

Die technischen Schwierigkeiten bei der Durchführung der Abderhaldenschen Abwehr-Ferment-Reaktion (A. R.) und die sich daraus ergebenden Fehlermöglichkeiten sind durch die Verwendung von Harn anstatt Serum und die dadurch ermöglichte Weglassung des Dialysierverfahrens so weit beseitigt, daß sie — wie wir zeigen konnten — ohne weiteres im Felde durchgeführt werden kann. Ihre Anwendbarkeit zum Nachweis bakterieller Infektionen läßt sie uns als wertvolles Hilfsmittel neben den üblichen serologischen und bakteriologischen Methoden erscheinen.

Nun sind alle die Voraussetzungen, die ein heimatliches Institut bietet, wie z. B. allein Gas, elektrischer Strom, fließendes Wasser usw. im Felde durchaus keine Gegebenheiten und können auch nur teilweise oder häufig überhaupt nicht beschafft oder ersetzt werden. Trotzdem erfordert die Umstellung nur etwas Geschicklichkeit.

Unser Feldlaboratorium besteht aus den sechs Schreiberschen Laboratoriumskisten und dem im Laufe der Jahre noch hinzugekommenen, für den Betrieb einer hygien.-bakteriol. Untersuchungsstelle notwendigen Gerät. Es war daher erforderlich, zusätzlich einiges von Heimatdienststellen zu erwerben. Dies war vor allem eine größere Menge Ninhydrin und die für die Mikroreaktion vorgesehenen Mikroröhrchen. Selbst auf diese kann im Notfall verzichtet werden, da sich die Reaktion ohne Schwierigkeiten auch in den dünnwandigen Meinicke-Röhrchen aus Jenaer Glas durchführen läßt. Eine unbedingte Forderung ist das ständige Instandhalten und dauernde Überwachen ihrer Reinigung, sowie überhaupt des für die A. R. notwendigen Gerätes. Wesentlich ist, daß die Glassachen getrennt von allen anderen gereinigt und aufgehoben werden. Dies bedeutet ja keine zusätzliche Schwierigkeit, da dies in den meisten Feldlaboratorien ohnehin für die Reaktion nach Mastix, Takata-Ara, Meinicke, Kahn, Wassermann usw. geschehen muß. Das Reinigen der Glassachen konnte überall mit aqua dest. geschehen, dessen Erwerbung oder Selbstdestillierung nirgends Schwierigkeiten bereitete.

Zur Fermentgewinnung ist Azeton oder Alkohol erforderlich; beides ist im Felde nur schwer zu bekommen. Wir sahen uns daher veranlaßt, das bereits gebrauchte Azeton (Alkohol) rückzudestillieren. Die Wiedergewinnung des sonst zur Fällung üblichen Azeton-Alkohol-Gemisches ist für Feldverhältnisse zu kompliziert, es wurde daher nur entweder Alkohol oder Azeton verwendet. Wir beobachteten jedoch, daß besonders alte Harn- oder ein länger stehendes Harn-Azeton-(Alkohol-)Gemisch zum Rückdestillieren nicht geeignet ist, da beim Überdestillieren verschiedene Stoffe, die wir nicht näher bestimmen konnten, vorhanden sind, die ein einwandfreies Wiederverwenden des Destillates unmöglich machen. Wir legten daher größten Wert darauf, den Harn möglichst rasch vom Patienten zu bekommen; er wurde dann sofort angesetzt und nach eingetretener Fällung abzentrifugiert. Das Azeton (Alkohol) ließ sich nun aus der überstehenden Flüssigkeit ohne wesentliche Verunreinigung abdestillieren und wieder verwenden, soweit nicht die Konzentration zu wünschen übrig ließ. Diese Schwierigkeit konnte aber behoben werden, indem wir nicht pro Ansatz 10 ccm Harn mit 10 ccm, sondern mit 12 ccm Azeton (Alkohol) fällten. Sollte also der Abbau von z. B. 4 Substraten (und einer Kontrolle) geprüft werden, so wurden 50 ccm Harn mit 60 ccm Azeton (Alkohol) gefällt. Wir bekamen hierbei bei menschlichen Harnen — soweit es sich um Morgenharn handelte — fast nie unterschwellige Reaktionen. Die so gewonnenen Fermente waren denen mit unverdünntem Azeton (Alkohol) hergestellten vollkommen gleichwertig. Das Abzentrifugieren geschieht mit einer elektrischen Zentrifuge, die sich ja wohl die meisten Feldlaboratorien, soweit diese nicht bereits bei der Grundausstattung vorhanden war, nachbeschafft haben. Im Notfall kann sie aber auch — worauf Emil Abderhalden schon hinwies — ohne weiteres durch eine Handzentrifuge ersetzt werden. Dies bezieht sich sowohl auf das Zentrifugieren des Harn-Azeton-Gemisches, als auch auf das Zentrifugieren der Bebrütungsflüssigkeit. Die Suspension des Fermentes wurde sodann in den Zentrifugenröhrchen, nachdem diese zum Abdampfen des Azetons auf etwa 1—2 Stunden in den Brutschrank kamen, mit Hilfe einer Pipette oder einer Injektionsspritze hergestellt. Dieses Trocknenlassen des Fermentes vor der Herstellung der Suspension bedeutet — soweit uns bekannt ist — eine kleine Abweichung von der Originalmethode. Wir fanden, daß sich so leichter gleichmäßige Suspensionen erreichen lassen. Die Ansätze werden am besten in Meinicke-Röhrchen aus Jenaer Glas vorgenommen. Das Zusetzen des Substrates, Bebrüten, Zentrifugieren und Filtrieren der überstehenden Flüssigkeit wurde in der üblichen Weise durchgeführt. Für die Ninhydrinreaktion

benützten wir die Original-Mikroröhrchen. Wie bereits oben erwähnt, können jedoch hierfür auch Meinicke-Röhrchen, die natürlich ebenfalls vorher entsprechend geeicht werden müssen, verwendet werden. Zum Pipettieren des Ninhydrins verwenden wir 0,1 Kahn-Pipetten, wobei wir bei einiger Übung und sorgfältigem Arbeiten vollkommen einwandfreie Resultate bekämen. Eine Schwierigkeit ergab sich erst beim Pipettieren des Filtrates (Bebrütungsflüssigkeit). Trotz technischer Exaktheit zeigte es sich, daß z. B. ein Ansatz mit einer Pipette stets ein negatives, mit einer anderen Pipette stets ein positives Ergebnis zeigte. Eine genaue Prüfung ließ diese Fehlreaktion auf die Verschiedenheit unseres Pipettenmaterials (0,5 Voll- und graduierte Pipetten) zurückführen, da ja unser Laboratorium, seinem bisherigen Einsatz entsprechend, deutsche, rumänische, später auch noch griechische, englische und jetzt noch russische Pipetten besitzt, die sich nicht mehr voneinander trennen lassen. Bei genauer Prüfung ergab sich nun, daß das angegebene Volumen der einzelnen Pipetten untereinander schwankt (zwar in Grenzen, die sich bei allen anderen Reaktionen überhaupt nicht auswirken, die aber bei der A. R. eine positive in eine negative Reaktion umwandeln können), da ja bei Verwendung von 0,1 ccm einer 1proz. Ninhydrinlösung und 0,5 ccm Filtrates bei den oben erwähnten geringfügigen Unterschieden nicht nur die Menge, sondern auch die Konzentration geändert wird. So ergab sich für uns die Notwendigkeit, die Pipetten für die A. R. besonders zu eichen und ebenfalls gesondert zu reinigen und aufzubewahren.

Zum Ablesen der Reaktion konnten wir mit gutem Erfolg das Wasserbad des Laboratoriums benützen. Mit Hilfe der beiden 1 · 4 Ampère-Heizpatronen läßt sich leicht eine Temperatur von 70 bis 80° erzielen. Dazu ist aber unbedingt elektrischer Strom erforderlich. In Gegenden, wo dieser nicht vorhanden ist, wurde daher das Ablesen der A. R. für eine Tageszeit festgelegt, in der unser Aggregat lief, wobei es selbstverständlich zweckmäßig war, das Wasserbad jeweils mit heißem Wasser zu füllen und die Heizpatronen nur zum Einregulieren der Temperatur zu verwenden. Versuche, die Temperatur bloß durch Zugießen von heißem Wasser oder mit Spiritusbrennern usw. auf 80° zu halten, ergaben kein befriedigendes Resultat. Ein Gestell zum Einhängen der Mikroröhrchen läßt sich ja überall leicht anfertigen, ebenso eine Aufhängevorrichtung, die dieses Gestell an dem Rand des Wasserbades befestigt. Das Erwärmen der Röhrchen erfolgt nun im Schreiberschen Wasserbad am besten in dem Raum zwischen den beiden Heizröhren, wobei auf kleine Lageschwankungen keine Rücksicht genommen werden braucht, wie wir in eingehenden

Versuchen feststellen konnten. Fehlresultate werden erst erzielt, wenn die Röhren in direkte Nähe einer Heizpatrone geraten. Unbedingt zu beachten ist aber, daß das Gestell mit der Wasseroberfläche abschneidet; es muß daher bei jeder Reaktion neu eingestellt werden.

Das ständige Beobachten der Röhren, eine Grundforderung, die nie außer acht gelassen werden darf, geschieht nun in der Weise (das Wasserbad besteht aus Metall, so daß das Einsehen der Röhren nur von oben möglich ist), daß eine Mikroskopierlampe knapp über dem einen Rand des Wasserbades aufgestellt und das Licht durch eine Blende so in das Wasser geworfen wird, daß der Inhalt der Röhren erleuchtet ist. Nun kann der Farbumschlag ohne weiteres von der entgegengesetzten Seite der Mikroskopierlampe beobachtet werden. Zum Abschrecken der Röhren steht ein kaltes Wasserbad in einer Kolle-Schale bereit. Das Ablesen erfolgt bei Tageslicht gegen weißes Papier als Hintergrund oder bei künstlichem Licht gegen eine Mattscheibe.

Substrate zum Einspielen der Reaktion mußten zunächst in Heimatinstituten hergestellt, bzw. von diesen besorgt werden. Später stellten wir uns dann ohne besondere Schwierigkeiten selbst Substrate her. Es geschah dies in der üblichen Weise; lediglich die Bestimmung des N-Gehaltes mußten wir in der jeweils nächsten physiolog.-chem. Untersuchungsstelle durchführen lassen.

Die Reaktion wurde anfangs und auch später von Zeit zu Zeit mit Plazenta-Abbau durch Schwangerenharn überprüft. Es ergaben sich stets (mit Ausnahme der manchmal negativen Reaktion am Ende der Schwangerschaft) richtige, einwandfrei positive, bzw. negative Reaktionen. Wenn auch sicher im allgemeinen von der Forderung, sich bei der Ausführung der A. R. streng an die Originalvorschriften zu halten, nicht abgegangen werden sollte (der eine von uns hatte die A. R. bei Prof. Emil Abderhalden selbst erlernt), so konnten wir zeigen, daß die geringen Änderungen, die die Feldverhältnisse mit sich brachten, an der Zuverlässigkeit der Reaktion nichts ändern konnten. So stand auch bei anderen Anwendungsgebieten der Ausfall der Reaktion meist in Einklang mit dem klinischen Befund oder den Ergebnissen anderer, allgemein üblicher Laboratoriumsmethoden.

Über die erhaltenen Befunde, deren Deutung und diagnostischen Wert soll in einer späteren Arbeit, bei Vorliegen eines entsprechend großen Materials, berichtet werden.

Schrifttum.

Emil Abderhalden: „Abwehrfermente“. 6. Aufl. Verl. Steinkopff. 1941. Ebenda weitere Schrifttumsangaben.

(Eingegangen am 2. August 1943.)