[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten in Berlin.]
(Direktor: Geh. Ober-Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungs-Vorsteher: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. A. Wassermann.)
[und der Abteilung f. Infektionskrankh. des Rudolf Virchow-Krankenhauses.]
(Dirigierender Arzt: Privat-Doz. Dr. Joehmann.)

Über die Verwendbarkeit der Komplementbindung zur Typhusdiagnose.

Von

Dr. J. Leuchs und Dr. Chr. Schöne.

Die von Bordet und Gengou (1) beschriebene Erscheinung der Komplementbindung hat in der Form, wie sie von A. Wassermann und C. Bruck (2) für die Serodiagnostik nutzbar gemacht wurde, einerseits zu rückhaltloser Bestätigung, andererseits aber auch zu lebhaften Widersprüchen geführt.

Es kann hier nicht unsere Aufgabe sein, auf die gesamte, schon recht umfangreiche Literatur über diesen Gegenstand einzugehen. Dieselbe soll hier nur insoweit, als sie Beziehung zu der von uns behandelten Materie, nämlich zum Typhus abdominalis hat, berücksichtigt werden.

Bordet und Gengou (1) haben gefunden, daß beim Vermischen von Meerschweinchen-Typhus-Immunserum mit einer Emulsion von Typhusbakterien Komplement gebunden wird: nachträglich zugefügte, sensibilisierte, d. h. mit dem entsprechenden Ambozeptor beladene, rote Blutkörperchen blieben ungelöst. Eine Komplementbindung war dagegen nicht festzustellen, wenn statt der Typhusbazillenemulsion, die gleiche Menge einer Aufschwemmung von Colibakterien zur Verwendung gelangte. Nur wenn größere Mengen der Coliaufschwemmung benutzt wurden, konnten auch hiermit noch Hemmungen erzielt werden. Die Reaktion war also bis zu einem gewissen Grade spezifisch. Ebenso wie die Meer-

schweinchensera ergaben auch zwei menschliche, von Typhusrekonvaleszenten stammende Sera, welche in gleicher Weise gegenüber einer Typhusbazillenaufschwemmung geprüft wurden, positive Resultate, während zwei von gesunden Menschen gewonnene Sera die Reaktion gänzlich vermissen ließen.

In der ersten Arbeit über Komplementbindung aus dem Wassermannschen Laboratorium von Wassermann und Bruck (2) wurde in Vorschlag gebracht, statt der in der Serodiagnostik bisher allgemein angewendeten Suspensionen von Vollbakterien, Extrakte aus Bakterienkörpern, also gelöste Bakteriensubstanzen zu verwenden. Mit Hilfe derartiger Bakterienextrakte konnte an mehreren Immunseris, darunter auch an einem vom Pferde stammenden Typhusimmunserum, nicht nur die Möglichkeit, sondern auch die Spezifität der Reaktion dargetan werden.

Eine Nachprüfung fanden die Resultate, welche diese beiden Autoren bei Typhus und namentlich bei den Erregern der Genickstarre erzielt hatten, in einer Arbeit Moreschis (3). Moreschi suchte sich ein eigenes Urteil über die Brauchbarkeit der Komplementbindung zu bilden durch Versuche, die er mit Typhusbazillen anstellte, als einer Bakterienart, bei welcher Mechanismus und Wesen der Immunität am besten durchforscht seien. Dieses Urteil gestaltete sich im wesentlichen verneinend. Er fand nämlich die Methode — wenigstens bei Typhus — weder zur Titrierung eines spezifischen Immunserums noch für den Nachweis kleiner Bakterienmengen genügend zuverlässig. Moreschi hatte zur Anstellung seiner Versuche, obwohl dieselben eine Nachprüfung der Wassermannschen Angaben darstellen sollten, nicht Bakterienextrakte, sondern Aufschwemmungen von lebenden oder bei 60° abgetöteten Vollbakterien benutzt. Er hatte sich somit der Bordet-Gengouschen Versuchsanordnung bedient, mit welcher diese Forscher selbst, wie oben erwähnt, einwandsfreie Resultate erhalten hatten. Immerhin konnte als Grund für die negativen bzw. schlechteren Resultate Moreschis diese Abweichung von der Wassermann-Bruckschen Versuchsanordnung in Frage kommen, besonders da eine Wiederaufnahme der Wassermann-Bruckschen Versuche durch Leuchs (4) mit Kaninchenserais und Typhusbazillenextrakten (bzw. Paratyphus B- und Colibazillenextrakten) in allen Fällen eine spezifische und quantitativ verlaufende Reaktion ergab.

Die Resultate, welche Leuchs an Kaninchenserais gewonnen hatte, fanden bald darauf für menschliche Typhussera durch Arbeiten von Hirschfeld (5) und Posner (6) mehr oder weniger vollständige Bestätigung.

Hirschfeld, welcher Sera von 15 Typhuskranken und von 17 Gesunden oder anderweitig Erkrankten in den Bereich seiner Untersuchungen

zog und dabei genau nach der Wassermannschen Methodik arbeitete, erzielte bei sämtlichen Typhusseris eine mehr oder weniger ausgesprochene Reaktion, während dieselbe bei den von Gesunden oder anderweitig Erkrankten stammenden Seris stets negativ verlief. In drei Typhusfällen ergab die Komplementbindung positives Resultat, noch bevor die Sera agglutinierende Eigenschaften für Typhusbazillen erkennen ließen. Der weitere klinische Verlauf und auch der späterhin positiv gewordene Widal bestätigte auch in diesen Fällen die mit Hilfe der Komplementbindung gestellte Diagnose.

Posner untersuchte sechs eindeutige Fälle von Typhus abdominalis, zwei Sera von Paratyphuskranken (Schottmüller), ein tierisches Immunsorum (Schottmüller), und zwei menschliche Kontrollsera (eine Sepsis und eine Tuberculosis pulmonum). Er hat sich bezüglich des hämolytischen Systems nicht vollständig an die Wassermannschen Vorschriften gehalten. Ob sich seine teilweisen Mißerfolge durch diesen Umstand erklären lassen, wagen wir nicht zu entscheiden, immerhin ist die Möglichkeit nicht von der Hand zu weisen. Er erblickt auf Grund seiner Resultate in der Komplementbindung eine streng spezifische Methode, glaubt jedoch ihre klinische Verwertbarkeit in Frage gestellt, sowohl durch die Umständlichkeit des Verfahrens, als auch durch das Ausbleiben der Reaktion in einer Anzahl sicherer Fälle und endlich durch die quantitativ geringere Leistungsfähigkeit derselben gegenüber der Agglutination.

In einer zweiten Mitteilung über die diagnostische Zuverlässigkeit der Komplementbindung nahm Moreschi (7) Stellung zu den Wassermann-Leuchsschen Versuchen. Eine Kritik der Wassermannschen Ausführungen, sowie der Leuchsschen Versuchsprotokolle führt ihn zu einer Bestätigung seiner anfänglichen Auffassung. Durch neue, vergleichende Versuche bezüglich der Dosis minimalis für die Komplementbindung einerseits von Vollbakterien (Typhus) und andererseits von ihren Extrakten, sowie durch Versuche bezüglich des Antikörpergehaltes der Sera verschiedener Tierspezies, vergleichsweise bestimmt nach der Pfeifferschen Methode und nach dem Komplementbindungsverfahren, gelangt er zu folgenden Schlußfolgerungen: 1. Um mit wässerigen Typhusbazillensextrakten bei der Komplementbindungsmethode gegenüber einem hochwertigen Typhusimmunsorum vom Kaninchen noch positive Reaktion zu erhalten, muß eine Bakterienmenge extrahiert werden, welche ungefähr der zum gleichen Zwecke benötigten Menge (0.1 Öse) einer Suspension von Vollbakterien entspricht. Die Anwendung von Extrakten nach Wassermann und seinen Mitarbeitern bietet demnach gegenüber der Verwendung von Vollbakterien keinen Vorteil zum Nachweis kleiner Quantitäten von Bakterienbestandteilen durch das Komplementbindungsverfahren und ist im

übrigen auch theoretisch nicht gerechtfertigt, da sie sich auf die ganz willkürliche, durch keinerlei Tatsachen begründete Annahme stützt, daß die Ausschüttelung von Bakterien mit Wasser mehr von den sogenannten Bakterienrezeptoren in Freiheit setzt, als die intakten Vollbakterien den respektiven Antikörpern zur Verfügung zu stellen vermögen. 2. Bei den untersuchten Kaninchenseris liefert das Komplementbindungsverfahren geringere Werte als die Methode Pfeiffer, immerhin erscheint die Empfindlichkeit des Verfahrens genügend für seine praktische Verwendung, wenn es möglich ist einen Extrakt von bekannter und konstanter Wirksamkeit zu haben. Dagegen ist das Komplementbindungsverfahren wenigstens für die Versuche mit Typhus und unter Berücksichtigung der von ihm (Moreschi) verwendeten bakteriolytischen und hämolytischen Systeme in keiner Weise weder zum qualitativen noch zum quantitativen Nachweis von Antikörpern im Serum des Menschen und des Pferdes geeignet.

Wassermann und Leuchs (8) sind den Ausführungen Moreschis durch eine gemeinsame Erwiderung in theoretischer Hinsicht bereits entgegengetreten.

Neufeld und Hüne (9) fanden zwei Typhusrekonvaleszentensera, welche, trotzdem sie bakterizide Eigenschaften entfalteten, eine komplementbindende Wirkung im Verein mit Vollbakterien nicht erkennen ließen. Diese Beobachtung veranlaßte sie zu schließen, daß die bei den meisten Typhusseris festzustellende Komplementbindung nicht durch die bakteriolytischen Ambozeptoren bedingt sein könne, sondern durch eine neue Art von Antistoffen bewirkt werden müsse.

Zu demselben Schlusse kam Haendel (10), der eines der Neufeld-Hüneschen Typhussera auch mit Hilfe von Bakterienextrakten¹ auf Komplementbindung untersuchte und dabei ebenfalls ein negatives Resultat zu verzeichnen hatte, im übrigen aber mit Choleraimmunseris von Kaninchen arbeitete.

Braun (11) überzeugte sich durch Versuche mit künstlichen Typhusbazillenextrakten und Kaninchentyphusimmunseris, die unserer Ansicht nach infolge der dabei in Anwendung gebrachten Versuchstechnik weder

¹ Anmerkung von Leuchs: Was Haendel mit dem Passus: „Leuchs hat . . . dabei aber so wenig hochwertige Sera — eines hatte nur den Agglutinationstiter 1:100 und im Pfeiffer den Titer 1:65 — verwendet, daß aus der Wirksamkeit dieser Sera beweisende Schlüsse nicht gezogen werden können“, eigentlich sagen wollte, ist mir nicht recht klar geworden. Beweisen wollte ich, daß es mit Hilfe der Komplementbindung gelingt, auch in Typhusimmunseris eine spezifische Reaktion zu erzielen. In je geringwertigeren Immunseris ich die Reaktion noch zur Anschauung bringen kann, einen um so eklatanteren Beweis habe ich — meiner Ansicht nach — für die Empfindlichkeit der Methode erbracht.

nach der einen noch nach der anderen Seite hin beweisend sein können, daß die Wassermann-Brucksche Methode für den Nachweis kleiner Typhusantigenmengen, wie sie in Körperflüssigkeiten vorkommen könnten, unbrauchbar ist.

Ballner und Reibmayr (12) endlich stellten mit Hilfe der Komplementbindung Differenzierungsversuche in der Gruppe der Kapselbazillen, der Typhusbazillen und der Vibrionen an. Sie haben mit Immunsereis von Kaninchen und mit nach Wassermann hergestellten Bakterienextrakten gearbeitet. Auf Grund ihrer Erfahrungen in der Typhusgruppe (Typhus, Paratyphus B, Typhus murium, Coli) kommen die Autoren zu dem Schlusse, daß die Komplementfixation in dieser Gruppe ebenso scharfe und spezifische Ausschläge, wie die Agglutinationsreaktion ergebe, so daß sich ein Serum mit ihrer Hilfe sicher auf seine Provenienz diagnostizieren lasse. Ihrer Einfachheit wegen müsse jedoch der Agglutinationsmethode der Vorzug gegeben werden. Durch spezifische Absorptionsversuche glauben diese Forscher des weiteren einen unmittelbaren Zusammenhang zwischen den Phänomenen der Agglutination bzw. Präzipitation und der Komplementbindung nachgewiesen zu haben.

Zweck der nachstehend mitgeteilten Untersuchungen war nun, uns durch eigene Versuche über die Möglichkeit der Erzielung einer spezifischen Reaktion mit Hilfe der Komplementbindung auch beim menschlichen Typhus zu unterrichten. Das Material stand uns aus der Infektionsabteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses zur Verfügung.

Bevor wir jedoch auf diese Untersuchungen des näheren eingehen, möchten wir kurz über einige experimentelle Tatsachen berichten, welche deutlich zeigen, daß es für den quantitativen — und damit in gewissen Fällen auch für den qualitativen — Ausfall der Komplementbindung durchaus nicht gleichgültig ist, ob Vollbakterien oder Bakterienextrakte benutzt und in welcher Weise letztere hergestellt werden.

Wie schon oben erwähnt, kommt Moreschi in seiner zweiten Mitteilung zu dem Schlusse, daß die Anwendung von Extrakten gegenüber der von Vollbakterien keinen Vorteil biete. Er hat sich jedoch bei Anstellung der Versuche, die ihn zu dieser Schlußfolgerung zwingen, weder bezüglich des hämolytischen Systems noch hinsichtlich der Herstellung der Extrakte an die Wassermann-Leuchsschen Vorschriften gehalten. Sehen wir an dieser Stelle ab von der Verschiedenheit der hämolytischen Systeme. Die Differenz in der Herstellungsweise der Extrakte beruht darauf, daß Moreschi die Typhusbazillen zur Extraktion 6 Stunden im Thermostat bei 37° und dann 48 Stunden bei Zimmertemperatur (20 bis 22°) im Schüttelapparat hielt, während Leuchs dieselben 24 Stunden im

Brutschrank von 60° und dann ebenfalls 48 Stunden im Schüttelapparat bei Zimmertemperatur beließ.

Es handelte sich für uns nun um folgende Fragen:

1. Liefern die nach Moreschi hergestellten Extrakte in der Tat nicht bessere Resultate, als man sie bei Verwendung einer Suspension von Vollbakterien erzielt?

2. Sind die Leuchsschen Extrakte den Moreschischen und damit auch den Vollbakteriensuspensionen in ihrer Wirksamkeit überlegen?

Zu ihrer Beantwortung stellten wir uns Suspensionen und Extrakte aus Typhusbazillen nach folgenden verschiedenen Methoden dar. Eine Anzahl Kollescher Schalen wurde mit Typhusbazillen beimpft und die nach 24stündiger Bebrütung bei 37° gewachsene Kulturmasse mit je 5^{cem} destillierten Wassers abgeschwemmt. Sämtliche Aufschwemmungen wurden in ein Kölbchen zusammengegossen, durch längeres Schütteln gut gemischt, und diese Mischaufschwemmung dann zu gleichen Teilen (je 20^{cem}) in je fünf verschiedene Kölbchen aus schwarzem Glas verteilt. Nach Verschuß mit Gummikappen wurde

Kölbchen I sofort in den Eisschrank gesetzt, wo es 48 Stunden ruhig stehen blieb,

Kölbchen II 6 Stunden bei Zimmertemperatur ruhig gehalten und 42 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt,

Kölbchen III 6 Stunden bei 37° ruhig gehalten und 42 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt,

Kölbchen IV 6 Stunden bei 60° ruhig gehalten und 42 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt,

Kölbchen V 24 Stunden bei 60° ruhig gehalten und 24 Stunden bei Zimmertemperatur geschüttelt.

Nach diesen Prozeduren überzeugten wir uns durch Messung des Inhaltes sämtlicher Kölbchen, daß nicht etwa durch ungleichmäßige Verdunstung die Flüssigkeitsmenge in einem oder dem anderen Kölbchen abgenommen habe und versetzten darauf jede der fünf Aufschwemmungen bis zu einem Gehalt von 0.5 Prozent mit Phenol. Der Inhalt von Kölbchen II bis V wurde darauf gleichzeitig und gleichlang in ein und derselben Zentrifuge bis zu völliger Klarheit zentrifugiert.

Es resultierten somit eine Bakteriensuspension (Kölbchen I) und vier verschiedene Extrakte (Kölbchen II bis V), hergestellt aus dem gleichen Ausgangsmaterial, die auf ihre komplementbindenden Fähigkeiten mit Hilfe eines vom Kaninchen stammenden, inaktivierten Typhusimmunserums gleichzeitig geprüft wurden, indem zu gleichbleibenden Mengen Serum (0.1) fallende Mengen Suspension bzw. Extrakt gesetzt wurden. Nachstehende Tabelle I soll die hierbei erzielten Resultate veranschaulichen.

Tabelle I.

Kaninchen- Typhus- immunserum	Typhusbazill- suspension bzw. Extrakt	Resultat bei Verwendung von				
		Bazillen- suspension	Extrakt I	Extrakt II (Moreschi)	Extrakt III	Extrakt IV (Leuchs)
0.1	0.01	0 (kompl. Hemmung)	0 (kompl. Hemmung)	0 (kompl. Hemmung)	0 (kompl. Hemmung)	0 (kompl. Hemmung)
0.1	0.002	große Kuppe	gr. Kuppe	große Kuppe	"	"
0.1	0.001	Kuppe	fast kompl. gelöst	Kuppe	0 (Spur gelöst)	"
0.1	0.0005	kleine Kuppe	kompl. gelöst	kleine Kuppe	große Kuppe	0 (Spur gelöst)
0.1	0.0003	fast komplett gelöst	"	kompl. gelöst	Kuppe	"
0.1	0.00025	kompl. gelöst	"	"	kleine Kuppe	große Kuppe
0.1	0.0002	"	"	"	fast k. gelöst	Kuppe
0.1	0.00016	"	"	"	kompl. gelöst	"
0.1	0.00014	"	"	"	"	kleine Kuppe
0.1	0.00012	"	"	"	"	"
0.1	0.00011	"	"	"	"	fast k. gelöst
0.1	0.0001	"	"	"	"	kompl. gelöst
—	0.02	fast k. gelöst	"	"	"	"
—	0.01	kompl. gelöst	"	"	"	"
0.2	—	k o m p l e t t g e l ö s t				
0.1	—	desgl.				

Wir können nach den hier wiedergegebenen Versuchsergebnissen die ungünstigen Ergebnisse Moreschis völlig verstehen. Auch uns ist es nicht gelungen, mit dem nach seiner Vorschrift hergestellten Extrakt bessere Erfolge zu erzielen, als bei Verwendung einer Suspension von Vollbakterien. Die Vollbakteriensuspension gibt mit unserem Typhusimmunserum komplette Komplementbindung noch in einer Menge von 0.01^{ccm} entsprechend 0.12 Normalösen. Die gleiche Menge 0.01^{ccm} (entsprechend 0.12 Normalösen) stellt auch für Extrakt II (Moreschi) die Minimaldosis zur Erzielung kompletter Hemmungen dar. Ähnlich den beiden vorgenannten Reagentien, vielleicht noch etwas schwächer, verhält sich Extrakt I (hergestellt bei Zimmertemperatur). Die letzten Spuren einer Reaktion ergaben bei diesen drei Reagentien die Mengen:

0.0003^{ccm} (= 0.0036 N.Ö.) Bazillenemulsion = fast komplett gelöst.
0.001^{ccm} (= 0.012 N.Ö.) Extrakt I = fast komplett gelöst.
0.0005^{ccm} (= 0.006 N.Ö.) Extrakt II (Moreschi) = kleine Kuppe.

Wurde dagegen die Extraktion der Typhusbazillen auch nur kurze Zeit (6 Stunden) bei einer Temperatur von 60° bewerkstelligt, so zeigte sich die Wirksamkeit eines derartigen Extraktes bereits erhöht. Durch 24stündige Extraktion bei 60° ließ sich der Titer noch weiter hinauschieben. Vergleichen wir die mit Extrakt II (6 Stunden bei 37°) erzielten Resultate mit denen der Extrakte III (6 Stunden bei 60°) und IV (24 Stunden bei 60°), so ergeben sich für die kompletten Hemmungen, sowie für die letzten Spuren einer Komplementbindung folgende Zahlen:

Extrakt	Komplette Hemmung	Inkomplette Hemmung
II. (Moreschi)	0.01 ^{cem} = 0.12 N.-Ö.	0.0005 ^{cem} = 0.006 N.-Ö.
III.	0.001 „ = 0.012 „	0.0002 „ = 0.0024 „
IV. (Leuchs)	0.0003 „ = 0.0036 „	0.00011 „ = 0.0013 „

Demnach gelingt es durch eine 24stündige Extraktion bei 60°, reaktionsfähige Stoffe in Lösung überzuführen, welche im intakten Vollbakterium für die Reaktion nicht zur Verfügung stehen und welche durch Extraktion bei Zimmertemperatur oder bei 37° nicht in der gleichen Menge in Lösung zu bringen sind. Die Bakteriensuspension hat gegenüber den Extrakten außerdem den Nachteil, daß sie, wie die Kontrollen der Tabelle I zeigen, für sich allein in stärkerem Maße Komplement bindet als letztere. Die nach unserer Vorschrift hergestellten Extrakte bieten somit in der Tat Vorteile vor den Bakteriensuspensionen einerseits und den nach der Moreschischen Methodik gewonnenen Extrakten andererseits.

Die Dauer von 24 Stunden scheint für die Extraktion bei 60° das Optimum darzustellen. In einer zweiten Versuchsreihe, in welcher wir Moreschischen, ferner einen durch 24stündiges und einen dritten durch 48stündiges Erhitzen auf 60° hergestellten Extrakt gegenüber ein und demselben Kaninchenserum prüften, konnten wir einen Unterschied in der Wirksamkeit zwischen den Extrakten 2 und 3 nicht feststellen.

Ob erhöhte Temperaturen das wirksamste Extraktionsmittel darstellen oder ob nicht vielleicht durch Auflösung der Bakterien mit Chemikalien noch wirksamere Extrakte zu erzielen wären, muß einstweilen dahingestellt bleiben.

Wenden wir uns nunmehr zur Besprechung unserer Versuche mit menschlichen Seris. Wir haben insgesamt Sera von 21 Typhuskranken bzw. Rekonvaleszenten und von 10 Gesunden bzw. anderweitig Erkrankten (meist Syphilitikern) untersucht.

Die Versuchstechnik blieb im allgemeinen dieselbe, wie sie in der Arbeit von Leuchs (4) ausführlich angegeben ist. Sie sei hier kurz wiederholt.

Die Sera, welche durch Blutentziehung mittels steriler Lüerscher Spritze aus der Armvene gewonnen waren, wurden sofort nach der Gewinnung eine halbe Stunde bei 56° inaktiviert, um womöglich noch am gleichen Tage, spätestens aber am folgenden auf ihre komplementbindenden Fähigkeiten untersucht zu werden. Da wir anfangs einigemal beobachtet hatten, daß bei Blutentnahme nach einer der Hauptmahlzeiten die Sera schon für sich allein in geringen Mengen (0.1 bis 0.2^{cem}) Komplementbindung verursachten (offenbar wegen ihres starken Fettgehaltes), so achteten wir in der Folgezeit darauf, daß die Blutentnahme möglichst bei nüchternem Zustand der Patienten ausgeführt wurde. Wir konnten derart richtig entnommene und vorbehandelte Sera selbst in Mengen von 0.4^{cem} für unsere Versuche in Anwendung bringen, da die doppelte Menge (0.8^{cem}) für sich allein noch keine Hemmung der Hämolyse erkennen ließ. Allerdings sahen wir von der Anwendung solch großer Serummengen keinen Vorteil, da Sera mit positiver Reaktion gewöhnlich schon in der Menge von 0.1^{cem} hinreichend deutliche Ausschläge zeigten, während andererseits Sera von klinisch sicheren Typhusfällen, welche die Reaktion nicht gaben, auch in Mengen von 0.4 und mehr Kubikzentimetern Komplementbindung nicht wahrnehmen ließen. Da die meisten menschlichen Sera eine geringere oder stärkere, natürliche Fähigkeit, Hammelblutkörperchen aufzulösen, besitzen, so könnte durch Summation des künstlichen, in unseren Versuchen zur Anwendung gelangenden Hämolysins zu dem natürlichen der menschlichen Sera, eine zu starke hämolytische Kraft resultieren, welche eine schwache Verankerung des Komplements an den bakteriellen Antikörper wieder zu zerreißen in der Lage sein könnte. Es wäre demnach nicht undenkbar, daß in den eben erwähnten negativen Fällen, eine tatsächlich vorhanden gewesene, aber schwache Reaktion, namentlich bei Verwendung größerer Serummengen durch diesen Vorgang verdeckt würde. Wir haben in einigen derartigen Fällen versucht, allein mit dem natürlichen Hämolysin der menschlichen Sera unter Weglassung des künstlichen, die Reaktion in Erscheinung treten zu lassen, was uns auch in der Tat gelang. Da jedoch hierbei die Resultate bezüglich der Kontrollen nicht immer eindeutige waren, so konnten wir diese Versuche nicht verwerten. Einen anderen Weg, der uns zur Umgehung dieser Schwierigkeit noch offengestanden wäre, nämlich die Verwendung einer Blutkörperchenart, auf welche menschliches Serum sicher nicht hämolytisch wirkt, haben wir nicht beschritten.

Zur Extrakt Darstellung wurden mit Typhusbazillen beimpfte, 24 Stunden bebrütete Kollesche Schalen mit je 5^{cem} destillierten, sterilisierten

Wassers abgeschwemmt, diese Aufschwemmung 24 Stunden bei 60° C. und alsdann 48 Stunden bei Zimmertemperatur im Schüttelapparat belassen, darauf bis zu völliger Klarheit zentrifugiert. Die klare Flüssigkeit wurde vom Sediment abgegossen, bis zu einem Gehalt von 0.5 Proz. mit Karbolsäure versetzt und durch Überimpfen auf Agar und Bouillon bezüglich ihrer Sterilität geprüft. — Während wir im Anfang unserer Versuche gewöhnlich mit Extrakten, die aus einem Typhusstamm hergestellt waren, gearbeitet hatten, benützten wir späterhin solche, welche aus mehreren (3 bis 4) Typhusstämmen gewonnen waren, also polyvalente Extrakte. Da wir jedoch vergleichende Versuche nicht angestellt haben, können wir nicht sagen, ob diese polyvalenten Extrakte gegenüber den monovalenten die vorausgesetzten Vorteile in der Tat besitzen. — Wir setzten stets zu gleichbleibenden Mengen Extrakt fallende Mengen Serum. Die Extrakte wurden in Vorversuchen auf ihre hemmenden Eigenschaften für sich allein geprüft. Für den Hauptversuch kam die Hälfte derjenigen Menge, die für sich allein eben keine Hemmung mehr erkennen ließ, in Anwendung. — Einige Sera von Typhuspatienten wurden auch gegenüber Paratyphus B-Bazillenextrakt geprüft, bezüglich dessen Herstellung und Anwendungsweise, die gleichen Vorschriften, wie für die Typhusbazillenextrakte Geltung haben.

Als Komplement diente uns frisches Meerschweinchenserum in einer Verdünnung 1:10.

Nach Vermischung der drei Reagentien: Patientenserum, Typhusbazillenextrakt und Komplement, kam der Versuch für 1 Stunde in den Brutschrank von 37°.

Zum Schluß folgte Versetzen mit hämolytischem Serum in der doppelt komplett lösenden Dosis (vom Kaninchen gewonnen) und mit je 1^{cem} einer fünfprozentigen Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen in physiologischer Kochsalzlösung.

Es sei hier nochmals hervorgehoben, daß jede Verdünnung der fünf Reagentien in je 1^{cem} enthalten sein muß, so daß jedes derselben mit 1^{cem} an der Mischung beteiligt ist. Bei den Kontrollen sind in Wegfall kommende Reagentien durch je 1^{cem} physiologischer Kochsalzlösung zu ersetzen. Jedes Röhrchen hat somit 5^{cem} zu enthalten.

Es würde die Arbeit zu umfangreich gestalten, wollten wir an dieser Stelle sämtliche Versuchsprotokolle ausführlich wiedergeben. Wir legen daher in folgender Tabelle II je ein Protokoll über die Komplementbindung eines Serums von einem Typhuskranken und eines zweiten von einem Sepsiskranken als Beispiel ausführlich vor. Im übrigen aber begnügen wir uns bei den einzelnen Fällen mit einem kurzen Auszug aus der Krankengeschichte und verzeichnen die mit der Komplementbindung erzielten Versuchsergebnisse einfach als:

„stark positiv“ (0.02^{cem} oder weniger Serum ergeben noch komplette Hemmung);

„positiv“ (0.2 oder 0.1^{cem} Serum ergeben noch komplette Hemmung);

„schwach positiv“ (komplette Hemmungen sind nicht zu erzielen);

„negativ“ (zu den negativen Fällen haben wir auch alle die gerechnet, welche einen Grad der Komplementbindung zeigten, den wir mit „kleine Kuppe“ und „fast komplett gelöst“ bezeichnen).

Bezüglich der Agglutination möchten wir bemerken, daß wir als Titer diejenige Serumverdünnung anführten, bei der eben noch Zusammenklumpung zu erkennen war.

Tabelle II.

Prüfung der Sera von Typhuspatient K. C. (Fall 12) und von einem Sepsiskranken mit Hilfe der Komplementbindung gegenüber einem Typhusbazillenextrakt.

Mengen der		Resultat bei Verwendung von	
Sera	Extrakte	Typhuspatientenserum + Typhusbazillenextrakt	Sepsispatientenserum + Typhusbazillenextrakt
0.4	0.05	komplette Hemmung	komplett gelöst
0.2	0.05	„ „	„ „
0.1	0.05	„ „	„ „
0.02	0.05	„ „	„ „
0.01	0.05	große Kuppe	„ „
0.002	0.05	kleine Kuppe	„ „
0.001	0.05	fast komplett gelöst	„ „

K o n t r o l l e n :

0.8	} Typhus- bzw. Sepsisserum komplett gelöst.
0.4	
0.1	} Typhusbazillen-Extrakt „ „
0.05	

Fall 1. Otto B., 27 Jahre alt. Aufgenommen am 23. IX. 1907 mit Diphtherie. Hausinfektion mit Typhus, daher vom 1. K.-T. (14. X. 1907) in Beobachtung.¹ Durchfall. Palpabler Milztumor. Typhusbazillennachweis im Stuhl am 3. K.-T., im Blut am 4. K.-T. positiv. Ab 22. K.-T. fieberfrei. Am 5. XII. 1907 geheilt entlassen.

Agglutination: 4. K.-T. absolut negativ; — 10. K.-T. 1:70 schwach positiv; — 11. K.-T. 1:100 positiv; 16. K.-T. ebenso.

Komplementbindung: 4. K.-T. schwach positiv; — 10. K.-T. positiv; — 16. K.-T. ebenso.

¹ Die Krankheitstage, deren Kenntnis für den Ausfall der bakteriologischen und serologischen Untersuchungen von Interesse ist, sind in der Weise bestimmt worden, daß als erster derjenige Tag angenommen wurde, an dem die ersten Störungen des Allgemeinbefindens festzustellen waren. Nur in einigen Fällen waren wir genötigt, nach Krankheitswochen zu rechnen.

Fall 2. Klara Sch., 8 Jahre alt. Aufnahme am 28. X. 1907 (6. K.-T.). Durchfall. Starker Milztumor. Typhusbazillennachweis sowohl im Blut, als auch im Stuhl am 7. K.-T. positiv. Ab 32. K.-T. fieberfrei. Entlassen am 16. I. 1908.

Agglutination: 7. K.-T. 1:100 schwach positiv.

Komplementbindung: 7. K.-T. positiv.

Fall 3. Frieda Sch., 6 Jahre alt. Aufnahme am 28. X. 1907 (6. K.-T.), Schwester von Fall 2. Durchfall. Enormer Milztumor. Typhusbazillennachweis sowohl im Blut, wie auch im Stuhl am 7. K.-T. positiv. Wird in der 5. K.-W. fieberfrei. Am 16. I. 1908 geheilt entlassen.

Agglutination: 7. K.-T. 1:200 schwach positiv.

Komplementbindung: 7. K.-T. positiv.

Fall 4. Heinrich Kl., 27 Jahre alt. Aufnahme am 15. XI. 1907 (3. K.-T.). Starke Benommenheit. Roseola. Milz wenig vergrößert. Typhusbazillennachweis im Blut am 10. K.-T. positiv. Katarrhalische Pneumonie. Zunehmende Benommenheit. Bakteriämie (tropfenweis in Galle nachgewiesen). Exitus am 14. K.-T.

Agglutination: 8. K.-T. 1:100 schwach positiv; — 10. K.-T. 1:500 positiv; — 13. K.-T. 1:300 positiv.

Komplementbindung: 8. K.-T. positiv. — 13. K.-T. schwach positiv.

Fall 5. S., 20 Jahre alt. Aufgenommen am 20. II. 1908 (10. K.-T.). Mittelschwerer Fall. Erbsenbrühartige Stühle. Leib aufgetrieben. Milz perkutorisch vergrößert, nicht palpabel. Sehr ausgebreitete Roseola. Typhusbazillennachweis im Stuhl am 12. K.-T. positiv, im Blut negativ.

Agglutination: 10. K.-T. 1:10, 20, 50, 100 und 200 negativ. — 12. K.-T. 1:10 positiv. 1:20 nur mikroskopisch positiv. 1:50 und 100 negativ.

Komplementbindung: 10. K.-T. positiv. — 12. K.-T. schwach positiv.

Fall 6. Marie Z., 12 Jahre alt. Aufnahme am 7. X. 1907 (12. K.-T.). Starke Benommenheit. Roseola. Milztumor. Typhusbazillennachweis im Blut am 12. K.-T. positiv. Exitus am 18. K.-T.

Agglutination: 12. K.-T. 1:50 schwach positiv; — 14. K.-T. 1:50 schwach positiv. — 16. K.-T. 1:200 schwach positiv. — 17. K.-T. 1:50 positiv.

Komplementbindung: 12. K.-T. positiv. — 14. K.-T. positiv. — 16. K.-T. positiv (stärker als am 14. K.-T.). — 17. K.-T. positiv (schwächer als am 16. K.-T.).

Fall 7. August L., 33 Jahre alt. Aufnahme am 20. XI. 1907 (15. K.-T.) Stuhl angehalten. Milzdämpfung vergrößert. Roseola. Der Typhusbazillennachweis im Blut mißlingt sowohl am 15., wie am 20. K.-T. Leichter Krankheitsverlauf. Ab 33. K.-T. ohne Fieber. Geheilt entlassen am 7. I. 1908.

Agglutination: 15. K.-T. 1:50 positiv. — 20. K.-T. ebenso.

Komplementbindung: 15. K.-T. positiv. — 20. K.-T. schwach positiv.

Fall 8. Karl Kü., 31 Jahre alt. Aufnahme am 8. X. 1907 (14. K.-T.). Durchfälle. Milz palpabel. Leukozytenzahl 4300. Typhusbazillen sind im Blut weder am 15. noch am 28. K.-T. nachzuweisen. Leichter Krankheitsverlauf. Nach 31 tägiger Krankheitsdauer fieberfrei. Geheilt entlassen am 26. XI. 1907.

Agglutination: 15. K.-T. 1:150 positiv. — 19. K.-T. 1:50 positiv. — 28. K.-T. 1:200 positiv.

Komplementbindung: 19. K.-T. schwach positiv (0.2^{cem} Serum, kleine Kuppe). — 28. K.-T. positiv.

Fall 9. Ella Sch., 11 Jahre alt. Schwester von Fall 2 u. 3. Aufnahme am 2. X. 1907 (13. K.-T.). — Milztumor. Am 13. K.-T. Diazo positiv. Leukozytenzahl 2500. Typhusbazillennachweis im Blut am 14. K.-T. positiv, im Stuhl am 16. K.-T. negativ. 20. bis 25. K.-T. fieberfrei. Kurzdauerndes Rezidiv, vom 25. bis 38. K.-T. Ab 38. K.-T. dauernd fieberfrei. Geheilt entlassen am 4. XII. 1907.

Agglutination: 14. K.-T. 1:50 und 100 negativ. — 20. K.-T. 1:80 positiv. — 23. K.-T. 1:100 positiv.

Komplementbindung: 23. K.-T. positiv.

Fall 10. Karl Ka., 19 Jahre alt. Aufnahme am 27. IX. 1907 (14. K.-T.). Roseola. Milztumor. Katarrhalische Pneumonie. Ulcera im Pharynx. Diazo positiv (15. K.-T.). — Typhusbazillennachweis im Blut am 14. K.-T. positiv. Unter zunehmender Benommenheit erfolgt am 30. K.-T. der Tod.

Agglutination: 30. K.-T. negativ.

Komplementbindung: 30. K.-T. negativ.

Fall 11. Emma Pr., 30 Jahre alt. Aufnahme am 14. X. 1907 (9. K.-T.). Stuhl angehalten. Roseola. Milzvergrößerung. Diazo positiv (11. K.-T.). Bazillennachweis im Blut am 12. K.-T. negativ. Leukozytenzahl am 13. K.-T. 2800. Während der ganzen Krankheit nur leichtes Fieber. Ab 22. K.-T. normale Temperaturen. Vom 28. K.-T. ab Rezidiv. Dauernd fieberfrei ab 33. K.-T. Geheilt entlassen am 10. XII. 1907.

Agglutination: 11. K.-T. 1:200 positiv. — 30. K.-T. (2. Tag des Rezidivs) 1:100 schwach positiv.

Komplementbindung: 30. K.-T. (2. Tag des Rezidivs) schwach positiv.

Fall 12. Hermann C., 26 Jahre alt. Aufnahme 6. X. 1907 (9. K.-T.). Benommenheit. Roseola. Milztumor. Starke Bronchitis. Leukozytenzahl 4400. Diazo positiv. (9. K.-T.) Typhusbazillennachweis im Blut am 9. K.-T. positiv. Ab 25. K.-T. fieberfrei. Geheilt entlassen am 16. XI. 1907.

Agglutination: 11. K.-T. 1:100 positiv. — 33. und 44. K.-T. 1:200 positiv. — 46. K.-T. 1:300 schwach positiv.

Komplementbindung: 33. K.-T. positiv. — 44. K.-T. stark positiv. — 46. K.-T. stark positiv (siehe Tabelle II).

Fall 13. Emilie Ku., 36 Jahre alt. Aufnahme am 1. X. 1907 (14. K.-T.). Roseolen. Geringe Milzvergrößerung. Leukozytenzahl 3500. Diazo am 14. K.-T. positiv. Typhusbazillennachweis im Blut am 14. K.-T. positiv. 43. bis 45. K.-T. Temperaturabfall. Ab 46. K.-T. neue, langdauernde Fieberperiode. Ab 69. K.-T. fieberfrei.

Agglutination: 15. K.-T. 1:50 und 100 negativ. — 37. K.-T. 1:50 negativ. — 42. K.-T. 1:50 negativ (nach 24stündigem Stehen bei Zimmer-temperatur 1:100 schwach positiv); — 48. K.-T. 1:50 negativ, 1:100 schwach positiv. — 55. K.-T. 1:50 und 100 schwach positiv. — 70. K.-T. 1:200 positiv.

Komplementbindung: 37. K.-T. negativ. — 42., 48. und 55. K.-T. ebenso. — 70. K.-T. stark positiv.

Fall 14. Hermann N., 22 Jahre alt. Aufnahme am 18.IX. 1907 (7.K.-T.). Roseola. Typhusbazillennachweis im Blut am 7. K.-T. positiv. Am 27.K.-T. Rückkehr der Temperatur zur Norm. Ab 35. K.-T. Rezidiv. Ab 43. K.-T. dauernd fieberfrei. Geheilt entlassen am 16.XI. 1907.

Agglutination: 7. K.-T. 1:50 und 100 negativ. — 43. K.-T. 1:50 schwach positiv.

Komplementbindung: 43. K.-T. negativ.

Fall 15. Adolf Scha., 25 Jahre alt. Aufnahme am 20.XI. 1907 (3. K.-W.). Bei der Aufnahme schwer benommen. Milztumor. Erbsenbrüh-artiger Stuhl. Sowohl am Tag der Aufnahme, wie auch 4 Tage später verläuft der Züchtungsversuch von Typhusbazillen aus dem Blut negativ. 4 Tage nach der Aufnahme starke Darmblutung. Im weiteren Verlaufe Besserung. Wird in der 5. K.-W. fieberfrei. Geheilt entlassen am 1. XI. 1907.

Agglutination: In der 3. K.-W. negativ. — In der 5. und 7. K.-W. 1:50 positiv.

Komplementbindung: In der 7. K.-W. schwach positiv.

Fall 16. Ida N., 30 Jahre alt. Aufnahme am 11.IX. 1907 (3.K.-W.). Roseola. Milzvergrößerung. Diazo positiv. Der Typhusbazillennachweis gelingt in der 3. K.-W. im Blut nicht, dagegen im Stuhl durch Anreicherung auf Malachitgrünagar. Nach 7wöchentlicher Krankheitsdauer fieberfrei. Geheilt entlassen am 16.XI. 1907.

Agglutination: In der 9. Woche nach Beginn der Erkrankung 1:100 schwach positiv.

Komplementbindung: 9. K.-W. positiv.

Fall 17. Elisabeth M., 18 Jahre alt. Aufnahme am 15.IX. 1907 (7.K.-T.). Typhusbazillennachweis im Blut am 7.K.-T. positiv. Ab 27.K.-T. fieberfrei. Geheilt entlassen am 20.XI. 1907.

Agglutination: 7. und 12.K.-T. 1:50 und 100 negativ. — 64. Tag nach Beginn der Erkrankung 1:50 positiv (nach 24stündigem Stehen bei Zimmertemperatur 1:100 positiv).

Komplementbindung: 64. Tag nach B. d. E. schwach positiv.

Fall 18. Wilhelm M., 43 Jahre alt. Aufnahme am 3.IX. 1907 (17.K.-T.). Am 17. K.-T. Typhusbazillennachweis im Blut, sowie Diazo positiv. Langwieriger Verlauf, kompliziert durch Unterlappenpneumonie und ein schweres Rezidiv. Vom 63. K.-T. ab ohne Fieber. Geheilt entlassen am 11.I. 1908.

Agglutination: 66. T. n. B. d. E. 1:100 schwach positiv.

Komplementbindung: 66. T. n. B. d. E. positiv.

Fall 19. Robert O., 37 Jahre alt. Aufnahme am 12.VIII. 1907 (15.K.-T.). Schwer benommen. Roseola. Am 15.K.-T. Diazo positiv. Typhusbazillenzüchtung aus dem Blut am 15. und 48. K.-T. positiv. Ab 65. K.-T. fieberfrei. Geheilt entlassen am 1.XI. 1907.

Agglutination: 15. K.-T. 1:80 positiv. — 88. T. n. B. d. E. 1:300 schwach positiv.

Komplementbindung: 88. T. n. B. d. E. positiv.

Fall 20. Samuel R., 51 Jahre alt. Aufnahme am 29. X. 1907. Stirbt 6 Stunden nach der Aufnahme. Bei der Sektion finden sich Typhusgeschwüre im Ileum. Typhusbazillenzüchtung aus diesen Geschwüren positiv. Für Agglutination und Komplementbindung wird Serum von der Leiche benutzt.
Agglutination: 1:300 schwach positiv.
Komplementbindung: positiv.

Fall 21. Foge, 12 Jahre alt. Wurde wegen Verdachts, Typhusbazillenträger zu sein, aufgenommen. Während seines Aufenthaltes im Krankenhaus konnten im Stuhl Typhusbazillen nicht nachgewiesen werden.
Agglutination: 1:100 positiv.
Komplementbindung: positiv.

Wir verfügen somit über ein Material von 20 Typhuspatienten und einen Fall (Nr. 21), der unter dem Verdachte, Typhusbazillenträger zu sein, in das Krankenhaus aufgenommen worden war. Obwohl sich dieser Verdacht nicht bestätigte, so macht doch der positive Ausfall der Agglutinationsprobe es höchst wahrscheinlich, daß auch in diesem Falle eine Infektion mit den spezifischen Erregern des Typhus abdominalis vorausgegangen ist.

Bei drei von diesen 21 Fällen (Nr. 1, 2 und 3) war die Diagnose: Typhus abdominalis durch Züchtung der spezifischen Erreger sowohl aus dem Blut in Galleröhrchen, als auch aus dem Stuhl auf Drigalski- bzw. Malachitgrünplatten und durch den positiven Ausfall der Agglutinationsprobe sichergestellt. In neun Fällen (Nr. 4, 6, 9, 12, 13, 14, 17, 18 und 19), die insgesamt positiven Widal ergaben, wurde die Züchtung der Typhusbazillen nur aus dem Blut bewerkstelligt, während bei drei anderen Fällen (Nr. 5, 16 und 20) mit positivem Widal der Nachweis des Typhusstäbchens nur im Stuhl gelang. Bei negativem Ausfall der Agglutinationsprobe wurden Typhusbazillen nur im Blute gefunden in einem Fall (Nr. 10). In den fünf übrigen Fällen (Nr. 7, 8, 11, 15 und 21) konnte allein durch den positiven Verlauf der Agglutination die klinische Diagnose bestätigt werden.

Die Komplementbindung wurde bei diesen Patienten zu verschiedenen Zeiten der Krankheit bzw. der Rekonvaleszenz und zwar frühestens am vierten Krankheitstage, spätestens am 88. Tage nach Beginn der Erkrankung ausgeführt. Während bei 13 Patienten (Nr. 2, 3, 9, 10, 11, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 und 21) die Reaktion nur einmal bewerkstelligt wurde und zwar elfmal mit positivem Resultat, wurde in den übrigen acht Fällen (Nr. 1, 4, 5, 6, 7, 8, 12 und 13) mehrmals (2 bis 5mal) zu verschiedenen Zeiten untersucht, wobei in allen diesen letzteren Fällen die Reaktion mindestens einmal positiv ausfiel. Es gelang somit bei 19 von den 21 darauf hin untersuchten Personen mit Hilfe der Komplementbindung im Serum eine spezifische Reaktion zu erzielen.

Von den beiden Fällen, die als negativ geführt werden müssen, kam der eine (Nr. 10) nur einmal und zwar wenige Stunden vor Eintritt des Todes zur Untersuchung. Da in diesem Falle auch mit Hilfe der Agglutinationsprobe Antikörper gegen Typhusbazillen im Serum nicht nachzuweisen waren, so dürften solche bei diesem Patienten in der Zeit kurz vor dem Exitus überhaupt nicht in freier Form in den Körperflüssigkeiten vorhanden gewesen sein und kann somit der negative Ausfall der Komplementbindung nicht überraschen. Der zweite, hierher gehörige Fall (Nr. 14), der ebenfalls mit Hilfe der Komplementfixation nur einmal und zwar am ersten fieberfreien Tage nach einem Rezidiv untersucht wurde, ließ bei einer Serumverdünnung 1:50 schwache Agglutination erkennen, während die Komplementbindung absolut negativ ausfiel. Ob hierbei eine schwache Reaktion durch Massenwirkung des künstlichen und des natürlichen Hämolytins verdeckt wurde, können wir für diesen Fall nicht entscheiden, da wir es unterlassen haben, dieses Serum auf seine eigenen, lösenden Fähigkeiten für Hammelblutkörperchen zu untersuchen. Sehen wir von der hier angedeuteten Erklärungsmöglichkeit ab und nehmen wir an, das negative Resultat bestehe in diesem Falle ebenso zu Recht, wie in dem vorherwähnten, so kann dadurch der diagnostische Wert der Bindungsmethode keineswegs erschüttert werden. Der negative Ausfall der Komplementbindung spricht demnach nur, ebenso wie der des Widalschen Phänomens gegen eine stattgehabte Typhusinfektion. Wir möchten hier an die zuerst von Lichtheim (13) und Breuer (14) festgestellte und in der Folge von den verschiedensten Seiten bestätigte Tatsache erinnern, daß die Agglutinationsreaktion bei zweifellosen Typhen während des ganzen Verlaufes der Erkrankung fehlen, andererseits erst relativ spät (18. bis 40. Tag) in Erscheinung treten kann. Setzen wir gleiche Möglichkeiten für die Komplementfixation voraus, so ist es für Fall 14 nicht ausgeschlossen, daß spätere Untersuchungen, welche hier leider nicht möglich waren, noch positive Resultate geliefert hätten.

Ein Beispiel, daß auch bei der Komplementbindung ein derartiges spätes Auftreten der Reaktion in der Tat vorkommen kann, bietet uns von den mehrmals untersuchten Patienten Fall 13. Derselbe wurde zweimal während der ersten fieberhaften Periode am 37. und 42. Krankheitstag, ein drittes und viertes Mal während einer zweiten Fieberperiode am 48. und 55. Krankheitstag mit stets absolut negativem Resultat einer Prüfung unterzogen, um erst am 70. Krankheitstag, dem zweiten fieberfreien Tag, stark positive Reaktion zu zeigen. Bezüglich ihrer agglutinierenden Eigenschaften verhielten sich die verschiedenen Serumproben sehr schwankend. Das am 37. Krankheitstag entnommene Serum agglutinierte Typhusbazillen überhaupt nicht, dasjenige vom 42. Krankheitstag

ließ bei der gewöhnlichen Beobachtung nach zweistündigem Aufenthalt bei 37° nur in der Verdünnung 1:50 schwache Agglutination erkennen, nach 24stündiger Aufbewahrung bei Zimmertemperatur agglutinierte jedoch auch die Verdünnung 1:100. Am 48. Krankheitstag fand sich Agglutination in dem Röhrchen mit der Verdünnung 1:100, während bei der Verdünnung 1:50 sich eine Hemmung der Reaktion geltend machte. Die Serumprobe des 55. Krankheitstages gab bis zu einer Verdünnung 1:100 noch schwache Agglutination. Aber erst bei dem Serum des 70. Krankheitstages fand sich die Agglutination deutlich und stark ausgeprägt und zwar bis zu einer Verdünnung 1:200. Auch in diesem Falle ist somit Agglutination, wenn auch nur schwache, zu einer Zeit zu verzeichnen, wo die Komplementbindung noch durchaus negativ ist. Die Prüfung des am 55. Krankheitstag gewonnenen Serums auf eigene hämolytische Fähigkeiten gegenüber Hammelblutkörperchen ergab nun, daß die Menge von 0.2^{cem} dieses Serums die in unseren Versuchen zur Verwendung gelangte Menge von Blutkörperchen (1^{cem} einer fünfprozentigen Aufschwemmung) ohne Zusatz eines künstlichen hämolytischen Serums noch fast komplett löste, während 0.1^{cem} nur eine „Kuppe“ ungelöst ließ. Geringe Verankerungen von Komplement, wie sie nach dem Ausfall der Agglutination für die ersten vier Serumproben vorauszusetzen wären, könnten somit in diesem Falle sehr wohl durch den Überschuß an hämolytischer Kraft wieder zerrissen und dadurch die negativen Reaktionen nur vorgetäuscht worden sein. Wie dem auch sein möge, deutliche und einwandfreie Reaktionen waren bei diesem Patienten sowohl mit der Agglutination, als auch mit Hilfe der Komplementbindung auf alle Fälle erst in relativ später Zeit zu erzielen.

Von den übrigen sieben mehrmals mit Hilfe der Komplementfixation untersuchten Patienten interessieren hauptsächlich Fall 1 und 5. Dieselben bieten uns im Gegensatz zu den eben besprochenen Fällen Beispiele, daß die Komplementbindung positive Resultate geben kann zu einer Zeit, wo die Agglutination noch negativ ausfällt. Hirschfeld hat bereits drei analoge Fälle beschrieben. Von drei Patienten mit negativem Widal ergab der eine am 9., der zweite am 10. und der dritte am 16. Krankheitstage positiven Ausfall der Komplementbindung. In allen diesen Fällen wurde im weiteren Verlauf der Erkrankung auch die Agglutination positiv. Bei unseren Patienten ergab in Fall 1 die erstmalige Untersuchung am vierten Krankheitstage schwach positive Komplementfixation, während die Agglutinationsprobe absolut negativ ausfiel; am 10. Krankheitstage konnten wir positive Komplementbindung und nunmehr auch schwach positive Agglutination bis zu einer Serumverdünnung von 1:70 feststellen. Am 16. Krankheitstage war ein ähnliches Resultat zu verzeichnen, wobei die

Komplementverankerung etwas stärker, die Agglutination aber deutlich stärker noch in einer Verdünnung 1 : 100 in Erscheinung trat. Fall 5 lieferte am 10. Krankheitstage positive Komplementbindung bei völlig negativer Agglutination. Am 12. Krankheitstage wurde die Gruber-Widalsche Reaktion bis zu einer Serumverdünnung 1 : 20 positiv, während das Resultat der Komplementfixation als schwach positiv verzeichnet werden mußte. Wir können somit den drei Fällen Hirschfelds zwei neue an die Seite stellen und erachten dadurch seine These, daß die Komplementbindung unter Umständen die Diagnose sichern kann, wenn die Widalsche Reaktion noch versagt, weiterhin erhärtet. Die übrigen von uns relativ frühzeitig untersuchten Fälle, so Fall 2 und 3 am 7., Fall 4 am 8., Fall 6 am 12. und Fall 7 am 15. Krankheitstag ergaben zu dieser Zeit immer auch schon positiven Widal, so daß sie zur Entscheidung der praktisch wichtigen, jedoch einstweilen unserer Ansicht nach noch offenen Frage, ob die Komplementbindung stets in früherer Zeit der Erkrankung in Erscheinung tritt als die Widalsche Reaktion, nicht zu verwerfen sind.

Der Rest der mehrmals untersuchten Patienten ergab stets sowohl positive Komplementbindung, als auch positive Agglutination, so Fall 4 zweimal am 8. und 13., Fall 6 viermal am 12., 14., 16. und 17., Fall 7 zweimal am 15. und 20., Fall 8 zweimal am 19. und 28., Fall 12 dreimal am 43., 44. und 46. Krankheitstag.

Es kamen somit von 21 mit Typhus infizierten oder infiziert gewesenen Personen insgesamt 36 Serumproben mit der Komplementbindungsmethode zur Untersuchung. Positives Resultat wurde 30mal erzielt, während sechs Serumproben keine Hemmung der Hämolyse zeigten. Von den insgesamt 36 Serumproben wurden 24 (19 = 79 Proz. mit positiver, 5 = 21 Proz. mit negativer Reaktion) zwölf Personen¹ während der fieberhaften Periode der Erkrankung entnommen. Nur eine davon (positiv) stammte aus der Zeit eines Rezidivs. Die übrigen 12 Serumproben (11 = 92 Proz. mit positiver, 1 = 8 Proz. mit negativer Reaktion) sind von zehn Personen¹ während der fieberfreien Rekonvaleszenz gewonnen worden.

Unterziehen wir die einzelnen Reaktionen bezüglich ihrer Stärke einem Vergleich, so finden wir bei den 19 positiven, während der fieberhaften Periode entnommenen Serumproben 6mal die Reaktion mit „schwach positiv“, 13mal mit „positiv“ verzeichnet, bei den 11 in der Rekonvaleszenz gewonnenen positiven Serumproben dagegen 2mal mit „schwach positiv“, 6mal mit „positiv“ und 3mal mit „stark positiv“.

¹ Ein Patient wurde während der fieberhaften Periode und in der Rekonvaleszenz untersucht und ist daher in dieser Zusammenstellung doppelt aufgeführt.

Für die Entscheidung der Frage, ob die das Phänomen der Komplementbindung auslösenden Antikörper identisch mit den Agglutininen bzw. Präcipitinen oder mit den bakteriolytischen Ambozeptoren sind, oder aber ob sie neue, bisher nicht gekannte Körper darstellen, sind unsere Versuche nicht geeignet. Ganz im allgemeinen betrachtet, ist in der Mehrzahl der Fälle allerdings ein gewisser Parallelismus zwischen der Stärke der Komplementbindung und der Höhe des Agglutinationstiters nicht zu verkennen. Namentlich entsprechen in den mehrmals untersuchten Fällen (mit Ausnahme von Fall 4, 5 und 7) einem Steigen oder Fallen der Komplementbindungskurve analoge Schwankungen in der Agglutinationskurve. Es scheint uns jedoch nicht zulässig, aus dieser Erscheinung auf die Identität der diese beiden Vorgänge auslösenden Substanzen einen Schluß ziehen zu wollen.

Vier Serumproben, je eine von den Fällen 4 und 7, zwei von Fall 12 stammend, wurden auch gegen Extrakt aus Paratyphus B-Bazillen mit Hilfe der Komplementbindung geprüft. Sie zeigten alle auch mit diesem Extrakt bis zu einer gewissen Verdünnung teils komplette, teils inkomplette Hemmung der Hämolyse. Niemals jedoch ergaben stärkere Verdünnungen der Sera, die mit dem homologen Extrakt noch ausgesprochene Komplementbindung erkennen ließen, mit dem Paratyphus B-Bazillenextrakt positive Resultate.

Die zehn von Gesunden bzw. anderweitig erkrankten Personen (meist Syphilitikern) stammenden Sera ergaben stets, selbst wenn sie in Mengen von 0.4^{cem} gegenüber Typhusbazillenextrakt geprüft wurden, komplette Hämolyse. Zwei dieser Patienten erschienen zur Zeit als ihre Sera mit Hilfe der Komplementbindung untersucht wurden, klinisch als typhusverdächtig. Die Reaktion verlief bei beiden vollkommen negativ. Im weiteren Verlaufe der Erkrankung wurde die klinische Diagnose bei dem einen auf Sepsis, bei dem anderen auf nicht spezifischen, fieberhaften Darmkatarrh richtig gestellt.

Auf Grund der vorstehend mitgeteilten Befunde kommen wir zu folgenden Schlußfolgerungen:

1. Die Komplementbindungsmethode ergibt auch in menschlichen Seris bei Typhus eine für die Diagnose verwertbare Reaktion.
2. Diese Reaktion ist ebenso wie die Agglutination, wenn auch nicht absolut, so doch relativ spezifisch (Gruppenreaktion).
3. Sie kann unter Umständen bei frischen Fällen früher auslösbar sein als die Agglutination.
4. Der positive Ausfall der Reaktion berechtigt zur Diagnose Typhus, während der negative nicht gegen eine Infektion mit Typhus spricht.

Was nun die praktische Verwendbarkeit der Komplementbindungsmethode zum Nachweis einer Typhuserkrankung beim Menschen anlangt, so geben wir uns in dieser Beziehung keinerlei weitgehenden Illusionen hin. Wir besitzen in der Agglutination und namentlich in der Züchtung des spezifischen Erregers aus dem Blut derart einfache Methoden, daß sie wohl kaum durch die komplizierte Technik der Komplementbindung zu verdrängen sein werden. Selbst dann nicht, wenn sich durch umfangreichere Untersuchungen von möglichst frischem Material beweisen lassen würde, daß mit Hilfe der Komplementbindung beim menschlichen Typhus stets früher positive Ausschläge zu erzielen sind als mit der Agglutination. Es dürfte sich hierbei doch meist nur um einen Unterschied von 24 Stunden handeln.

Wir wollen also mit der vorliegenden Arbeit keineswegs die Komplementbindungsmethode für die praktische Typhusdiagnose empfehlen. Zweck dieser Arbeit ist vielmehr lediglich der rein wissenschaftliche, die Möglichkeit des Nachweises von spezifischen Antikörpern mit Hilfe der in der Komplementbindung gegebenen neuen Versuchstechnik auch für den menschlichen Typhus zu beweisen.

Literatur-Verzeichnis.

1. Bordet et Gengou, *Annales de l'Institut Pasteur*. 1901. T. XV. p. 289.
— Gengou, *Ebenda*. 1902. T. XVI.
2. Wassermann und Bruck, *Med. Klinik*. 1905. Nr. 55.
3. Moreschi, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1906. Nr. 38. S. 1243.
4. Leuchs, *Ebenda*. 1907. Nr. 3 u. 4.
5. Hirschfeld, *Zeitschrift für klin. Medizin*. 1907. Bd. LXI. S. 281.
6. Posner, *Münchener med. Wochenschrift*. 1907. Nr. 26. S. 1309.
7. Moreschi, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1907. Nr. 38. S. 1204.
8. Wassermann und Leuchs, *Ebenda*. 1907. Nr. 49.
9. Neufeld und Hüne, *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XXV. S. 192.
10. Haendel, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1907. Nr. 49.
11. Braun, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1907. Nr. 48. S. 1535.
12. Ballner und Reibmayr, *Archiv für Hygiene*. 1908. Bd. LXIV. S. 113.
13. Lichtheim, *Deutsche med. Wochenschrift*. 1896. Nr. 32.
14. Breuer, *Berliner klin. Wochenschrift*. 1896. Nr. 47 u. 48.