	2	1	1
	Niedrig								
	0-0,8	1	—	—	—	5	3	1	1
	Mittelmässig								
	1-2,5	4	—	—	—	—	—	—	—
	Hoch								
	3-40	3	8	3	5	—	—	—	—
		21	19	7	12	14	8	2	4

Aus Bild 2 geht weiters hervor, dass bei konstanter Antigenkonzentration der Wert k dem Logarithmus der Antikörperkonzentration umgekehrt proportional ist. Die obere Grenze der Positivität der Reaktion ist gekennzeichnet durch jene Antikörperkonzentration (AK_0), bei welcher im Antikörper-Agar-Medium keine Bündel mehr gebildet werden. Die Bestimmung dieses Wertes durch Extrapolation ergibt etwa 35 I.E./ml. Für die andere Grenze der Reaktionsempfindlichkeit bestimmend ist die Regel, dass im Falle einfacher Geldiffusion die Opaleszenz der Präzipitationsbündel allein vom Antikörpergehalt des Antiserums abhängt. Die Antikörperkonzentration beeinflusst nämlich nur die Wanderungsgeschwindigkeit des Bündels, seine Opaleszenz hingegen nicht. Staphylokokkus-Antitoxin in humanem Serum kann mit der Geldiffusionsmethode etwa bis zur unteren Grenze von etwa 1 I.E./ml. nachgewiesen werden. Die Empfindlichkeit der Verfahrens kann durch Wahl grösserer Röhrchendurchmesser einigermassen

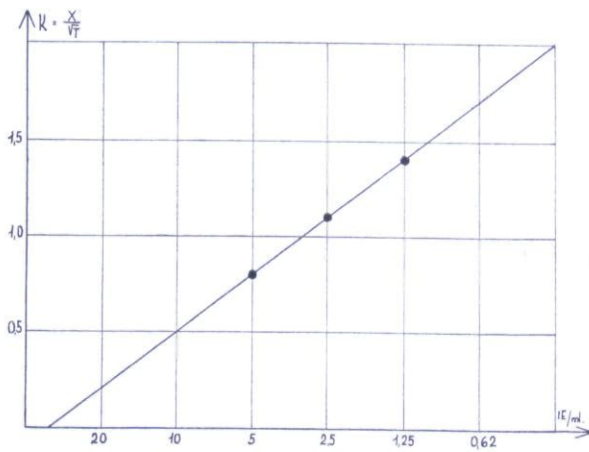


Abb. 2.

gesteigert werden. Auf der Platte, nach dem Verfahren von Ouchterlony (28) untersucht, führten die γ -Globulin-Präparate mit den Anatoxinen K/3 und K/5 ebenfalls zur Bildung nur je eines Bündels.

TAFEL V
Zusammenhang von SA-Hautreaktionen und ATT.

	ATT in I. E.	Gesamt	K/3 1:100 und K/5 1:1000			
			früh		spät	
			+	-	+	-
Vor der Behandlung	Niedrig					
	0-0,8	3	-	3	1	2
	Mittelmässig					
	1-2,5	14	7	7	1	13
Nach der Behandlung	Hoch					
	3-40	4	-	4	-	4
	Niedrig					
	0-0,8	1	-	1	-	1
	Mittelmässig					
	1-2,5	4	2	2	-	4
	Hoch					
	3-40	14	3	11	4	10

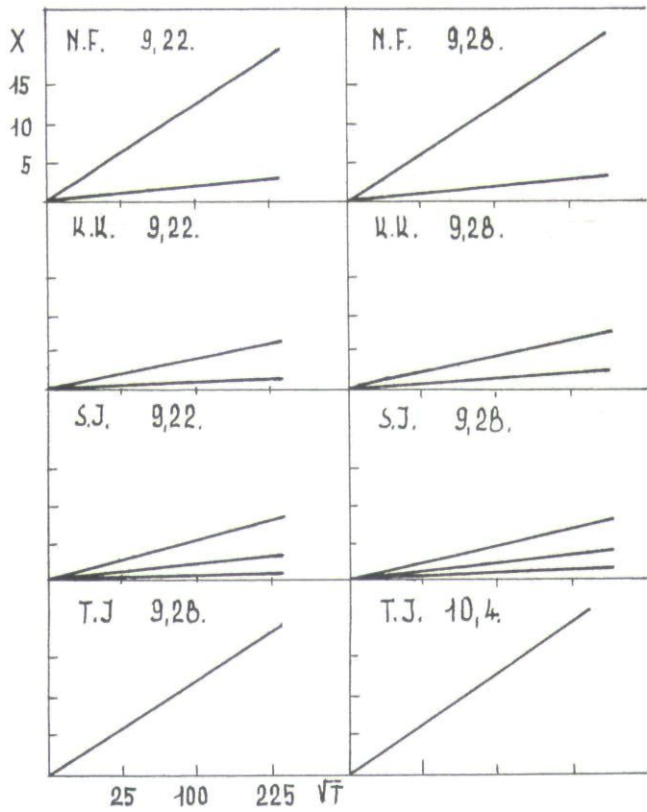


Abb. 3.

Geldiffusionsanalysen stellten wir bei 14 von 21 kockogenen Ekzemkranken mit 56, in verschiedenen Zeitpunkten abgenommenen Serenproben an. Im Gegensatz zu γ -Globulinlösungen, konnten in den Krankenserum vor der Behandlung 4 Bündel in einem Fall, 3 in 5, 2 in einem, und 1 Bündel in 2 Fällen nachgewiesen werden, während in 5 Fällen keine Bündel beobachtet wurden. Nach SA-Behandlung steigerte sich die Bündelzahl mit 1 in 5 Fällen, u.zw. bei 2 Kranken, in deren Serum ursprünglich 1 Bündel, und bei 3 Kranken, in deren Serum kein Bündel nachzuweisen war. Die Präzipitationsbündel waren für die einzelnen Kranken charakteristisch, und mit in anderen

Zeitpunkten abgenommenen Seren wurden die gleichem Ergebnisse erhalten (Bild 3).

Mit Hilfe der auf Grund der Untersuchung von γ -Globulinen festgestellten Kalibrationsgeraden konnte in vielen Fällen das mit dem Antitoxin in Zusammenhang zu bringende Bündel identifiziert werden.

Die Wanderungsgeschwindigkeit der verschiedenen Präzipitationsbündel nimmt auf Einwirkung der Immunisierung meist kontinuierlich ab; dies wird dadurch bewirkt, dass durch Immunisierung der Antikörpergehalt des Krankenserums ansteigt, und bei höherer Antikörperkonzentration die Wanderungsgeschwindigkeit kleiner ist (siehe das über γ -Globulin Gesagte). In Bild 4 sind die Angaben zweier Kranken als Beispiele angeführt.

TAFEL VI

Zusammenhang von Bündelzahl, ATT, Hautproben und klinischem Verlauf nach der Behandlung.

Bündel- zahl	ATT			Hautprobe				Kranke	
	niedrig	mittel- mässig	hoch	früh		spät		geheilt	ge- bessert
				+	-	+	-		
1	1	2	—	1	2	—	3	1	2
2	—	—	3	1	2	—	3	2	2
3	—	2	3	4	1	2	3	5	—
4	—	—	1	—	1	1	—	1	—

Der Zusammenhang zwischen Bündelzahl, Heilung, ATT-Spiegel, bzw. Verhalten der Hautproben ist in Tafel VI veranschaulicht.

Trotz der geringen Zahl unserer Fälle dürfen wir zweifellos soviel feststellen, dass die Geldiffusionsanalyse zur Untersuchung der auf Staphylokokkus-Antigene gebildeten Antikörper menschlicher Seren geeignet erscheint.

5. Züchtung.

Mit Hinsicht darauf, dass in der Diagnose und dem klinischen Ablauf des kokkogen Ekzems die massenhafte, mit an-

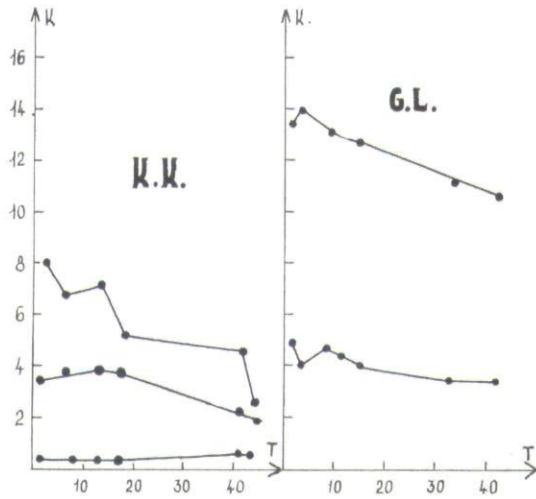


Abb. 4.

deren Bakterien nicht oder kaum vermischte Gegenwart von Sta. aur. haem. entscheidend ist, wurde bei jedem Kranken auch Züchtung vorgenommen. Zu Beginn der Behandlung konnte bei jedem Kranken Sta. aur. haem. aus der primären Läsion gezüchtet werden. Im weiteren Verlauf waren die Züchtungsbefunde den klinischen Prozessen parallel. In den meisten Fällen fiel das Verschwinden der Symptome und der Krankheitserreger zeitlich zusammen. Bei Rezidiven war Sta. aur. haem. wieder auszüchtbar und in Fällen, die nur eine gewisse Besserung zeigten, während der ganzen Zeit auszüchtbar oder nur übergangsweise verschwunden. Anlässlich der zweiten Nachprüfung konnte Sta. aur. haem. von der Stelle der primären Läsion nur bei 3 von den 11 geheilten Ekzematikern, indessen bei allen der 5 nichtgeheilten Kranken ausgezüchtet werden. Ein unmittelbarer Zusammenhang mit dem ATT konnte nicht festgestellt werden, da der Krankheitserreger bei niedrigem und hohem Titer gleicherweise auszüchtbar war; immerhin, wenn der hohe Titer mit der Heilung zusammentraf, so war auch das Züchtungsergebnis negativ.

6. Untersuchungen mit der thrombopenischen Testmethode.

Unsere früheren Untersuchungen (22) haben erwiesen, dass bei Verwendung von SA als Antigen, der Thrombozytopenie-Test zum Nachweis der kokkogen Sensibilisierung geeignet ist. Bei 32 kokkogen Ekzemkranken wurde zwischen ATT-Spiegel und Verminderung der Thrombozytenzahl nach Injizierung von SA kein klarer Zusammenhang gefunden. So wurden z.B. bei einem ATT-Spiegel von 10 I.E./ml. im Thrombozytopenie-Test Veränderungen von + 1,1 bis — 50,8 %, bei 2,5 I.E./ml. solche von — 5,3 bis 44,1 % beobachtet.

BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

I. Unsere Untersuchungen zeigen, dass *nicht das Staphylokokkus-Alpha-Toxin das adäquate Antigen der kokkogen ekzematösen Sensibilisierung ist*: 1. Das Heilungsverhältnis war bei Anwendung des SA-Präparates K/5 nicht besser, als bei jener von SA K/3, dessen Alpha-Anatoxingehalt etwa 10mal geringer war. Diese Beobachtung stimmt mit der Mitteilung von Storck (38) überein, nach welcher die Heilwirkung von Serobacterin (bakteriale Vakzine + Immunserum) unabhängig von der Anzahl der Injektionen sei. Bei auf nicht allergischer Basis entstandenen Staphylodermien (Pyodermien, Furunkulosen usw.) ist zwischen Wirksamkeit der Behandlung und Alpha-Anatoxingehalt des SA-Präparates Parallelität festzustellen. 2. Nach Injektion von SA K/5 war zwar der durchschnittliche ATT der Behandelten wesentlich höher als jener der mit SA K/3 behandelten Individuen, doch war kein Zusammenhang zwischen ATT des Serums und klinischer Heilung vorhanden. Der Anstieg des homologen ATT nach der Injektion von SA K/5 stimmte mit den Angaben des Schrifttums überein (8, 9, 10, 24, 33). 3. Zwischen dem Thrombozytopenie-Test, durch welchen die kokkogene Sensibilisierung in etwa 80 % der Fälle spezifisch nachweisbar ist, und dem ATT war kein Zusammenhang festzustellen. Dies weist darauf hin, dass SA, obwohl kein adäquates komplettes Antigen, als haptentartiger Antigenfaktor im Grossteil der

Fälle, bei Anwendung eines entsprechenden Verfahrens, spezifische Reaktionen auszulösen vermag.

II. Unsere Untersuchungen machen auch darauf aufmerksam, dass bei kokkogenen Sensibilisierungen oft mehrere Antigen-Antikörper-Systeme nachweisbar sind:

1. Mit Geldiffusionsanalyse wiesen wir in Seren mancher Kranken die Gegenwart 4 verschiedener Präzipitine nach. Dieses Ergebnis stimmt mit früheren eigenen Erfahrungen (1) und Schrifttumsangaben überein; es haben nämlich in koagulase-positiven Sta.-Stämmen, unter Benützung entsprechender Seren, mit Geldiffusionsverfahren *Surgalla* und Mitarbeiter (39) die Anwesenheit von 7-9, *Beiser* und Mitarbeiter (3) von 2-8 verschiedenen Antigenen nachgewiesen. Obwohl die Zahl unserer untersuchten Fälle gering ist, scheint es, dass zwischen der Anzahl der Bündel und dem Ergebnis der Hautproben kein Zusammenhang besteht, hingegen in Krankenserum mit hohem ATT meist mehrere Arten von Antikörpern als in solchen mit geringem ATT feststellbar sind. Wir erklären diesen Zusammenhang damit, dass sowohl der höhere Antitoxintiter wie auch die grössere Zahl der Antikörperarten einer gemeinsamen Ursache, u.zw. der grösseren Häufigkeit der Antigenstimuli oder der besseren Fähigkeit der Organismus zur Antikörperproduktion zuzuschreiben sei. Letzterer Faktor kann auch die Erklärung des Zusammenhanges zwischen Heilungsbereitschaft und Bündelzahl darstellen. Falls als Antiserum 6 verschiedene einheimische γ -Globulin-Lösungen, als Antigen das SA K/3 angewendet und die Untersuchungen nach der Methode von *Oudin* durchgeführt werden, so beobachteten wir die Bildung nur eines Präzipitationsbündels. Unter Anwendung von verschiedenen amerikanischen γ -Globulinen als Antikörper und des Filtrates des Stammes Wood 46 als Antigen, haben *Beiser* und Mitarbeiter (3) beim *Ouchterlony*-Verfahren die Entstehung von 5 Bündeln beobachtet. Die Abweichungen lassen sich wahrscheinlich durch verschiedene Beschaffenheit der Reagentien erklären. Die zitierten Verfasser berichten auch über Untersuchung eines

γ -Globulin-Präparates, bei welchem weniger Bündel nachweisbar waren.

2. Die Positivität der Früh- und Späthautreaktionen von kokkogenen Ekzemkranken zeigte keine Parallelität zum ATT. Nach Schrifttumsangaben ist für Frühpositivität die Polysaccharidfraktion, für Spätpositivität die Proteinfraction verantwortlich (40, 20) und diese hängen nicht vom Antitoxingehalt des Serums oder der Schwere der Erkrankung ab (14). Aus all diesem kann man schliessen, dass das für die kokkogene Sensibilisierung verantwortliche Antigen weder mit dem Alpha-Toxin, noch mit den im SA enthaltenen hautsensibilisierenden Antigenen identisch ist.

3. Die mit SA auslösbare spezifische thrombopenische Reaktion der kokkogenen Ekzemkranken, weiters der Umstand, dass ihr Grossteil durch SA-Behandlung geheilt worden ist, lässt darauf schliessen, dass die SA, neben Alpha-Anatoxin und den für die Positivität der Hautproben verantwortlichen Antigenen, meist auch für die kokkogene Sensibilisierung verantwortliches Antigen oder Hapten enthalten. Da jedoch bei etwa 20 % der kokkogenen Ekzemkranken der Thrombopenie-Test negativ verläuft und bei etwa $1/3$ die SA-Behandlung erfolglos bleibt, dürfen wir auch annehmen, dass für das Zustandekommen der Sensibilisierung nicht immer das gleiche Antigen oder Hapten verantwortlich sei. Diese unsere Auffassung wird auch durch die nachgewiesenen Abweichungen in der Antigenität der Sta.-Stämme unterstützt. Möglicherweise können mit einem SA, das unter Verwendung mehrerer Stämme von verschiedener Antigenität zubereitet ist, bessere Behandlungsergebnisse erreicht werden. Versuche zur Darstellung der für kokkogene Sensibilisierung und Hautreaktionen verantwortlichen Antigene in höherem Reinheitsgrad bzw. isoliertem Zustand haben wir in der Hoffnung begonnen, dass Untersuchungen mit isolierten Antigenen auch zur Klärung der allergischen und immunologischen Probleme der Staphylokokkus-Infektionen beitragen dürfen.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Verfasser haben 23 kokkogene Ekzemkranke mit 2 Staphylokokkus-Anatoxinen verschiedener Stärke behandelt und 18 von ihnen durch 2–3 Jahre beobachtet. In 11 Fällen trat völlige, in 2 zweifelhafte Heilung ein, 5 Fälle waren refraktär. Die Bedeutung der Anatoxinbehandlung erblicken sie in der Möglichkeit, die Zahl der Rezidiven in gut reagierenden Fällen herabzusetzen.

2. Der Alpha-Antitoxintiter der Seren wurde durch die Anatoxine, ihrem Antigengehalt entsprechend, in Übereinstimmung mit den Angaben des Schrittmums, erhöht. Der Antitoxin-Spiegel war weder der Wirksamkeit der Behandlung, noch den Ergebnissen der mit Anatoxin angestellten Hautproben oder des Thrombozytopenie-Test parallel. Aus all diesem schliessen Verfasser, dass das Alpha-Toxin kein adäquates Antigen des kokkogenen Ekzems sei.

3. In Staphylokokkus-Anatoxinen sind neben Alpha-Anatoxin mindestens 3 weitere Antigene nachweisbar, die für die Hautprobe bzw. die Positivität des Thrombozytentests verantwortlich sein können.

4. Durch Geldiffusionsanalyse waren in aus Mischplasma von gesunden Individuen gewonnenen γ -Globulin-Lösungen 1 Antikörper, in Seren von kokkogenen Ekzemkranken 0–4 Antikörper nachweisbar, wenn als Antigen Staphylokokkus-Anatoxin angewendet wurde.

5. Zwischen der Auszüchtbarkeit von Staphylokokken aus den primären Hautläsionen und dem klinischen Verlauf der kokkogen Ekzeme wurde ein strenger Zusammenhang gefunden.

LITERATUR

1. Backhausz, R., Kamarás, J. & Osztovcics, M.: Gyermekgyógy. (ung.) 5, 1, 1954; Ann. Immunol. Hung. 1, 91, 1958.
- 1a. Baird, K. A.: Brit. J. Derm. 62, 129, 1950; Ann. Allergy 9, 330, 1951; 10, 153, 158, 1952; 15, 174, 1957.
2. Barandun, S. et al.: Schweiz. med. Wschr. 87, 155, 1957.
3. Beiser, S. M., Dworetzky, M., Smart, K. M. & Baldwin, H. S.: J. Allergy 29, 44, 1958.

4. *Besredka, A.*: Ann. Inst. Pasteur 16, 918, 1902.
5. *Biró, L. & Csóka, E.*: Bőrgyógy. Vener. Szle (ung.) 28, 147, 1952.
6. *Biró, L., Csokonay, L., Neuwirth, M. & Csóka, I.*: Bőrgyógy. Vener. Szle (ung.) 32, 6, 1956.
7. *Blaschke, K.*: Dtsch. GesundhWes. 1952, 472.
8. *Bocage, A. & Perthain, E.*: Acta chir. belg. 4, 349, 1948; Ann. Derm. Syph., Paris 70, 349, 1943; 75, 348, 1948.
9. *Bocage, A., Mercier, P. & Gillet, J.*: Ann. Inst. Pasteur 73, 77, 1947.
10. *Bocage, A., Mercier, P., Gillet, J., Chabanier & Liwinec, J.*: Bull. Soc. franç. Derm. Syph. 57, 325, 1950; 58, 235, 1951.
11. *Bonnet, H., Thieffry, S. & Sabetay, C.*: C. R. Soc. Biol. 124, 240, 1937.
- 11a. *Dóbiás, G., Balló, T. & Keményvári, J.*: Z. Immunforsch. 114, 105, 1957.
12. *Daworetzky, M. et al.*: J. Allergy 28, 238, 1957.
13. *Fisher, M. W. & Manning, M. C.*: Antibiot. Chemother., N. Y. 7, 315, 1957.
14. *Gernez, Ch.*: C. R. Soc. Biol. 124, 679, 1937.
15. *Goodman, M.*: Arch. Derm. Syph., Chicago 74, 640, 1943.
16. *Hansel, F. K.*: Ann. Allergy 10, 131, 1952.
17. *Hegedüs, A.*: in *Bálint, P. & Hegedüs, A.*: Klinikai laboratoriumi diagnosztika (ung.) 2. Aufl. Budapest, 1955.
18. *Hering, H.*: Z. Haut-GeschlKr. 16, 109, 1954.
19. *Hoigné, R.*: Schweiz. med. Wschr. 87, 35, 1957.
20. *Kahn, M. C., Baldwin, H. S., Zeitlin, B. R. & Smart, M.*: J. Allergy 22, 237, 1951.
21. *Korossy, S. & Gózony, M.*: Orv. Hetil. (ung.) 95, 773, 1954; 96, 770, 1955.
22. — — Orv. Hetil. (ung.) 98, 761, 1957; Acta allerg. 12, 68, 1958.
23. *Liebner, E.*: Orv. Hetil. (ung.) 96, 729, 1955.
24. *Mercier, P., Chabanier, P., Isbir, S. & Pillet, J.*: C. R. Soc. Biol. 143, 1338, 1949.
25. *Oakley, C. L. & Fulthorpe, A. J.*: J. Path. Bact. 65, 42, 1953.
26. *Oeding, P.*: Acta path. microbiol. scand. 35, 484, 1954; 46, 435, 1957.
27. *Oudin, J.*: Ann. Inst. Pasteur 75, 30, 109, 1948.
28. *Ouchterlony, O.*: Acta path. microbiol. scand. 25, 186, 1948.
29. *Pastinszky, I. & Rácz, I.*: Katonaorvosi Szle. (ung.) 7, 847, 1955.
30. *Pirnay, R.*: Arch. belg. Derm. 13, 163, 1957.
31. *Rajka, E.*: Arch. Derm. Syph., Berlin 141, 32, 1922; 143, 204, 1923.
32. — Acta med. Hung. 2, 124, 1951; Allergie u. Asthmaforsch. 1, 98, 1956; III. Kongr. Europ. Allerg. Firenze. 1956.
33. *Ramon*: Le principe des anatoxines et ses applications. Paris. 1950.
34. *Ravina, A.*: Presse méd. 65, 1776, 1957.
35. *Solis-Cohen, M.*: Lancet 1936, 1447.
36. *Spielman, A. D.*: N. Y. St. J. Med. 55, 1, 1603, 1955.
37. *Stokes, J. H. & Beerman, H.*: Arch. Derm. Syph., Chicago 60, 261, 1949.
38. *Storck, H.*: Dermatologica 96, 177, 1948; Presse méd. 62, 1216, 1954; Sem. Hôp. Paris Pathol. et Biol. 5, 283, 1957; Hautarzt 8, 488, 1957.

39. *Surgalla, M. J., Bergdoll, M. S. & Dack, G. M.*: Immunol. *69*, 357, 1952; 72, 398, 1954.
40. *Swineford, O. Jr. & Holman, J.*: J. Allergy *20*, 420, 1949.
- 40a. *Szathmáry, J.*: Persönliche Mitteilung.
41. *Szente, L.*: Idült gennyedések kezelése staphylococcus anatoxinál. (ung.) Budapest, 1938.
42. *Tzanck, N.*: Presse méd. *44*, 363, 1936; *46*, 1450, 1938.
43. *Thatcher, F. S., Matheison, B. H. & Simon, W. R.*: Canad. J. microbiol. *1*, 401, 1955.
44. *Wagner, V. & Malý, V.*: Int. Arch. Allergy *4*, 53, 1953.
45. *Waisbren, B. A.*: Antibiot. Chemother., N. Y. *7*, 322, 1957.

This document is a scanned copy of a printed document. No warranty is given about the accuracy of the copy. Users should refer to the original published version of the material.