

Über die Fähigkeit des Tierkörpers polyvalente präzipitierende Sera zu erzeugen.

Von

Casimir Strzyzowski.

(Aus dem Universitäts-Laboratorium für forensische Blutuntersuchungen
an der medizinischen Fakultät in Lausanne.)

Der Redaktion zugegangen am 27. März 1910.)

Die von Bordet,¹⁾ Tschitowitsch¹⁾ und andern festgestellte Tatsache, daß bei subkutaner resp. intravenöser Einführung gewisser artfremder Eiweißkörper in den Tier- resp. Kaninchenorganismus spezifische Antikörper entstehen, welche auf das eingespritzte Protein fällend einzuwirken vermögen, bilden bekanntlich den Grundstein für das so überaus wertvolle biochemische Eiweißdifferenzierungsverfahren, dessen praktische Lösung und Einführung in die gerichtliche Blut- und Nahrungsmitteluntersuchung wir in erster Linie Uhlenhuth²⁾ zu verdanken haben.

Wie allgemein bekannt, bedarf die hierzu angewandte Methode eines hochwertigen Antiserums, welches uns der Kaninchenkörper liefert und das, von Verwandtschaftsreaktionen abgesehen, für das zur Vorbehandlung des Tieres gewonnene Eiweiß spezifisch zu sein hat d. h. nur diese Eiweißart präzipitieren darf, somit einwertig sein muß.

Anknüpfend an diese Tatsache schien es mir nicht uninteressant, die nachstehenden Fragen zu stellen und zu beantworten.

¹⁾ Annales de l'Institut Pasteur, Bd. XIII. 1899, und Bd. XIV. 1900.

²⁾ Uhlenhuth u. Weidanz, Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweißdifferenzierungsverfahrens mit besonderer Berücksichtigung der forensischen Blut- und Fleischuntersuchung, sowie der Gewinnung präzipitierender Sera. Fischer in Jena, 1909.

1. Liefert der Kaninchenorganismus infolge gleichzeitiger Einspritzung von 2 oder mehreren Seris verschiedener Art auch ein 2 oder mehrere adäquate Präzipitine enthaltendes Antiserum?

2. Wenn dem so wäre, sind die erzeugten Präzipitine unter sich äquivalent und eventuell eben so hochwertig, wie sie nach der Einspritzung eines einzigen Serums zu entstehen vermögen?

3. Haben mehrwertige präzipitierende Antisera Aussicht auf praktische Verwertung?

Zur Beantwortung der beiden ersten Fragen wurden zuvor 2 Versuche mit Menschen- und Rinderserum angestellt, die, wie ich es gleich sagen darf, positiv ausfielen und welchen ich hier nachstehend der leichteren Übersicht wegen ein aus den Protokollen entnommenes Ergebnis tabellarisch vorführe.

Vorangehen lassen will ich indessen noch, daß das fremdartige Serum den Tieren stets mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und mit 1 ccm 1%iger Atoxyllosung versetzt in die Ohrvene eingespritzt wurde. Dies geschah, um die Überempfindlichkeitserscheinungen etwas zu mildern und auch gleichzeitig dem Organismus mehr Resistenz zu erteilen.

Resumé. Aus dem folgenden Versuche I geht somit hervor, daß die 13 Einspritzungen von 34,5 ccm Menschenblutserum und 34,5 ccm Rinderblutserum in dem Kaninchenkörper die Bildung eines bivalenten spezifischen Antiserums bewirkten; dessen Bipräzipitine in dem vorliegendem Falle ungleichwertig waren¹⁾.

Dieser positive Ausfall berechnete wohl zu der Annahme, daß bei Einspritzung von 3 resp. 4 unter sich verschiedenen artfremden Seris der Kaninchenkörper mit der Bildung eines tri- resp. tetravalenten präzipitierenden Antiserums antworten würde. Als Beweis für die Richtigkeit dieser Voraussetzung mögen noch die folgenden Versuche ausgeführt werden.

¹⁾ In dem anderen, der Raumersparnis wegen hier nicht angeführten Versuche erzielte ich ein Antiserum mit gleichwertigen Bipräzipitinen, deren Fällungsvermögen noch in einer Menschenserumverdünnung 1:1000 eben so gut sichtbar war wie in einer Rinderserumverdünnung von derselben Stärke.

I. Versuch zur Bildung bivalenter Präzipitine

Kaninchen s. Reihe. A.	Gewicht des Kaninchen- in Grammen vor jeder Injektion	Zusammensetzung und Volumen der injizierten Serumflüssigkeit M-S = Menschenserum R-S = Rinderserum Atoxyl = 1%ige Lösung NaCl = 0.25%ige Lösung	Bemerkungen
1909 I 9. XI.	3170	M-S + R-S je 2.5 cem + Atoxyl 1 cem + NaCl 3	26. XI. 09. Blutentnahme aus der Ohrvene und Titerbestimmung des Serums nach der Methode von Uhlenhuth.
II 12. XI.	3260	M-S + R-S je 2.5 cem + Atoxyl 0.5 cem + NaCl 4	Verdünnung des Menschenserums Rinderserums 1:100 1:1000 1:100 1:1000
III 16. XI.	3340	M-S + R-S je 2.5 cem + Atoxyl 0.5 cem + NaCl 4	Verwandl. . . 1 cem 1 cem 1 cem 1 cem
IV 19. XI.	3290	M-S + R-S je 2.5 cem + Atoxyl 0.5 cem + NaCl 4	Zugesetztes Antiserum . . 0.1 „ 0.1 „ 0.1 „ 0.1 „
V 23. XI.	3090	M-S + R-S je 1.5 cem + Atoxyl 1 cem + NaCl 6	Resultat . . . + - + positiv negativ positiv negativ (bei Zimmertemperatur in 2-3 Minuten).
VI 26. XI.	2980	M-S + R-S je 2.5 cem + NaCl 5 cem + Atoxyl 1	2. XII. 09. Neue Blutentnahme und Titer- prüfung.
VII 30. XI.	2730	M-S + R-S je 2 cem + NaCl 6 cem + Atoxyl 0.5	Ergebnis: wie vorher.
VIII 3. XII.	2680	M-S + R-S je 2 cem + NaCl 6 cem + Atoxyl 1	9. XII. 09. Blutentnahme und Titerprüfung.
IX 7. XII.	2430	M-S + R-S je 1.5 cem + NaCl 9 cem + Atoxyl 1	Ergebnis: Das Antiserum opalesciert und gestattet keine genaue Titerstellung.
X 10. XII.	2520	M-S + R-S je 2 cem + NaCl 6 cem + Atoxyl 0.5	16. XII. 09. Blutentnahme und Serumprüfung.
XI 14. XII.	2430	M-S + R-S je 3 cem + NaCl 6 cem + Atoxyl 1	Menschenserum Rinderserum 1:100 1:1000 1:100 1:1000
XII 17. XII.	2520	M-S + R-S je 5 cem + NaCl 6 cem + Atoxyl 1	Resultat . . . + + + (?) + + + (?)
XIII 20. XII.	2480	M-S + R-S je 5 cem + NaCl 10 cem + Atoxyl 1	21. XII. 09. Letzte Blutentnahme und Serum- prüfung. Das Antiserum opalesciert ein wenig.
			Menschenserum Rinderserum 1:100 1:1000 1:100 1:1000
			Resultat . . . + + (?) + (?) + + (?) + (?)
			23. XII. 09. Das Tier, das sehr abgemagert ist und ca. 21.4% (= 690 g) an Körper- gewicht verlor, wird nach der Uhlen- huth'schen Methode entblutet und das ge- wonnene Serum steril filtriert und auf- bewahrt. Die Titerbestimmung ergab bei Zimmertemperatur in 3 Minuten ein noch bei den nachstehenden Serumverdün- nungen positives Resultat.
			Menschenserum 1:750. Rinderserum 1:1000.
			In anderen Seris kam niemals eine Bil- dung von Niederschlägen resp. Trübungen zur Beobachtung.

II. Versuch zur Bildung trivalenter Präzipline.

Kaninchen 4. Reihe. B. Nr. und Datum der Ohren- injektion	Gewicht des Kaninchens in Grammen vor jeder Injektion	Zusammensetzung und Volumen der injizierten Serumflüssigkeit (M-S = Menschenserum R-S = Rinderserum P-S = Pferdeserum Atoxyl = 1%ige Lösung NaCl = 0,85%ige Lösung)	Bemerkungen												
I. 3. XII. 09	2330	M-S + R-S + P-S je 2,5 ccm + NaCl 7 ccm + Atoxyl 1 ccm	<p>21. XII. 09. Blutentnahme und Tierprüfung nach Uhlen- buthscher Methodik.</p> <p style="text-align: center;">Verdünnung der Sera</p> <table style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr> <td>Menschenserum</td> <td>Rinderserum</td> <td>Pferdeserum</td> </tr> <tr> <td>1:100</td> <td>1:1000</td> <td>1:100</td> </tr> <tr> <td>1:1000</td> <td>1:100</td> <td>1:1000</td> </tr> <tr> <td>1:10000</td> <td>1:1000</td> <td>1:10000</td> </tr> </table> <p>Resultat . . . + + (?) + + (?) + + (?) + + (?)</p> <p>Auf eine genaue Titerstellung mußte wegen der geringen Serumopalescenz verzichtet werden. Die Injektionen werden während den Weihnachtsferien unterbrochen.</p> <p>30. XII. 09. Da das Tier hinkt, immer mehr abmagert und einzugehen droht (Körpergewichtsverlust: 755 g = 32,8%!), so wird es entblutet. Bei der Obduktion werden 2 sterile Eiterherde an den Oberschenkeln der Hinterbeine konstatiert. Die definitive Titerstellung des steril filtrierten Anti- serums ergab das nachstehende Resultat:</p> <p style="text-align: center;">Menschenserum Rinderserum Pferdeserum</p> <p style="text-align: center;">1:200 1:750 1:750</p>	Menschenserum	Rinderserum	Pferdeserum	1:100	1:1000	1:100	1:1000	1:100	1:1000	1:10000	1:1000	1:10000
Menschenserum	Rinderserum	Pferdeserum													
1:100	1:1000	1:100													
1:1000	1:100	1:1000													
1:10000	1:1000	1:10000													
II. 7. XII. 09	2300	M-S + R-S + P-S je 2,5 ccm + NaCl 12 ccm + Atoxyl 1 ccm													
III. 10. XII. 09	2430	M-S + R-S + P-S je 2,5 ccm + NaCl 12 ccm + Atoxyl 1 ccm													
IV. 14. XII. 09	2310	M-S + R-S + P-S je 3 ccm + NaCl 10 ccm + Atoxyl 1 ccm													
V. 17. XII. 09	2160	M-S + R-S + P-S je 4 ccm + NaCl 8 ccm + Atoxyl 1 ccm													
30. XII. 09	1575														

Resumé. Auch aus diesem Versuche geht zur Evidenz hervor, daß die Einführung dreier heterogener körperfremden Serumproteine in die Blutbahn des Kaninchens die Bildung eines spezifischen trivalenten Antiserums zustande bringt. Letzteres war in diesem Falle nicht hochwertig, was, abgesehen von der Individualität des Tieres, zum Teile vielleicht auch auf die geringe Anzahl der vorgenommenen Einspritzungen zurückzuführen ist. Im ganzen wurden 14,5 ccm Menschenblut-, 14,5 ccm Rinderblut- und 14,5 ccm Pferdeblutserum verspritzt. Auch hier war das Fällungsvermögen der erzielten Tripräzipitine ungleichwertig. ¹⁾

Tabelle III.

Resumé. Wie bei den vorgenannten Versuchen die Verwendung von 3 heterogenen Seris die Entstehung von dreierartigen Präzipitinen zur Folge hatte, so kam auch hier nach Einführung in den Kaninchenkörper von 104 ccm vier verschiedener Sera, die Bildung von einem Antiserum zustande, welches vierartige Präzipitine enthielt, deren Valenzen aber wie vorhin unter sich ungleich waren. Auffallend erscheint es bloß, daß hierbei die Minderwertigkeit speziell die das Menschenblut fällenden Präzipitine zu betreffen scheint, ohne daß es möglich wäre, hierfür eine plausible Erklärung zu finden. ²⁾

¹⁾ Dieselbe Beobachtung wurde auch bei einem anderen Kaninchen gemacht, das parallel und auf ganz analoge Weise vorbehandelt wurde. Dasselbe hatte nach einer gleichen Anzahl von Einspritzungen (5) an Körpergewicht (2780 g — 2670 g) bloß 110 g verloren. Da bei der Blutprobenentnahme ein opaleszierendes Antiserum erhalten worden ist, dessen Titer nicht bestimmt werden konnten, so wurde von einer weiteren Vorbehandlung dieses Tieres abgesehen. Nichtsdestoweniger magerte dasselbe weiter ab und, obgleich 16 Tage seit der letzten Einspritzung verstrichen waren, ging sein Körpergewicht auf 2300 g herab. Infolgedessen wird eine neue Titerbestimmung vorgenommen. Das diesmal erzielte Antiserum ist klar und wies die nachstehenden Fällungsgrenzen auf: a) für Menschenserum 1 : 300; b) für Rinderserum 1 : 1000 und c) für Pferdeserum 1 : 1000.

²⁾ Auch in 2 anderen angestellten Versuchen, welche auf die Erzeugung von Tetrapräzipitinen hinzielten, konnten, wie aus dem Nachstehenden zu ersehen ist, ähnliche Beobachtungen gemacht werden.

Der eine Versuch betraf ein schwarzes Kaninchen, welches inner-

III. Versuch zur Bildung tetravalenter Präzipitate.

Kaninchen 4. Reihe. B. Nr. und Datum der intra-venösen resp. subkutanen Einspritzung	Gewicht des Kaninchens in Gramm vor jeder Injektion	Zusammensetzung u. Volumen der injizierten Serumflüssigkeit (M-S = Menschenserum R-S = Rinderserum P-S = Pferdeserum S-S = Schweineserum Aloxyl = 1%ige Lösung NaCl = 0,85%ige Lösung)	Bemerkungen
I. 18. II. 10	2840	M-S + R-S + P-S + S-S je 5 ccm + Aloxyl 2 ccm + NaCl 18	Einspritzung in die Ohrvene.
II. 22. II. 10	2840	M-S + R-S + P-S + S-S je 5 ccm + Aloxyl 2 ccm + NaCl 18	Einspritzung unter die Bauchhaut.
III. 25. III. 10	2670	M-S + R-S + P-S + S-S je 5 ccm + Aloxyl 2 ccm + NaCl 18	Zur Hälfte in die Ohrvene, zur Hälfte subkutan injiziert.
IV. 1. III. 10	2470	M-S + R-S + P-S + S-S je 4 ccm + Aloxyl 2 ccm + NaCl 22	Einspritzung unter die Bauchhaut.
V. 4. III. 10	2490	M-S + R-S + P-S + S-S je 4 ccm + Aloxyl 2 ccm + NaCl 22	Die eine Hälfte wird in die Ohrvene, die andere in das Unterhautbindegewebe injiziert. Einzelne Anaphylaxie-symptome, insbesondere beschleunigte Atmung, sind, wenn auch nicht heftig, so doch recht typisch.
VI. 8. III. 10	2100	M-S + R-S + P-S + S-S je 3 ccm + Aloxyl 2 ccm + NaCl 26 ccm	Z. III. 10. Blutentnahme und tags darauf Tierbestimmung. Das Antiserum, das mehrere Male hintereinander koaguliert, opalesziert ein wenig und reicht nicht aus, um alle Proben einwandfrei durchzuprüfen.

10. III. 10. Neue Blutprobenentnahme mit tags darauf folgender Tierbestimmung.

Verdünnung der Sera

Resultat	M-S	R-S	P-S	S-S
	1 : 100	1 : 100	1 : 100	1 : 100
	1 : 1000	1 : 1000	1 : 1000	1 : 1000
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+
	+	+	+	+

(Bei Anwendung 1 ccm Serumverdünnung + 0,1 ccm Antiserum innerhalb 3 Minuten bei Zimmertemperatur.)

11. III. 10. Das Tier wird entblutet und sein Serum steril aufbewahrt. Bei der euklaffigen Feststellung des Grenzfallungsvermögens dieses tetra-valenten Antisera wurden die nachstehenden Resultate erzielt:

Menschenserum	Schweineserum	Pferdeserum	Rinderserum
1 : 100	1 : 500	1 : 1000	1 : 1000

Ob der Kaninchenorganismus bei intravenöser sowie bei subkutaner Einspritzung von mehr als 4 unter sich körperfremder Sera mit der Bildung von ebensovielen spezifischen Präzipitinen reagieren wird, ist weiteren Versuchen, die von Frau Petroff-Sulima-Samoilo, cand. med., bereits angestellt und über welche die Ergebnisse in ihrer Doktor-Dissertation demnächst veröffentlicht werden, vorbehalten. Indessen läßt sich jetzt schon voraussagen, daß auch die Darstellung von penta- sowie von hexavalenten Präzipitinen gelingen wird, und es liegt ferner kein Grund für die Annahme vor, daß der Tierkörper, welcher polyvalente präzipitierende Sera zu bilden vermag, nicht auch die Fähigkeit besäße, polyvalente Agglutinine, Hämolyse, Bakteriolyse und dergleichen zu erzeugen.

Was nun die letzte Frage anbelangt: «Haben titerstarke mehrwertige präzipitierende Sera Aussicht auf praktische Verwendung?» so glaube ich sagen zu können, daß dieselbe in gewissen Fällen zur leichteren Orientierung bei Blutdifferenzierungsarbeiten ohne weiteres herangezogen werden dürfen, daß aber der endgültige Bescheid bei jeder Untersuchung doch nur von der Verwendung der bisher so allgemein bewährten, monovalenten präzipitierenden Sera stets abhängig bleiben wird.

halb 25 Tagen 144 ccm Serum eingespritzt bekam, wovon auf jede einzelne der 4 obgenannten Serumarten 36 ccm entfielen. Trotzdem war von diesem Versuchstiere, das im Laufe dieser Zeit an Körpergewicht bloß 100 g verloren (2780 — 2680 g) und übrigens auch die Einspritzungen ohne jegliche Überempfindlichkeitserscheinungen sehr gut vertragen hatte, kein hochwertigeres Serum zu bekommen als 1:200 für Rinder-, Pferde- und Schweineserum und bloß 1:125 für Menschenserum.

Sehr ähnlich war das Ergebnis auch bei dem anderen Versuchstiere, welches im ganzen 106 ccm Serum eingespritzt erhielt. Dasselbe lieferte nach der VI. (letzten) Injektion ein Antiserum, dessen Titer Menschenblut gegenüber gleichfalls schwächer war als vis-à-vis den drei anderen vorgenannten Blutarten.