



Einiges über den Einfluss der Wärme auf die Agglutinationsreaktion.

E. Vellisto (Tartu).

Die Agglutinationsreaktion kann bei verschiedener Temperatur zu Stande kommen. Meist wird wohl 37° C und Zimmertemperatur bei dieser Reaktion angewendet, oft aber verschiedene Kombinationen von diesen beiden Temperaturen. Man stellt die Agglutinationsgläschen gewöhnlich für eine gewisse Zeit in den Brutschrank bei 37° C und bestimmt danach die Reaktion entweder gleich, oder aber man lässt die Gläschen zuvor noch eine Weile bei Zimmertemperatur stehen.

Die Dauer des Stehens der Agglutinationsgläschen im Brutschrank ist bei verschiedenen Autoren verschieden lang angegeben, — von einigen Stunden bis über 24 Stunden:

so z. B.	2 Std.	bei L. Heim (1922), Bongert (1927).
	4 „ „	Hendricsson (1932).
	2—8 „ „	Lehmann u. Neumann (1928).
	12 „ „	Fröhner und Zwick (1925).
	12—18 „ „	Poppe (1929).
	24—30 „ „	Bongert (Malleusdiagnose).
	36 „ „	Hutyra u. Marek (1922).

Die „bequemsten“ Temperaturen in der Laboratoriumspraxis sind wohl die von 37° C und die Zimmertemperatur, weil sie in jedem Laboratorium vorhanden sind und keine Extrakosten und Arbeit erfordern. Deswegen ist es wichtig, die Bedeutung dieser beiden Temperaturen für die Agglutinationsreaktion aufzuklären um sie möglichst vorteilhaft ausnützen zu können.

Die Frage über die Wirkung der Temperatur auf die Agglutinationsreaktion ist im allgemeinen genügend für die Zwecke der praktischen diagnostischen Laboratoriumsarbeit erforscht. Man weiss, dass die Brutschranktemperatur auf die Agglutinations-

reaktion befördernd wirkt. Doch ist die Agglutinationstechnik der verschiedenen Forscher verschieden gewesen, so dass man nicht mit Sicherheit behaupten kann, dass die erhaltenen Resultate in vollem Masse bei allen möglichen Verhältnissen der Agglutinationsprobe anwendbar sind und speziell bei der Brucellose.

Deswegen ist die Frage über die Wirkung der Temperatur auf die Agglutinationsreaktion hier noch in einigen Richtungen hin zur Erörterung gelangt. Ich habe das Problem nicht in seinem ganzen Umfange der Forschung unterzogen. Ich wollte hauptsächlich einen Überblick darüber erhalten, wie der verschieden langdauernde Aufenthalt der Agglutinationsgläschen bei Brutschrank- und Zimmertemperatur in der gewöhnlichen Laboratoriumspraxis auf die Agglutinationsreaktion einwirkt, und wie dabei — speziell bei der Brucellose — die Resultate von diesen Temperaturen abhängig sein können, da bei letzterer Krankheit die Aggl.-technik weniger untersucht worden ist.

Die Beobachtungen sind gemacht mit 23 Blut- und 8 Milchsera, zusammen mit 108 Agglutinationsreihen, wobei Brucella-Antigen angewendet wurde und nur bei einem Menschenserum-Paratyphusantigen.

T e c h n i k.

Angewendet wurden Agglutinationsgläschen von $7\frac{1}{2}$ mm Durchmesser; 1 ccm. Testflüssigkeit (mit 0,5% Karbolsäure) von derselben Dichte, wie im vorigen Artikel angegeben: durch eine Bangtestflüssigkeitssäule von 2,8 cm. Höhe ist die Druckschrift kaum lesbar.

Makroskopische Ablesung der Reaktion, wobei eine Verdünnung der Aggl.-reaktion bei 80—100% Aufhellung der Agglutinationsflüssigkeit als positiv betrachtet wurde.

In den Tabellen ist angegeben wie lange die Aggl.-gläschen bei 37° standen. Nachher standen sie bei Zimmertemperatur bis zum Ablesen.

Die häufige Beobachtung hat gewiss die Dauer des Sedimentierens der Antigenbakterien verlängert, weil ja auch bei sehr vorsichtiger Besichtigung der Agglutinationsgläschen doch die untere antigenenthaltende Flüssigkeit etwas aufgewirbelt wird, wodurch die Zeit, welche zum vollständigen Sedimentieren der Antigenbakterien erforderlich ist, verlängert wird.

Die Gläschen wurden jedes Mal vorsichtig einzeln aus dem Stativ genommen und ohne Schütteln vorsichtig betrachtet. Die erhaltenen Resultate sind in der Tabelle 1 dargebracht.

Welche Schlüsse können wir aus den in der Tabelle vorhandenen Daten ziehen?

Tabelle 1.

Bsm = Blutserum vom Menschen; Bsr = Blutserum vom Rinde; Z = Zimmer-
temperatur; Msl = Labserum der Milch; Msg = Milchserum durch Milchsäuregä-
rung erhalten; Ba = Bang-Antigen; Par = Paratyphus-B-Antigen.

Nr. d. Sera	Std. bei 37°C.	Nur Zimmer- to.	Serum u. Antigen	Ablungszeiten in Tagen.										
				1	2	3	4	5	6	8	12	15	17/18	
1	0	Z	Bsr, Ba	800	1600	1600	1600	—	—	—	—	—	—	—
"	1	—	"	800	800	1600	1600	—	—	—	—	—	—	—
"	5	—	"	800	800	1600	1600	—	—	—	—	—	—	—
"	24	—	"	800	800	800	1600	—	—	—	—	—	—	—
2	0	Z	"	10	10	10	10	—	—	—	—	—	—	—
"	1	—	"	10	10	10	10	—	—	—	—	—	—	—
"	4	—	"	10	10	10	10	—	—	—	—	—	—	—
"	24	—	"	10	10	10	10	—	—	—	—	—	—	—
3	0	Z	"	±640	±640	640	1280	—	—	—	—	—	—	—
"	1	—	"	±20	±40	640	1280	—	—	—	—	—	—	—
"	5	—	"	640	1280	1280	1280	—	—	—	—	—	—	—
"	24	—	"	1280	1280	2560	2560	—	—	—	—	—	—	—
4	0	Z	"	±640	640	640	1280	—	—	—	—	—	—	—
"	1	—	"	±320	640	640	1280	—	—	—	—	—	—	—
"	5	—	"	640	640	1280	1280	—	—	—	—	—	—	—
"	24	—	"	640	1280	1280	1280	—	—	—	—	—	—	—
5	0	Z	"	±80	160	320	640	—	—	—	—	—	—	—
"	1	—	"	±160	320	320	640	—	—	—	—	—	—	—
"	5	—	"	320	320	640	640	—	—	—	—	—	—	—
"	24	—	"	320	640	640	640	—	—	—	—	—	—	—
6	5	—	"	1280	1280	1280	2560	2560	2560	—	2560	—	2560	—
"	24	—	"	1280	1280	1280	2560	2560	2560	—	2560	—	2560	—
"	48	—	"	1280	1280	1280	2560	2560	2560	—	2560	—	2560	—
"	72	—	"	1280	1280	2560	2560	2560	2560	—	2560	—	—	—
7	5	—	"	160	320	640	640	1280	1280	—	1280	—	1280	—
"	24	—	"	320	640	640	1280	1280	1280	—	1280	—	1280	—
"	48	—	"	320	640	640	1280	1280	1280	—	1280	—	1280	—
"	72	—	"	320	640	640	1280	1280	1280	—	1280	—	—	—
8	6	—	"	5	5	—	5	—	5	—	10	10	—	—
"	24	—	"	5	5	—	5	—	5	—	10	10	—	—
9	6	—	"	10	10	—	20	—	20	—	20	20	—	—
"	24	—	"	10	10	—	20	—	20	—	20	20	—	—
10	6	—	"	10	10	—	20	—	20	—	20	20	—	—
"	24	—	"	10	10	—	10/10	—	20	—	20	20	—	—
11	6	—	"	5	10	—	10	—	10	—	10	10	—	—
"	24	—	"	5	10	—	10	—	10	—	10	10	—	—
12	0	Z	"	±5	±5	±5/±10	—	—	5/10	—	—	5/10	—	—
"	4	—	"	±5	5	5	—	—	5	—	—	5	—	—
"	24	—	"	5	5	5	—	—	5	—	—	5	—	—
13	0	Z	"	10	10	10	—	—	10	—	—	10	—	—
"	4	—	"	10	10	10	—	—	10	—	—	10	—	—
"	24	—	"	5	10	10	—	—	10	—	—	10	—	—
14	0	Z	"	10	10	10	—	—	20	—	—	20	—	—
"	4	—	"	10	20	20	—	—	20	—	—	20	—	—
"	24	—	"	10	10/20	20	—	—	20	—	—	20	—	—

Nr. d. Sera	Std. bei 37° C.	Nur Zimmer t°	Serum u. Antigen	Ablesezeiten in Tagen.									
				1	2	3	4	5	6	8	12	15	17/18
15	0	Z	Bsr, Ba	±5	5	5	10	—	10	—	—	10	—
"	1	—	"	±5	5	5	5	—	10	—	—	10	—
"	3	—	"	5	5	5	5	—	10	—	—	10	—
"	24	—	"	±5	±5	5	5	—	5	—	—	10	—
16	0	Z	"	±5	5	5	5/10	—	10	—	—	10	—
"	1	—	"	±5	5	5	5	—	10	—	—	10	—
"	3	—	"	5	5	5	5	—	10	—	—	10	—
"	24	—	"	±5	±5	5	5	—	5	—	—	10	—
17	0	Z	"	40	80	160	160	—	320	—	—	320	—
"	1	—	"	80	80	160	160	—	320	—	—	320	—
"	3	—	"	80	160	160	160	—	160	—	—	320	—
"	24	—	"	80	160	160	160	—	320	—	—	320	—
18	0	Z	"	40	40	80	80	—	160	—	—	160	—
"	1	—	"	40	80	80	80	—	160	—	—	160	—
"	3	—	"	40	80	80	80	—	160	—	—	160	—
"	24	—	"	80	80	80	80	—	160	—	—	160	—
19	0	Z	"	160	160	320	320	—	640	—	—	640	—
"	1	—	"	160	160	320	320	—	640	—	—	640	—
"	3	—	"	160	320	320	320	—	320	—	—	640	—
"	24	—	"	320	320	320	320	—	640	—	—	640	—
20	0	Z	"	160	160	320	320	—	640	—	—	640	—
"	1	—	"	160	160	320	320	—	640	—	—	640	—
"	3	—	"	160	320	320	320	—	320	—	—	640	—
"	24	—	"	320	320	320	320	—	640	—	—	640	—
21	0	Z	"	640	640	1280	—	1280	—	—	—	—	5120
"	3	—	"	1280	1280	1280	—	2560	—	—	—	—	5120
"	6	—	"	1280	1280	1280	—	2560	—	—	—	—	5120
"	24	—	"	1280	2560	2560	—	2560	—	—	—	—	5120
22	0	Z	"	640	1280	1280	—	2560	—	—	—	—	5120
"	3	—	"	1280	1280	1280	—	2560	—	—	—	—	5120
"	6	—	"	1280	1280	1280	—	2560	—	—	—	—	5120
"	24	—	"	1280	1280	2560	—	2560	—	—	—	—	5120
I	0	Z	Msl, Ba	20	20	40	40	—	—	80	—	—	—
"	1	—	"	20	40	40	40	—	—	80	—	—	—
"	4,5	—	"	40	40	40/80	40/80	—	—	80	—	—	—
"	24	—	"	40	80	80	80	—	—	80	—	—	—
II	5	—	"	40	80	80	80	80	80	80	80	—	—
"	24	—	"	80	80	80	80	80	80	80	80	—	—
"	48	—	"	40	80	80	80	80	80	80	80	—	—
"	72	—	"	80	80	80	80	80	80	80	80	—	—
III	0	Z	Msg, Ba	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	—	—
"	4	—	"	n/5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	—	—
"	24	—	"	?	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	—	—
IV	0	Z	"	n/5	n/5	—	—	—	n/5	—	—	—	—
"	4	—	"	n/5	n/5	—	—	—	n/5	—	—	—	—
"	24	—	"	?	?	—	—	—	?	—	—	—	—
V	0	Z	"	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	—	—
"	4	—	"	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	—	—
"	24	—	"	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	—	—
VI	0	Z	"	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
"	4	—	"	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
"	24	—	"	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—

Nr. d. Sera	Std. bei 37° C.	Nur Zimmer- to.	Serum u. Antigen	Ablesungszeiten in Tagen.									
				1	2	3	4	5	6	8	12	15	17/18
VII	0	Z	Msg. Ba	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
"	4	—	" "	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
"	24	—	" "	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
VIII	0	Z	" "	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
"	4	—	" "	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
"	24	—	" "	n/2,5	n/2,5	—	—	—	n/2,5	—	—	n/2,5	—
23	0	Z	Bsm. Par. 800 (6 Std.)	3200	3200	—	3200	—	—	—	—	—	—
"	3	—	Bsm. Par. 800 (6 Std.)	1600	1600	—	+ 3200	—	—	—	—	—	—
"	6	—	Bsm. Par. ? (6 Std.)	3200	3200	—	3200	—	—	—	—	—	—
"	12	—	Bsm. Par. 1600 (6 Std.)	1600	3200	—	3200	—	—	—	—	—	—
"	24	—	Bsm. Par. 1600 (6 Std.)	1600	3200	—	3200	—	—	—	—	—	—

1) Am wichtigsten wäre es festzustellen, ob der endgültige Agglutinationswert eines Serums von den angewandten Temperaturen (verschieden lange Dauer bei 37° C und Zimmertemperatur) abhängig ist.

Die Antwort auf diese Frage gibt die Tabelle 2.

Tabelle 2.

(Bangantigen).

- Die Temperatur hat keine Wirkung auf den Agglutinationswert gehabt bei Blutsera Nr. Nr. 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22; Zus. 20. (83%)
Milchsera Nr. Nr. I, II, VI, VII, VIII; Zus. 5. (83%)
- Der höheren Temperatur (24 Stunden bei 37° C) entsprach höherer Agglutinationswert bei Blutserum Nr. 3. Zus. 1. (3%)
- Der höheren Temperatur (24 Std. bei 37° C) entsprach ein niedrigerer Aggl.-wert bei Blutserum Nr. 12. Zus. 1. (3%)
- Unbestimmte Agglutination bei höherer Temper. bei Milchsera Nr. Nr. IV, V; Zus. 2. (7%)
- Unbestimmte Agglutination bei niedrigerer Temperatur hat das Milchserum Nr. III. Zus. 1. (3%)

Die Anwendung von Zimmer- oder Brutschranktemperatur von einer Dauer von 1 bis 24 Stunden (in einzelnen Fällen bis 72 Stun-

den) hat keine Wirkung auf die endgültige Höhe des Agglutinationswertes bei 20 Blutsera und 5 Milchsera, — zusammen in 25 Fällen — gehabt. Bei 1 Blutserum bewirkte die Brutschranktemperatur (längere Zeit angewandt) auch höhere Agglutinationswerte (in 3% der Fälle). Bei 1 Blutserum entsprach der höheren Temperatur ein niedrigerer Agglutinationswert. Bei 2 (7%) Milchsera bewirkte die höhere (24 Stunden bei 37° C) und bei 1 Milchserum die niedrigere Temperatur das Entstehen eines unbestimmten Agglutinationswertes, weil der Bodensatz nicht für spezifisch anzusehen war.

Deswegen können wir kurz zusammenfassen: die angewandte Temperatur (Zimmer-t⁰ oder 1—24 Stunden lang Brutschrank und danach 23 bis 0 Stunden Zimmer-t⁰) hat gewöhnlich keinen Einfluss auf den endgültigen Agglutinationswert des betreffenden Serums gehabt — vorausgesetzt eine genügend langdauernde Beobachtungsdauer.

Das ist das erste und wichtigste Gesetz der Wirkung der Temperatur auf die Höhe des Agglutinationswertes.

2) Welche Wirkung hat der verschiedenen lange dauernde Aufenthalt der Agglutinationsgläschen in Brutschranktemperatur auf die Agglutinationsreaktion im Allgemeinen?

Diese Frage wird durch die in der Tabelle 3 dargebrachten Daten beantwortet.

Tabelle 3.

(Bangantigen).

Das Stehen von 3—24 Stunden bei Brutschranktemperatur hat auf die Titerbildung gewirkt:

befördernd bei Blutsera Nr. Nr. 3, 4, 5, 6, 7, 12, 14, 17, 18, 19,			
20, 21, 22	zus. 13	} 15 (50%).	
bei Milchsera Nr. Nr. I, II	„ 2		
hemmend bei Blutsera Nr. Nr. 1, 10, 13, 15, 16	zus. 5	} 6 (20%).	
bei Milchserum Nr. III	„ 1		
Unbestimmt bei Milchserum Nr. IV — 1	(3%).		
Ohne Wirkung bei Blutsera Nr. Nr. 2, 8, 9, 11	zus. 4	} 8 (26%).	
bei Milchsera Nr. Nr. V, VI, VII, VIII	„ 4		

In der Tabelle 3 werden die Agglutinationswerte von Agglutinationsreihen, die 3 bis 24 Stunden im Brutschrank und danach bei Zimmer-t⁰ gestanden haben, mit denjenigen Agglutinationsreihen, die

die ganze Zeit bei Zimmertemperatur oder nur 1 Stunde bei 37° C gestanden haben, verglichen. Nach den Daten der Tabelle 3 können wir schliessen, dass die Brutschranktemperatur (3—24 Stunden angewendet) meist fördernd auf die Agglutinationsreaktion einwirkte. Unbestimmte Reaktion bei einem Milchserum kann als ungünstiges Resultat einer höheren Temperatur angesehen werden, weil Milchsera überhaupt oft ein langdauerndes Stehen bei 37° C nicht vertragen und unspezifische Flocken bilden können.

In einigen Fällen war am 1. und 2. Tage nach 24 stündigem Bebrühen im Brutschrank eine Hemmung der Agglutinationsreaktion zu beobachten (Nr. Nr. 1, 10, 13, 15, 16). Bei einigen Sera (Nr. Nr. 2, 13, III, IV, V, VI, VII, VIII) wurde der endgültige Agglutinationswert schon bei Zimmertemperatur nach 24 Stunden erreicht. Also nicht immer ist eine Brutschranktemperatur dazu unbedingt notwendig.

3) Welche Wirkung haben die angewandten Temperaturen beim Ablesen des Agglutinationswertes 24 Stunden nach dem Füllen der Agglutinationsgläschen gehabt (also bei kurzdauernder Beobachtung)?

Die hierzugehörigen Daten sind in der Tabelle 4 dargestellt.

Tabelle 4.

- a) Die Temperatur hat keine Wirkung auf den Aggl.-wert gehabt bei
 Blutsera Nr. Nr. 1, 2, 6, 8, 9, 10, 11, 14 }
 Milchsera Nr. Nr. V, VI, VII, VIII } zus. 12 (40%).
- b) Der höheren Temperatur (3—24 Std. bei 37° C) entsprach ein
 höherer Aggl.-wert bei
 Blutsera Nr. Nr. 3, 4, 5, 7, 12, 15, 16, 17, 18, }
 19, 20, 21, 22 } 15 (50%).
 Milchsera Nr. Nr. I, II }
- c) Der höheren Temperatur entsprach ein niedrigerer Aggl.-wert bei
 Blutserum Nr. 13 1 (3%).
- d) Der höheren Temperatur entsprach eine unbestimmte Reaktion bei
 Milchsera Nr. Nr. III, IV 2 (7%).

Nach dem Ablesen der Reaktion nach 24 Stunden ist der 3—24 stündige Aufenthalt der Agglutinationsreihen im Brutschrank bei 37° C nützlich gewesen für den Ablauf der Reaktion bei 50% der Sera, wo also höhere Aggl.-werte erreicht wurden; dagegen war eine

Verzögerung der Reaktion, also niedrigere Aggl.-werte, nur bei 3% der Sera zu verzeichnen.

Danach ist das 3—24 Stunden dauernde Stehen der Proben im

Tabelle 5

zeigt, am wievielten Tage der endgültige Agglutinationswert der Sera zum ersten Mal bemerkt wurde.

← Endgültiger Aggl.-wert schneller erreicht nach 0—6 stünd. Stehen bei 37° C.

→ Endgültiger Aggl.-wert schneller erreicht nach 6—24 stünd. Stehen bei 37° C.

↔ Endgültiger Aggl.-wert war nicht abhängig von der angewandten Temperatur.

Nr.Nr. der Sera.	Der endgültige Agglutinationswert abgelesen am wievielten Tage zum ersten Mal										
	Die Agglutinationsproben standen										
	nur bei 15° C	Stunden bei 37° C und danach bei 15° C									
	1	3	4	4,5	5	6	24	48	72		
1	2	3	—	—	—	3	—	4	—	—	←←
2	1	1	—	1	—	—	—	1	—	—	←→
3	4	4	—	—	—	2	—	3	—	—	→
4	4	4	—	—	—	3	—	2	—	—	→
5	4	4	—	—	—	3	—	2	—	—	→
6	—	—	—	—	—	4	—	4	4	3	→
7	—	—	—	—	—	5	—	4	4	4	→
8	—	—	—	—	—	—	10	10	—	—	←→
9	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	←→
10	—	—	—	—	—	—	4	6	—	—	←
11	—	—	—	—	—	—	2	2	—	—	←→
12	6	—	—	2	—	—	—	1	—	—	→
13	1	—	—	1	—	—	—	2	—	—	←
14	6	—	—	2	—	—	—	3	—	—	→
15	4	6	6	—	—	—	—	15	—	—	←
16	6	6	6	—	—	—	—	15	—	—	←
17	6	6	15	—	—	—	—	6	—	—	←→
18	6	6	6	—	—	—	—	6	—	—	←→
19	6	6	15	—	—	—	—	6	—	—	←→
20	6	6	15	—	—	—	—	6	—	—	←→
21	17	—	17	—	—	—	17	17	—	—	←→
22	17	—	17	—	—	—	17	17	—	—	←→
I	8	8	—	—	8	—	—	2	—	—	→
II	—	—	—	—	—	2	—	1	2	1	→
III	1	—	—	1	—	—	—	2	—	—	←
IV	1	—	—	1	—	—	—	?	—	—	
V	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	←→
VI	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	←→
VII	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	←→
VIII	1	—	—	1	—	—	—	1	—	—	←→

Brutschrank für das Resultat meist entweder gleichgültig oder fördernd, in wenigen Fällen (10%) aber hemmend gewesen.

Um einen leichteren Überblick über die Bedeutung der hier angewandten Temperaturen für die Agglutinationsreaktion zu erhalten, wird beifolgend noch eine Tabelle 5 hinzugefügt, woraus ersichtlich ist, am wievielten Tage der endgültige Agglutinationswert der Sera bemerkt wurde. Die letzte Rubrik der Tabelle 5 zeigt die Richtung an, ob hier bei längerem (\rightarrow) oder kürzerem (\leftarrow) Stehen im Brutschrank die endgültigen Agglutinationswerte schneller erhalten wurden. Von 22 Agglutinationsreihen (Blutsera) hatten endgültige Agglutinationswerte schneller erhalten

bei kürzerem Stehen bei 37° C oder 15° C 23%

bei längerem Stehen bei „ „ 32%

keinen Einfluss hatte das Stehen bei 37° C oder 15° C bei 45%.

5) Wie äussert sich die Wirkung der Temperatur auf den Agglutinationswert im Zusammenhange mit dem Zeitpunkt der Ablesung der Agglutinationsreaktion?

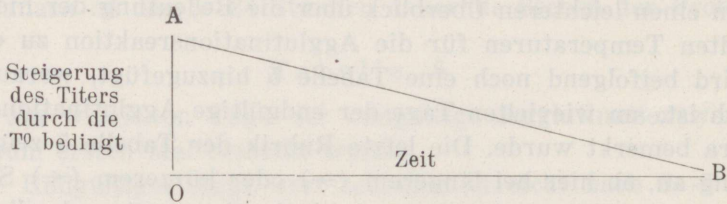
Aus der Tabelle 4 ersehen wir, dass ein längerer (3—24 Stunden) Aufenthalt im Brutschrank bei 50% der Fälle (Milchsera mitgerechnet, oder 59% nur Blutsera berücksichtigend) eine Erhöhung des Agglutinationswertes zur Folge hatte.

In der Tabelle 5 dagegen ist der betreffende Prozentsatz auf 30%, resp. 32% und in der Tabelle 2 (endgültige Resultate) aber schon auf 3% gefallen. Je länger also die Beobachtungszeit der Agglutinationsreaktion gewesen ist, je weiter der Zeitpunkt des Ablesens des Agglutinationswertes liegt, desto geringer wird der befördernde Einfluss der Temperatur auf die Höhe des erzielten Agglutinationswertes. Zu demselben Gesetz kann man auch gelangen, wenn man das erste und dritte Gesetz theoretisch zu vereinigern versucht, also:

1) dass nach kurzer (24 Std.) Beobachtungsdauer die Brutschranktemperatur den Agglutinationswert meist erhöhend beeinflusst und

2) dass nach langer Beobachtungsdauer (z. B. 5—10 und mehr Tage) der Einfluss der Temperatur in dieser Hinsicht auf den Agglutinationswert verschwindet, also gleich „Null“ werden muss (bei hier angewandter Technik der Aggl.-Probe). Graphisch diese Wirkung der Temperatur auf den Agglutinationswert aufzeichnend, erhalten

wir eine fallende Kurve AB, welche zeigt, dass je später der Zeitpunkt des Ablesens des Agglutinationswertes gewählt wird, um so



geringer der befördernde Einfluss der Brutschranktemperatur auf den Aggl.-wert wird, um später nach dem Absinken der Bakterien des Antigens zum Boden der Agglutinationsgläschen ganz zu verschwinden.

Dieser Umstand ist theoretisch annehmbar, weil es nicht möglich ist, dass die Temperatur irgendwie den endgültigen Aggl.-wert beeinflussen könnte, da die Temperatur nichts materielles in sich birgt, was die Agglutinine binden könnte, sondern nur als ein physikalischer Faktor wirken kann, der das Hervortreten des Agglutinationsphänomens beschleunigen kann.

6) Die Beeinflussung des Agglutinationswertes der negativen Zone der Aggl.-reihe durch die Temperatur.

Wenn wir analog der Tabelle 1 eine andere — Tabelle 6 — zusammenstellen, deren Daten die Aggl.-werte derselben Sera wie in der Tabelle 1, nur von der negativen Seite der Agglutinationsgefälle bringen, so erhalten wir ein Bild, das ein wenig von dem der Tabelle 1 abweicht. Nach der Tabelle 6 ist die Tabelle 7 zusammengestellt, die der Tabelle 5 analog ist. In der Tabelle 7 fehlen aber die Data von Bl.-Sera Nr. Nr. 12, 13 und 14, weil nicht alle nötigen Verdünnungen der negativen Zone vorhanden waren.

Es bleiben deswegen nur 19 Blutsera mit 67 Aggl.-reihen nach, deren Data aus den Tabellen 5 und 7 miteinander zu vergleichen möglich ist.

←	zeigen in der Tab. 5	—	4 Sera u. i. d. Tab. 7	—	8 Sera
↔	„ „ „ „ „	—	10 „ „ „ „ „	„	5 „
→	„ „ „ „ „	—	5 „ „ „ „ „	„	6 „

Aus diesen Daten ist es ersichtlich, dass das Ablesen des Agglutinationswertes der negativen Zone der Aggl.-reihe 2 mal mehr endgültige Resultate gegeben hat (8 gegen 4) als das Ablesen der Aggl.-wertes der positiven Zone bei „niedrigerer“ Temperatur.

Tabelle 6.
(Bangantigen).

Agglutinationswerte der negativen Zone der Aggl.-reihe.
Rindersera.

z = Nur Zimmertemperatur angewendet.

Nr. Nr. der Sera	Std. bei 37° C	Nur bei Z°	Ablesungszeiten in Tagen									
			1	2	3	4	5	6	8	12	15	17/18
1	0	Z	3200	6400	6400	6400	—	—	—	—	—	—
"	1	—	3200	3200	6400	6400	—	—	—	—	—	—
"	5	—	3200	3200	6400	6400	—	—	—	—	—	—
"	24	—	?	3200	3200	6400	—	—	—	—	—	—
2	0	Z	40	80	80	80	—	—	—	—	—	—
"	1	—	40	80	80	80	—	—	—	—	—	—
"	4	—	80	80	80	80	—	—	—	—	—	—
"	24	—	?	80	80	80	—	—	—	—	—	—
3	0	Z	2560	2560	2560	5120	—	—	—	—	—	—
"	1	—	2560	2560	2560	5120	—	—	—	—	—	—
"	5	—	5120	5120	5120	5120	—	—	—	—	—	—
"	24	—	?	5120	5120	5120	—	—	—	—	—	—
4	0	Z	2560	2560	2560	5120	—	—	—	—	—	—
"	1	—	2560	2560	5120	5120	—	—	—	—	—	—
"	5	—	2560	5120	5120	5120	—	—	—	—	—	—
"	24	—	?	5120	5120	5120	—	—	—	—	—	—
5	0	Z	1280	1280	1280	2560	—	—	—	—	—	—
"	1	—	1280	1280	1280	2560	—	—	—	—	—	—
"	5	—	?	2560	2560	2560	—	—	—	—	—	—
"	24	—	?	2560	2560	2560	—	—	—	—	—	—
6	5	—	5120	5120	10.240	10.240	10.240	10.240	—	—	—	—
"	24	—	5120	5120	5120	10.240	10.240	10.240	—	—	—	—
"	48	—	5120	5120	5120	10.240	10.240	10.240	—	—	—	—
"	72	—	5120	5120	5120	10.240	10.240	10.240	—	—	—	—
7	5	—	1280	2560	2560	2560	5120	5120	—	—	—	—
"	24	—	?	2560	2560	2560	5120	5120	—	—	—	—
"	48	—	?	2560	2560	2560	5120	5120	—	—	—	—
"	72	—	2560	2560	2560	5120	5120	5120	—	—	—	—
8	6	—	20	20	—	40	—	40	—	—	—	40
"	24	—	20	20	—	40	—	40	—	—	—	40
9	6	—	160	160	—	320	—	320	—	—	—	320
"	24	—	160	160	—	320	—	320	—	—	—	320
				320								
10	6	—	80	80	—	80	—	160	—	—	—	160
"	24	—	40	80	—	80	—	160	—	—	—	160
11	6	—	40	40	—	80	—	80	—	—	—	80
"	24	—	40	40	—	40	—	40	—	—	—	80
15	0	Z	20	20	40	40	—	40	—	—	40	—
"	1	—	20	40	40	40	—	40	—	—	40	—
"	3	—	20	40	40	40	—	40	—	—	40	—
"	24	—	20	20	20	20	—	20	—	—	40	—
16	0	Z	20	40	40	40	—	40	—	—	40	—

Nr. Nr. der Sera	Std. bei 37°C	Nur bei ZP	Ablesungszeiten in Tagen									
			1	2	3	4	5	6	8	12	15	17/18
16	1	Z	20	20	20	40	—	40	—	—	40	—
"	3	—	20	20	40	40	—	40	—	—	40	—
"	24	—	?	20	20	20	—	20	—	—	40	—
17	0	Z	320	640	640	1280	—	1280	—	—	1280	—
"			640									—
"	1	—	320	640	640	640	—	640	—	—	1280	—
"	3	—	320	320	640	640	—	640	—	—	640 1280	—
"	24	—	640	640	640	640	—	640	—	—	640/1280	—
18	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
"	1	—	160	320	320	320	—	640	—	—	640	—
"	3	—	160	320	320	320	—	320	—	—	640	—
"	24	—	640	640	640	640	—	640	—	—	640	—
19	0	Z	640	1280	2560	2560	—	2560	—	—	2560	—
"	1	—	640	640	1280	1280	—	2560	—	—	2560	—
"	3	—	640	1280	1280	1280	—	1280	—	—	2560	—
"	24	—	1280	1280	1280	1280	—	2560	—	—	2560	—
20	0	Z	640	1280	2560	2560	—	2560	—	—	2560	—
"	1	—	1280	1280	2560	2560	—	2560	—	—	2560	—
"	3	—	1280	1280	1280	1280	—	1280	—	—	2560	—
"	24	—	1280	1280	1280	1280	—	2560	—	—	2560	—
21	0	Z	2560	5120	10.240	—	20.480	—	—	—	—	20.480
"	3	—	5120	5120	10.240	—	10.240	—	—	—	—	20.480
"	6	—	5120	5120	10.240	—	—	—	—	—	—	20.480
"	24	—	10.240	10.240	10.240	—	10.240	—	—	—	—	20.480
22	0	Z	2560	5120	10.240	—	10.240	—	—	—	—	20.480
"	3	—	5120	5120	10.240	—	10.240	—	—	—	—	20.480
"	6	—	5120	5120	10.240	—	10.240	—	—	—	—	20.480
24	24	—	10.240	10.240	10.240	—	10.240	—	—	—	—	20.480

Die Erscheinung des Agglutinationsphänomens in der negativen Zone wird also von der Brutschranktemperatur nicht befördert und man kann hier mit Zimmertemperatur oder kurzem Aufenthalt (1 Std.) im Brutschrank oft bessere Resultate erzielen. Nach diesen Daten fördert Brutschranktemperatur (5—24 Stunden) also nur das Auftreten der Agglutinationsphänomina der positiven und der Titerzone, wo die Antigenbakterien mit Agglutinin gesättigt sind, nicht aber der negativen Zone der Agglutinationsreihe.

Zusammenfassung. Im Allgemeinen kann man konstatieren, dass der Temperatur in den Grenzen, in welchen sie hier angewendet wurde, kein entscheidender Einfluss auf den Agglutinationswert zugemessen werden kann. Die Anwendung von Brutschranktemperatur (5—24 Std.) ist wichtig bei kurzdauernder Beobachtungszeit der Agglutinationsreaktion, sie bewirkt nicht die

Tabelle 7

zeigt, am wievielten Tage der endgültige Aggl.-wert der negativen Zone bemerkt wurde. Erklärungen siehe in der Tab. 5.

Nr.Nr. der Sera.	Der endgültige Agglutinationswert abgelesen am wievielten Tage zum ersten Mal.										
	Die Agglutinationsproben standen										
	Nur bei 15° C	Stunden bei 37° C und danach bei 15° C.									
	1	3	4	4,5	5	6	24	48	72		
1	2	3	—	—	—	3	—	4	—	—	←
2	2	2	—	1	—	—	—	2	—	—	↔
3	4	4	—	—	—	1	—	2	—	—	→
4	4	3	—	—	—	2	—	2	—	—	→
5	4	4	—	—	—	2	—	2	—	—	→
6	—	—	—	—	—	3	—	4	4	4	←
7	—	—	—	—	—	5	—	5	6	4	↔
8	—	—	—	—	—	—	4	4	—	—	↔
9	—	—	—	—	—	—	4	3	—	—	←
10	—	—	—	—	—	—	6	6	—	—	↔
11	—	—	—	—	—	—	4	18	—	—	↔
15	3	2	2	—	—	—	—	15	—	—	←
16	2	4	3	—	—	—	—	15	—	—	←
17	4	15	15	—	—	—	—	15	—	—	←
18	—	6	15	—	—	—	—	1	—	—	→
19	3	6	2	—	—	—	—	6	—	—	←
20	3	3	17	—	—	—	—	6	—	—	←
21	5	—	17	—	—	—	17	17	—	—	←
22	17	—	17	—	—	—	17	17	—	—	↔

Höhe des endgültigen Agglutinationswertes, doch fördert sie meist das Hervortreten desselben.

* *

*

Zur Illustration der Rolle der Temperatur für die Agglutination werden hier einige Beobachtungen über Aggl.-reaktion bei ca. 0°, 37° und ca. 55—60° mit danach angewandten niedrigen Temperaturen folgen.

Erste Versuchsserie.

Die Aggl.-probe der Kuh Pärli stand 21 Stunden bei 37° C und weiterhin bei 12° C und hatte, abgelesen nach 2 Tagen, einen Aggl.-wert von 1:200. Von diesem Serum wurde ein grösseres Quantum 1:100 — Verdünnung bereitet. Davon wurde eine Reihe von Aggl.-gläschen mit à 1 ccm. Serumverdünnung beschickt und das Bangantigen zugefügt.

Die Gläschen standen entweder anfangs bei 37° C und späterhin bei ±0° bis -1° C, oder nur bei der letztgenannten Temperatur.

Zahl der Stunden gestanden bei Agglutination nach 24 Stunden. 37° C (und danach bei 0° bis -1° C).

21	+
1	+
¹ / ₄	+
0 (nur bei 0° bis -1° C)	+

Die angewandten Temperaturen haben also keinen Einfluss auf die Agglutination gehabt.

Zweite Versuchsserie.

Es wurden 4 Blutsera von Kühen auf ihre Blutwerte in bezug auf Bang-Infektion untersucht. Eine Gruppe der Aggl.-reihen stand 22 Stunden bei 37° C und danach bei -0,5° C; die andere parallele Gruppe, aus denselben Serumverdünnungen bestehend, wurde gleich nach dem Füllen der Gläschen bei 16° C in eine Temperatur von -0,5° C gestellt.

Gruppe A: 22 Std. bei 37° C und danach bei -0,5° C gestanden.	Aggl.-wert nach			Titer der negat. Zone.
	1 Tage,	2 Tagen,	11 Tagen	
Blutsera: Piimik	80	80	160	n/640
Silla	20	20	40?	n/160
Maasik	±10	10	20	n/80
Astra	-/10	n/10	n/10	n/20

Gruppe B: Nur bei
-0,5° C gestanden
(beschickt bei 16° C).

Blutsera: Piimik	±20	20/40	80(160)	n/640
Silla	20	20	40	n/160
Maasik	10	10/20	20	n/80
Astra	.../10	n/10	.../10	n/20

Nebenversuch: bei
56° C — 1 Stunde,
bei 37° C — 2
Stunden, danach
bei 0° C.

Die Proben im Wasserbade
gestanden.

Blutserum Piimik	Agglunationswerte			Titer der negat. Zone.
	nach 1 Tage	5 Tagen	9 Tagen	
	80	160	160	640

Bei den bangnegativen Sera Maasik und Astra hat die niedrige T° (-0,5° C) die Reaktion unwesentlich gefördert, beim Serum

Silla hat sie keine Wirkung gehabt, beim Serum Piimik aber hat sie die Reaktion gehemmt, welche weniger schnell verlief als bei einer Temperatur von 37° C (22 Stund.).

Einige Stunden im Wasserbade (37°—56° C) haben ungefähr dieselbe Wirkung auf die Schnelligkeit der Aggl.-reaktion ausgeübt, wie ein 22 Stunden langes Stehen bei 37° C (Piimik) — beim Ablesen der Reaktion nach 24 Std. oder später.

Die mit Klammern versehenen Aggl.-werte sind nach der Unbeweglichkeit des Aggl.-sedimentes aufgezeichnet (das Sediment war nicht breit).

Dritte Versuchsserie.

	Agglutinationswert nach				Titer der negat. Zone.
	1 Tage	2 Tagen	3 Tagen	8 Tagen	
Gruppe A: 3 Std. im Wasserbade 53— 57° C, einige Minu- ten bis 61° C.					
Made	160	320	320	640	(n/1280)
T 161	10	20	20	40	n/320
T 35	20	20	20	40	(n/60)
Kiki	n/10	n/10	±10	10	n/80
Bulle	n/10	n/10	n/10	n/10	n/40
Gruppe B: Aggl. proben 24 Std. bei 37° C.					
Made	160	320	320	320	(n/1280)
T 161	20	20	40	40	n/320
T 35	20	20	20	40	(n/60)
Kiki	10	10	10	10	n/80
Bulle	n/10	n/10	±10?	±10	n/40
Gruppe C: Aggl. proben bei +2° C ge- standen, gefüllt bei 17° C.					
Bulle	80	320	320	320	(n/1280)
Made	20	20	40	80	n/320
T 161	20	20	20	40	(n/60)
T 35	10	10	10	10	n/80
Kiki	n/10	n/10	n/10	n/10	n/40

Die Aggl.-werte der negativen Zone sind aufgezeichnet nach einer Beweglichkeit des Sedimentes

von 5—20%	bei	Made
50—60%	„	T 35
80—90%	„	T 161, Kiki, Bulle.

Diese 3 Versuchsserien zeigen, dass den genannten Temperaturen kein entscheidender Einfluss auf die Aggl.-reaktion zuzumessen ist, im Falle die Reaktion nach 24 Std. oder später abgelesen wird. Beim Ablesen der Reaktion nach 1—3 Std. war zu beobachten, dass die Reaktion bei ca. 55° weiter vorgeschritten war als bei 37° oder niedrigerer Temperatur.

Die hier erhaltenen Versuchsergebnisse mit Bang-Antigen entsprechen im allgemeinen denjenigen, welche M. Hefferan beim Arbeiten mit Prodigiosus-Antigen beobachtet hat und welche von Wilson und Topley allgemein für die Agglutinationsreaktion angegeben werden.

Literaturverzeichnis.

Siehe: „Eesti Loomaarstlik Ringvaade“ 1938, S. 180; ausserdem: Castellani, Ztschr. f. Hyg. u. Inf.-kr., Bd. 40, S. 1; M. Hefferan, Zbl. f. Bakt., I, Orig. XLI, S. 553; Fröhner und Zwick, Seuchenlehre, 1925, S. 787.

ESE
A-7740

25116