[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten zu Berlin.]

(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)

(Abteilungsvorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Wassermann.)

Studien über das Komplementbindungsphänomen bei hämorrhagischer Septikämie.

Von

Dr. Takeshi Matsuda

(aus Japan).

Mit Hilfe der früheren Immunisierungsmethoden war es sehr schwer, gegen die Bakterien der Gruppe der hämorrhagischen Septikämieerreger zu immunisieren, bis es Citron und Pütz (2), (3), (4) gelungen ist, vermittelst der sogenannten Wassermann-Citronschen wässrigen Bakterienextrakte (1) eine Immunität gegen diese Bakterien zu erreichen.

Ich habe die Angaben dieser Autoren nachgeprüft und bin zu demselben Resultat gekommen. Ich habe mehrere Kaninchen und Meer-schweinchen mit den Extrakten dieser Bakterien innerhalb 8 bis 10 Tagen 3 bis 4 mal subkutan oder intravenös gespritzt, und sie 10 bis 12 Tage nach der letzten Einspritzung mit einer Dosis von lebenden Bazillen subkutan oder intravenös infiziert. Die meisten dieser Versuchstiere blieben vollkommen gesund, nur einige erkrankten in geringem Maße. Dabei zeigten sie nur kleine lokale Infiltrate an der Infektionsstelle.

Ich untersuchte nun, ob das Serum von mit diesen wässrigen Extrakten vorbehandelten Kaninchen die Komplementbindungsreaktion zeigt.

Es mußte meine nächste Aufgabe sein, eine Serie von Kaninchen, welche nur einmal eingespritzt worden war, zu untersuchen, und für den Fall, daß sich das Phänomen dabei zeigte, weiterhin zu prüfen, ob es sich dabei um eine spezifische Reaktion handelt.

Zu diesen Versuchen wurden Bakterienextrakte [nach Citron (2)] in folgender Weise hergestellt:

Man stellt sich Massenkulturen von Bakterien auf Kolleschen Schalen her. Die Kolleschen Schalen werden nach 24 Stunden mit destilliertem Wasser abgeschwemmt. Je nach der Wachstumsstärke der Kulturen wurden 10 bis 12 ^{cem} Wasser pro Schale verwendet. Man erhält auf diese Weise eine trübe, milchige Aufschwemmung, die man gut gegen Licht geschützt, bei Zimmertemperatur in einen Schüttelapparat 2 Tage lang schütteln läßt. Hierauf karbolisiert man die Aufschwemmung (0.5 Prozent), zentrifugiert bis zur Klärung und sterilisiert 3 Stunden bei 44° C. Natürlich muß Untersuchung auf Sterilität folgen.

Das hämolytische Serum wurde von Kaninchen, die mit Hammelblutkörperchen vorbehandelt wurden, gewonnen.

Beim Versuch wurden 0.1 ^{cem} Extrakt mit einer bestimmten Menge Serum in Glasröhrchen gemischt und als Komplement frisches Meer-schweinchenserum in einer Verdünnung von 1:10 zugesetzt. Dann wurden alle Röhrchen für eine Stunde in den Brutschrank von 37° C gestellt. Hierauf wurde hämolytisches Serum in der doppelt komplett lösenden Dosis, sowie 1 ^{cem} einer 5 prozent. Hammelblutkörperchenaufschwemmung zugesetzt. Jedes Reagens betrug 1 ^{cem} an Volumen, so daß jedes Röhrchen 5 ^{cem} enthielt.

Das Ergebnis der Versuche fasse ich für die einzelnen Arten in den Tabellen I bis III zusammen.

Tabelle I.

Versuch mit verschiedenem Schweineseucheimmunserum vom Kaninchen (1 mal injiziert 0.5 ^{cem} intravenös, und nach 12 Tagen Blut entnommen). Jedes Serum ist mit dem Extrakt, mit welchem es hergestellt wurde, geprüft.

Menge des Extrakts	Menge des Serums	Resultat bei Verwendung von Serum + Extrakt von					
		Sch. S. A.	Sch. S. B.	Sch. S. C.	Sch. S. D.	Sch. S. E.	Sch. S. F.
0.1	0.1	0	0	0	0	0	0
0.1	0.05	0	0	0	0	0	0
0.1	0.03	0	0	0	0	0	0
0.1	0.01	0	0	f. 0	0	f. 0	0
0.1	0.005	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	ink.	f. 0
0.1	0.003	ink.	ink.	k.	ink.	k.	ink.
0.1	0.001	k.	k.	„	k.	„	k.

Zeichenerklärung:

0 = komplette Hemmung; f. 0 = fast komplette Hemmung; ink. = inkomplette Hemmung; k. = keine Hemmung.

Tabelle II.

Versuch mit Kaninchenseptikämieimmunserum und Kälberpneumonieimmunserum vom Kaninchen. Versuchsanordnung wie oben.

Menge des Extrakts	Menge des Serums	Resultat bei Verwendung von Serum + Extrakt von				
		K.-Sep. A.	K.-Sep. B.	K.-Sep. C.	Kl.-P. A.	Kl.-P. B.
0.1	0.1	0	0	0	0	0
0.1	0.05	0	0	0	0	0
0.1	0.03	0	0	0	0	0
0.1	0.01	0	0	0	f. 0	0
0.1	0.005	f. 0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0
0.1	0.003	ink.	ink.	ink.	k.	ink.
0.1	0.001	k.	k.	k.	„	k.

Tabelle III.

Versuch mit Hühnercholeraimmunserum von Kaninchen. Versuchsanordnung siehe oben.

Menge des Extrakts	Menge des Serums	Resultat bei Verwendung von Serum + Extrakt von				
		Hühn. A.	Hühn. B.	Hühn. C.	Hühn. D.	Hühn. E.
0.1	0.1	0	0	0	0	0
0.1	0.05	0	0	0	0	0
0.1	0.03	0	0	0	0	0
0.1	0.01	0	0	0	f. 0	0
0.1	0.005	f. 0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0
0.1	0.003	ink.	ink.	ink.	k.	ink.
0.1	0.001	k.	k.	k.	„	k.

Aus den obigen Tabellen geht hervor, daß schon eine einmalige Infektion das Serum derart verändert, daß es im Verein mit dem zugehörigen Antigen ziemlich stark Komplement bindet. Das Phänomen wird stärker, wenn man die Injektionen wiederholt. Bei einem 4 mal injizierten Kaninchen habe ich gesehen, daß das Serum noch in einer Verdünnung von 0.003^{cem} die Hämolyse hemmte. Aber gleichzeitig war in einem derartigen Serum die Gruppenreaktion eine ausgeprägtere, worauf wir noch weiter unten genauer eingehen werden.

Nachdem wir so gefunden hatten, daß die Septikämieerregerimmunsersa Komplementbindung geben, war nunmehr festzustellen, ob diese Reaktion spezifisch ist, und ob die Spezifität so groß ist, daß die Reaktion zur Differenzierung der Angehörigen der Septikämieerregergruppe Verwendung finden kann.

Leuchs (5), Ballner und Reibmayr (6), Leuchs und Schöne (7), Hirschfeld (8), de Beeche und Kon (9), Amako und Kojima (10) usw. haben schon gezeigt, daß man ähnliche Bakterienarten durch die Komple-

mentbindung mit Sicherheit differenzieren kann. Ich habe nun untersucht, wie sich die einzelnen Arten der Erreger der hämorrhagischen Septikämie, deren Unterscheidung mit den bis jetzt bekannten Immunitätsmethoden sehr schwierig, wenn nicht unmöglich war, in bezug auf das Komplementbindungsphänomen zueinander verhalten.

Wie ich schon bemerkt habe, zeigen die etwas hochwertigeren Sera eine starke Gruppenreaktion, welche eine sichere Unterscheidung der einzelnen Arten nicht erlaubt. Deswegen benutzte ich beim zweiten Versuch Serum von Tieren, die nur 2 mal mit Extrakten vorbehandelt waren, und denen das Serum 12 Tage nach der letzten Injektion entnommen worden war. Dieses Serum prüfte ich gegen verschiedene Extrakte von Bazillen der Septikämiegruppe.

Die Ergebnisse der Versuche fasse ich für die einzelnen Arten in folgenden Tabellen zusammen.

Tabelle IV.

Versuch mit Schweineseuche A, Kaninchenimmunserum und verschiedenen Schweineseuchenextrakten.

Menge des Serums	Extrakt von					
	Sch. A.	Sch. B.	Sch. C.	Sch. D.	Sch. E.	Sch. F.
0.1	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0
0.005	0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0
0.003	f. 0	ink.	ink.	ink.	ink.	ink.
0.001	ink.	k.	k.	k.	k.	k.

Tabelle V.

Versuch mit dem Kaninchen serum der Schweineseuche B.
(Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von					
	Sch. A.	Sch. B.	Sch. C.	Sch. D.	Sch. E.	Sch. F.
0.1	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0
0.003	ink.	f. 0	ink.	ink.	ink.	ink.
0.001	k.	ink.	k.	k.	k.	k.

Tabelle VI.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Schweineseuche B. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von					
	Sch. A.	Sch. B.	Sch. C.	Sch. D.	Sch. E.	Sch. F.
0.1	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	0	f. 0	f. 0	f. 0
0.003	ink.	ink.	f. 0	ink.	ink.	ink.
0.001	k.	k.	ink.	k.	k.	k.

Tabelle VII.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Schweineseuche D. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von					
	Sch. A.	Sch. B.	Sch. C.	Sch. D.	Sch. E.	Sch. F.
0.1	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	f. 0	0	f. 0	f. 0
0.003	ink.	ink.	ink.	f. 0	ink.	ink.
0.001	k.	k.	k.	ink.	k.	k.

Tabelle VIII.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Schweineseuche E. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von					
	Sch. A.	Sch. B.	Sch. C.	Sch. D.	Sch. E.	Sch. F.
0.1	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	0	f. 0
0.003	ink.	ink.	ink.	ink.	f. 0	ink.
0.001	k.	k.	k.	k.	ink.	k.

Tabelle IX.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Schweineseuche F. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von					
	Sch. A.	Sch. B.	Sch. C.	Sch. D.	Sch. E.	Sch. F.
0.1	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	0
0.003	ink.	ink.	ink.	ink.	ink.	f. 0
0.001	k.	k.	k.	k.	k.	ink.

Tabelle X.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Hühnercholera A. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von				
	Hühn. A.	Hühn. B.	Hühn. C.	Hühn. D.	Hühn. E.
0.1	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.005	0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0
0.003	f. 0	ink.	ink.	ink.	ink.
0.001	ink.	k.	k.	k.	k.

Tabelle XI.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Hühnercholera B. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von				
	Hühn. A.	Hühn. B.	Hühn. C.	Hühn. D.	Hühn. E.
0.1	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	0	f. 0	f. 0	f. 0
0.003	ink.	f. 0	ink.	ink.	ink.
0.001	k.	ink.	k.	k.	k.

Tabelle XII.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Hühnercholera C. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von				
	Hühn. A.	Hühn. B.	Hühn. C.	Hühn. D.	Hühn. E.
0.1	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	0	f. 0	f. 0
0.003	ink.	ink.	f. 0	ink.	ink.
0.001	k.	k.	ink.	k.	k.

Tabelle XIII.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Hühnercholera D. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von				
	Hühn. A.	Hühn. B.	Hühn. C.	Hühn. D.	Hühn. E.
0.1	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	f. 0	0	f. 0
0.003	ink.	ink.	ink.	f. 0	ink.
0.001	k.	k.	k.	ink.	k.

Tabelle XIV.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Hühnercholera E. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von				
	Hühn. A.	Hühn. B.	Hühn. C.	Hühn. D.	Hühn. E.
0.1	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0
0.03	0	0	0	0	0
0.01	0	0	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	0
0.003	ink.	ink.	ink.	ink.	f. 0
0.001	k.	k.	k.	k.	ink.

Tabelle XV.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Kan.-Septikämie A. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von		
	Kan.-Sep. A.	Kan.-Sep. B.	Kan.-Sep. C.
0.1	0	0	0
0.05	0	0	0
0.03	0	0	0
0.01	0	0	0
0.005	0	f. 0	f. 0
0.003	f. 0	ink.	ink.
0.001	ink.	k.	k.

Tabelle XVI.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Kan.-Septikämie B. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von		
	Kan.-Sep. A.	Kan.-Sep. B.	Kan.-Sep. C.
0.1	0	0	0
0.05	0	0	0
0.03	0	0	0
0.01	0	0	0
0.005	f. 0	0	f. 0
0.003	ink.	f. 0	ink.
0.001	k.	ink.	k.

Tabelle XVII.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Kan.-Septikämie C. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von		
	Kan.-Sep. A.	Kan.-Sep. B.	Kan.-Sep. C.
0.1	0	0	0
0.05	0	0	0
0.03	0	0	0
0.01	0	0	0
0.005	f. 0	f. 0	0
0.003	ink.	ink.	f. 0
0.001	k.	k.	ink.

Tabelle XVIII.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Kälberpneumonie A. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von	
	Kälberpneumonie A.	Kälberpneumonie B.
0.1	0	0
0.05	0	0
0.03	0	0
0.01	0	0
0.005	0	f. 0
0.003	f. 0	ink.
0.001	ink.	k.

Tabelle XIX.

Versuch mit dem Kaninchenserum der Kälberpneumonie B. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von	
	Kälberpneumonie A.	Kälberpneumonie B.
0.1	0	0
0.05	0	0
0.03	0	0
0.01	0	0
0.005	f. 0	0
0.003	ink.	f. 0
0.001	k.	ink.

Aus den obigen Tabellen geht hervor, daß das Immunserum, mit den Extrakten aus verschiedenen Stämmen ein und derselben Art annähernd gleich starke Komplementbindung gibt.

Tabelle XX.

Versuch mit Schweineseuche A.-Immunserum. Prüfung desselben gegen die verschiedenen heterologen Extrakte.

Menge des Serums	Extrakt von										
	Sc. A.	Hü. A.	Hü. B.	Hü. C.	Hü. D.	Hü. E.	K.-S. A.	K.-S. B.	K.-S. C.	Kl.-P. A.	Kl.-P. B.
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	f. 0	0	0	0	f. 0	0	f. 0	0
0.03	0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	ink.	f. 0
0.01	0	ink.	ink.	k.	ink.	ink.	ink.	k.	ink.	k.	ink.
0.005	0	k.	k.	„	k.	k.	k.	„	k.	„	k.
0.003	f. 0	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0.001	ink.	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Zeichenerklärung: Sc. = Schweineseuche; Hü. = Hühnercholera;
K.-S. = Kaninchenseptikämie; Kl.-P. = Kälberpneumonie.

Der Versuch mit den Schweineseuchestämmen B., C., D., E. und F. ergab beinahe das gleiche Resultat. Deswegen halte ich es nicht für nötig, die Tabellen einzeln anzuführen.

Tabelle XXI.

Versuch mit Hühnercholera A.-Kaninchenimmunserum. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von											
	Hü. A.	Sc. A.	Sc. B.	Sc. C.	Sc. D.	Sc. E.	Sc. F.	K.S. A.	K.S. B.	K.S. C.	Kl.-P. A.	Kl.-P. B.
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0	f. 0	0	f. 0	0	0	0
0.03	0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	ink.	f. 0	f. 0	f. 0
0.01	0	ink.	ink.	ink.	ink.	ink.	k.	ink.	k.	ink.	ink.	ink.
0.005	0	k.	k.	k.	k.	k.	„	k.	„	k.	k.	k.
0.003	f. 0	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0.001	ink.	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Da der Versuch mit Hühnercholera B., C., D. und E.-Serum beinahe dasselbe Resultat ergab, führe ich die Tabellen nicht einzeln an.

Tabelle XXII.

Versuch mit Kaninchenseptikämie A.-Kaninchenimmunserum. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von													
	K.S. A.	Sc. A.	Sc. B.	Sc. C.	Sc. D.	Sc. E.	Sc. F.	Hü. A.	Hü. B.	Hü. C.	Hü. D.	Hü. E.	Kl.-P. A.	Kl.-P. B.
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	0	0	0	0	0	f. 0	0	0	0	f. 0	0	f. 0
0.03	0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	ink.
0.01	0	ink.	ink.	ink.	ink.	ink.	ink.	k.	ink.	ink.	ink.	k.	ink.	k.
0.005	0	k.	k.	k.	k.	k.	k.	„	k.	k.	k.	„	k.	„
0.003	f. 0	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0.001	ink.	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Der Versuch mit der Kaninchenseptikämie C. und D. ergab beinahe das gleiche Resultat.

Tabelle XXIII.

Versuch mit Kälberpneumonie A.-Kaninchenimmunserum. (Siehe oben.)

Menge des Serums	Extrakt von													
	Kl.-P. A.	Sc. A.	Sc. B.	Sc. C.	Sc. D.	Sc. E.	Sc. F.	Hü. A.	Hü. B.	Hü. C.	Hü. D.	Hü. E.	K.S. A.	K.S. B.
0.1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.05	0	0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	f. 0	0	0	f. 0	0	0	f. 0	0
0.03	0	f. 0	ink.	ink.	ink.	ink.	ink.	f. 0	f. 0	ink.	f. 0	f. 0	ink.	f. 0
0.01	0	ink.	k.	k.	k.	k.	k.	ink.	ink.	k.	ink.	ink.	k.	ink.
0.005	0	k.	„	„	„	„	„	k.	k.	„	k.	k.	„	k.
0.003	f. 0	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„
0.001	ink.	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„	„

Der Versuch mit der Kälberpneumonie B. ergab beinahe das gleiche Resultat.

Wie aus den Tabellen zu ersehen ist, trat die Reaktion bei den einzelnen Arten spezifisch auf.

Weiter kann man aus den obigen Versuchen entnehmen, daß für die Anstellung dieser Versuche schon eine zweimalige Injektion genügt. Ich kann demnach für diese Bazillen die Befunde von Amako und Kojima (10), die bei einer mehrmaligen Injektion mit dem Dysenteriebacillus eine stärkere, die Versuchsergebnisse trübende Gruppenreaktion beobachten konnten, bestätigen.

Mit schwach wirksamen Immunsereis ist jedoch eine Differenzierung der einzelnen Angehörigen der Septikämiegruppe sicher möglich.

Ich kann meine Arbeit nicht beenden, ohne Hrn. Geh. Medizinalrat Professor Dr. A. Wassermann und Hrn. Oberassistent Dr. Leuchs meine Dankbarkeit für die lebenswürdige Unterstützung bei meinen Studien auszusprechen.

Literatur.

1. A. Wassermann u. J. Citron, *Deutsche med. Wochenschrift.* 1905.
2. J. Citron, *Diese Zeitschrift.* 1906.
3. Derselbe, *Centralblatt f. Bakteriologie u. Parasitenkunde.* 1905. Originale. Abt. I.
4. J. Citron u. R. Pütz, *Diese Zeitschrift.* 1907.
5. Leuchs, *Berliner klin. Wochenschrift.* 1907.
6. Ballner u. Reibmayr, *Münchener med. Wochenschrift.* 1907.
7. Leuchs u. Schöne, *Diese Zeitschrift.* 1908.
8. Hirschfeld, *Zeitschrift f. Klin. Med.* 1907.
9. de Beche u. Kon, *Diese Zeitschrift.* 1909.
10. Amako u. Kojima, *Zeitschrift f. Immunitätsforschung u. experimentelle Therapie.* 1909. Originale. I. Teil.