II. Aus dem Institut für Infektionskrankheiten in Berlin. (Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Zur Serodiagnostik des Typhus abdominalis.¹⁾

Von Dr. W. Kollé, Assistenten am Institut.

Angeregt durch Beobachtungen, welche ich an dem Verhalten des Blutsersums einiger von mir genau untersuchter Typhusfälle während des Verlaufes der Krankheit gemacht habe, möchte ich etwas näher auf die Serodiagnostik des Typhus abdominalis eingehen, die seit den Angaben Widal's das Interesse weiterer ärztlicher Kreise erweckt hat. Die Thatsachen, auf welche sich die Serodiagnostik des Typhus stützt, mögen hier kurz, unter Berücksichtigung der historischen Entwicklung, mitgeteilt werden. In dem Blutsersum von Menschen und Thieren, welche mit Cholera- oder Typhusbakterien inoculiert sind oder eine natürliche Typhus- oder Cholerainfektion überstanden haben, treten gegenüber dem normalen Thier- und Menschenserum Unterschiede zu Tage, welche sich in einer spezifischen Einwirkung auf Cholera-, resp. Typhusbakterien zeigen. Diese spezifische Einwirkung erfolgt, wie zuerst für Cholera R. Pfeiffer, für Typhus R. Pfeiffer und der Verfasser nachwiesen, in zweifacher Weise, nämlich einmal im Thierkörper, andererseits im Reagenzglas. Im Thierkörper entfaltet das Immunserum infolge der in ihm enthaltenen spezifischen bactericiden Antikörper Schutzwirkung gegen die lebenden Infektionserreger, die unter seiner Einwirkung durch Vermittlung des Thierkörpers aufgelöst und zugrunde gerichtet werden, während antitoxische Eigenschaften in dem Cholera- und Typhusimmunserum gegenüber den in den Bakterien selbst enthaltenen spezifischen Giftstoffen nicht zu Tage treten. Im Reagenzglas üben die Immunsera auf hineingesäete Typhus- und Cholera-bakterien eine Wirkung aus, welche von Gruber und Durham sowie R. Pfeiffer und dem Verfasser gefunden und näher untersucht wurde. Diese Einwirkung der Immunsera auf die spezifischen Bakterien in vitro, welche unter dem Namen „Paralysinwirkung“ (R. Pfeiffer-Kollé) sowie „Agglutininwirkung“ (Gruber) bekannt geworden ist, erklärt aber nicht die Schutzkraft, welche ein derartiges Serum gegen die Typhusinfektion der Thiere ausübt. Im Gegentheil konnten R. Pfeiffer und der Verfasser zeigen, dass die Paralysinwirkung der Immunsera durch spezifische Stoffe bedingt ist, welche sich von den im Thierexperiment wirksamen, spezifisch bactericiden Stoffen trennen lassen, ja dass es Immunsera giebt, welche starke spezifische Schutzkraft gegen lebende Infektionserreger entfalten, ohne eine Spur mehr Paralysinwirkung zu entfalten, als normales Serum. Nachdem die Paralysinwirkung durch die Arbeiten R. Pfeiffer's, Vagedes' und des Verfassers als streng spezifisch dargethan war, konnte sie mit Erfolg zur Differentialdiagnose der Typhus- und Cholera-bakterien von anderen ihnen nahe stehenden Bakterienarten benutzt und empfohlen werden.

Nach allen diesen Thatsachen, wonach die so beschriebenen spezifischen Veränderungen nur im Blutsersum von thierischen oder menschlichen, der Einwirkung der betreffenden Bakterien ausgesetzten Organismen, dort aber zu einer gewissen Zeit stets sich finden, lag der Rückschluss nahe, die spezifische Veränderung der Blutfüssigkeit zur Diagnose der betreffenden spezifischen Krankheit nachträglich zu benutzen. Auf diese Möglichkeit, spezifische Blutveränderungen zur Diagnose einer Krankheit nachträglich zu benutzen, ist denn auch für Cholera zuerst von R. Pfeiffer, für Typhus von demselben und Verfasser schon vor Jahren hingewiesen worden.

Bei Anstellung derartiger Versuche sind indessen gewisse Cautelen nicht ausser Acht zu lassen und verschiedene Factoren für die Abschätzung der Reaction in Rechnung zu ziehen. In einer ausführlichen Arbeit konnten R. Pfeiffer und der Verfasser nämlich den Nachweis erbringen, dass die Virulenz der zu solchen Versuchen benutzten Culturen einen wesentlichen Factor für das Eintreten der „Reagenzglasreaction“ bildet. Bei Cholera-bakterien im speciellen liegt die Sache so, dass wenig virulente oder gar avirulente Culturen hundert- und mehrmal stärker als virulente Culturen durch ein und dasselbe Serum beeinflusst werden. Auch bei Typhusbakterien erweist sich die Intensität der Paralysinwirkung abhängig von der Virulenz der benutzten Culturen. Einen weiteren bei der Anstellung derartiger Versuche zu berücksichtigenden Umstand bildet die Thatsache, dass auch normales Serum in gewissen Grenzen bei hinein gesäeten Typhus- und Cholera-bakterien zur Häufchenbildung führt, welche sich in nichts von der durch das Immunserum erzeugten Reagenzglaswirkung unterscheidet. Bei Verdünnungen von 1:10 bringt auch manche normale Serumprobe die Typhusstäbchen zur Haufenbildung, zuweilen bei noch stärkeren Verdünnungen, 1:15 und weniger.

¹⁾ Nach einem in der Gesellschaft der Charité-Aerzte am 11. Februar d. J. gehaltenen Vortrage.

Diese untere Grenze der Reagenzglaswirkung kann sich bei wenig virulenten Culturen oder solchen, welche auf ungenügenden Nährböden gewachsen sind, noch steigern. Denn auch die Beschaffenheit des Nährbodens, die davon abhängige Lebensfähigkeit der Bacillen sind, wie ich hier besonders betonen möchte, von Wichtigkeit bei der Anstellung der Immunitätsreaction im Reagenzglas.

Es sind also, wie ich zusammenfassend hervorheben möchte, drei Cautelen bei allen Versuchen mit Immunserum im Reagenzglas, ebenso wie bei den Thierversuchen zu berücksichtigen: Virulenz der Culturen, Beschaffenheit der Nährböden und Controllversuche mit normalem Thier- oder Menschenserum. Bei Vernachlässigung dieser Cautelen kann man leicht zu folgenschweren Irrthümern gelangen, zumal dann, wenn nicht eine genaue Feststellung des unteren Grenzwertes der Reagenzglaswirkung des zu untersuchenden Serums vorgenommen wird.

Bezüglich der einzelnen Vorgänge, welche bei dem Phänomen der Paralysinwirkung zu beobachten sind, kann ich auf die Arbeit: „Weitere Untersuchungen über die spezifische Immunitätsreaction der Cholera-vibrionen im Thierkörper und Reagenzglas“ von R. Pfeiffer und W. Kollé (Centralblatt für Bacteriologie und Parasitenkunde Bd. XX) verweisen.

So stand die Lehre von der Cholera- und Typhusimmunität, als Widal in der Semaine médicale Juli 1896 die Mittheilung machte, dass bei Typhuskranken bereits in den ersten Krankheitstagen, von Beginn des Fiebers gerechnet, sich regelmässig die spezifischen Paralysinstoffe des Typhus durch ihre Wirkung auf Typhusbacillen im Reagenzglas nachweisen lassen. Widal gab an, dass ihr Vorhandensein im Serum ausschlaggebend für die Diagnose Typhus sei, während ihr Fehlen das Bestehen von Typhus bei dem betreffenden Patienten ausschliesse. Verfährt man nach den Vorschriften Widal's, so gestaltet sich die Prüfung des Blutes auf paralysinirende Stoffe folgendermaassen. Man entnimmt dem Kranken, dessen Blut untersucht werden soll, entweder Blut aus der Fingerkuppe, wobei man nur kleine Mengen erhält, oder man verschafft sich grössere Blutmengen durch Venaesection. Hat man nur kleinere Blutmengen zur Verfügung, so wird die Reaction so vorgenommen, dass 1 Tropfen Blut je 10 Tropfen Typhusbouillonculturen zugesetzt wird; bei Bereitschaft grösserer Blutmengen werden 8 Tropfen des abgeschiedenen Serums mit 4 ccm der Bouillonculturen gemischt. Im ersteren Falle kann die Reaction nur mikroskopisch im hängenden Tropfen verfolgt werden, während bei der zweiten Modification neben der mikroskopischen Untersuchung auch die makroskopische Beobachtung Platz hat. Wird in den so hergestellten Mischungen von Serum und Typhusbacillenculturen Häufchenbildung beobachtet, so wird nach Widal's Vorgang die Diagnose „Typhus abdominalis“ abgegeben.

Es fragt sich nun, ob die Serodiagnostik bei Typhus abdominalis, im speciellen nach Widal's Angaben ausgeführt, thatsächlich das leistet, was Widal von ihr für die Diagnose zu Beginn der Krankheit, wo die anderen diagnostischen Methoden im Stich lassen, namentlich auch für Fälle, bei denen sie negativ ausfällt, behauptet. Eine ganze Reihe von Autoren hat sich mit der Nachprüfung der Widal'schen Angaben beschäftigt. In diesen Arbeiten wird vielfach für die Serodiagnostik der Name „Widal'sche Reaction“ gebraucht, wodurch der Anschein erweckt wird, als ob neue auf die Wirkungsweise der Immunsera bezügliche, von Widal gefundene Thatsachen diese Art der Typhusdiagnose ermöglicht hätten. Aus den obigen, auf die historische Seite dieser Frage Rücksicht nehmenden Ausführungen ist es ersichtlich, dass Widal lediglich das Verdienst hat, zuerst die Benutzung der bereits bekannten serodiagnostischen Methoden ganz zu Beginn der Krankheit, wenn auf anderem Wege eine sichere Diagnose nicht möglich ist, zu empfehlen.

Nach meinen obigen Ausführungen kann es keinem Zweifel unterliegen, dass die wissenschaftliche Grundlage der Serodiagnostik des Typhus unanfechtbar ist und dass sie bei unzweideutig positiven Resultaten von grossem Nutzen sein kann. Zur Erzielung solcher unzweideutigen Resultate ist die Benutzung der oben angegebenen Cautelen, sowie die Heranziehung von Controllversuchen aber unerlässlich. In allen mir bekannten Arbeiten, welche sich auf die Serodiagnostik bei Typhus abdominalis beziehen, von Widal, Achard und Bensaude, Sicard, Dieulafoy, Catrin, Hausalter, Breuer, Haedke, C. Fränkel, Stern, Grünbaum ist nur von den drei letzteren theilweise auf die erwähnten Cautelen Rücksicht genommen. Diese drei Beobachter haben daher auch bezüglich der klinisch-diagnostischen Brauchbarkeit der Serodiagnostik bei weitem nicht so günstige Resultate erhalten, wie die übrigen Untersucher, die sich lediglich an die Vorschrift Widal's gehalten haben, ohne, wie z. B. Breuer, überhaupt über die Natur und Virulenz der zu ihren Versuchen benutzten Culturen orientirt zu sein.

Wichtig für die Beurtheilung der praktischen Verwerthbarkeit der Serodiagnostik und der Sicherheit der serodiagnostischen Reaction nicht minder, wie der Angaben Widal's scheinen mir nun folgende Untersuchungen zu sein, welche zwar kein grosses statistisch verwertbares Material, dafür aber zwei genau und wiederholt untersuchte Typhusfälle betreffen. Es handelte sich in beiden Fällen, welche auf der unter Leitung von Prof. Brieger stehenden Krankenabtheilung des Instituts für Infectionskrankheiten behandelt wurden, um fieberhafte Erkrankungen, welche klinisch kaum den Verdacht auf Typhus abdominalis erweckten. Da durch Ausschluss anderer Ursachen indessen der Vermuthung, es handle sich um Typhus, Raum gegeben wurde, so fand zunächst eine Untersuchung des Blutes auf spezifische Paralysinwirkung am 5., bezw. 6. Tage, von Beginn des Fiebers gerechnet, statt, unter Berücksichtigung aller oben genannten Cautelen und mit genauer Bestimmung der unteren Grenze der Reagenzglaswirkung. Das Resultat war, dass die Wirkungen des Blutserums die gleichen wie bei normalem Menschenserum waren. Auch bei Benutzung der Widal'schen Vorschrift konnte im hängenden Tropfen keine Häufchenbildung festgestellt werden. Dagegen gelang es in dem einen Fall (Buchholtz, Laboratoriumsdienner) Herrn Dr. Neufeld aus den Roseolen am 12. Krankheitstage, im anderen Falle Herrn Dr. Marx aus den Dejecten vermittels der Elsner'schen Methode am 11. Krankheitstage echte Typhusbacillen zu züchten.

Die Diagnose Typhus abdominalis war durch diese klinisch-bacteriologischen Befunde also über allen Zweifel erhaben. Die spezifischen Veränderungen des Serums stellten sich in beiden Fällen aber erst im Verlaufe der dritten Woche ein, und zwar im ersten Falle am 16., im zweiten am 17. Tage, vom Beginn des Fiebers gerechnet. Zugleich mit der Reagenzglaswirkung traten auch schützende Eigenschaften im Thierexperimente zu Tage. Die Untersuchung der Reagenzwirkung lag bei Verdünnungen von 1:40 im ersten Falle (Buchholtz), 1:30 im zweiten Falle, während der Titre der Serumproben im Thierexperiment 0,075, resp. 0,1 (gegen 0,5 und 0,6 zu Beginn der Krankheit) betrug. In der Reconvalescenz trat bei beiden Fällen eine Steigerung der Reagenzglaswirkung (bis zu $\frac{1}{300}$ resp. $\frac{1}{100}$) wie auch der Schutzwirkung im Thierexperiment (auf 0,06, resp. 0,075 ccm) auf. Gerade das Auftreten dieser spezifischen Veränderung gegen Ende der Krankheit und in der Reconvalescenz sind bemerkenswerth und absolut beweisend dafür, dass es sich in beiden Fällen um Typhus abdominalis tatsächlich gehandelt hatte. Es sei noch bemerkt, dass in beiden Fällen später die klinischen Symptome des Typhus abdominalis theilweise vorhanden waren (Milzschwellung, Roseola, Diazoreaction) und dass die Krankheit leicht verlief.

Diese Befunde beweisen also, dass in Typhusfällen, bei denen die Diagnose durch Auffinden der spezifischen Infectionserreger in den Roseolen, resp. den Dejecten im Laufe der zweiten Krankheitswoche gelang, die serodiagnostische Prüfung des Blutes in vitro bis zum Beginn der dritten Krankheitswoche erfolglos blieb und erst in der Reconvalescenz die nachträgliche Diagnose ermöglichte.

Ist hierdurch die Sicherheit, mit welcher man aus dem Vorhandensein oder Fehlen der Paralysinwirkung während der Krankheit Rückschlüsse für die Diagnose der Krankheit gemacht hat, nicht unerheblich in Frage gestellt, so ist das gleiche für die Benutzung der Serodiagnostik in vitro zur nachträglichen Diagnose zu sagen. Bei der Untersuchung von einer Anzahl Blutproben, welche Typhusreconvalescenten gelegentlich der intensiven Typhusepidemie in dem unweit Berlin gelegenen Städtchen Zehdenick in der zweiten bis vierten Woche der Reconvalescenz entnommen wurden, konnte Herr Prof. Pfeiffer, der mir diese Untersuchungsergebnisse gütigst zur Verfügung gestellt hat, nachweisen, dass bei einigen Blutproben die spezifische Paralysinwirkung in vitro fehlte, obwohl die gleichen Blutsera eine starke spezifische Schutzwirkung im Thierkörper entfalteten. Es liegen bei Typhusreconvalescenten die Verhältnisse also ähnlich, wie ich es früher bei cholerae inoculirten Menschen nachwies. Ich konnte hier zeigen, dass sich die spezifischen Paralysinstoffe im Gegensatz zur spezifisch-bacterioiden Schutzkraft des Serums, welche noch ein Jahr nach der Inoculation mit Choleravibrionen nachweisbar ist, schon nach drei Monaten im Serum nicht mehr finden, obgleich sie anfangs in starkem Maasse darin vorhanden waren.

Als Schlussfolgerungen aus diesen Beobachtungen möchte ich hervorheben, dass die Benutzung der spezifischen Paralysinwirkung des Blutes zu Beginn typhusverdächtiger Erkrankungen, worauf hingewiesen zu haben ein Verdienst Widal's ist, eine wichtige Bereicherung unserer diagnostischen Methoden ist. Fällt die Serodiagnose unter Berücksichtigung der oben angegebenen Cautelen unzweideutig positiv aus, d. h. liegt die genau festzustellende Grenze der Paralysinwirkung bei Dosen des Serums, wo sie nor-

males Serum nach allen bisherigen Erfahrungen nie zeigt, z. B. Verdünnungen von $\frac{1}{30}$ und weniger, so erlaubt sie einen sicheren Rückschluss auf die Krankheit. Bei negativem Ausfall der Serodiagnostik ist dagegen das Bestehen eines Typhus nicht ausgeschlossen. Die Art und Weise der Serodiagnostik, wie sie von Widal empfohlen ist, kann, da sie zu Irrthümern, namentlich bei Ungeübten, leicht Veranlassung geben kann, nicht empfohlen werden, sondern es ist die zwar zeitraubende, aber zuverlässigere genaue Titrirung der Serumproben in Bezug auf Paralysinwirkung dafür anzuwenden.