UEBER KOMPLEMENTBINDUNGSVERSUCH BEI
DEN SEREN PULLORUMINFIZIERTER
HÜHNER, IM ZUSAMMENHANG
MIT DER PRÄZIPITATION

Von

Dr. T. KONNO und K. ZAIZEN

(Aus dem Reg.-Seruminstitut f. Tierseuchen, Fusan, Korea, Japan.

Director: Dr. Ch. Kakeizaki)

(Received for publication July 9, 1933)

Die Komplementbindung bei den Seren pulloruminfizierter Hühner scheint bisher ein einziges Mal von Bushnell and Hudson (J. Inf. Dis. 1927, 41, 288) versucht worden zu sein. Sie hatten unter Verwendung von wasserklarem Bakterienextrakt als Antigen ein gutes Ergebnis erzielt und empfahlen diese Technik als Hilfsmittel zur Ermittlung von Pullorumträgern.

Uns interessierten diese Angaben nur von wissenschaftlichem, doch nicht von praktischem Standpunkt, denn die Komplementbindungstechnik ist zu diffizil in Praxis anzuwenden, im Gegensatz zur Agglutination oder Praecipitation.

Neuerdings veröffentlichte Konno, gemeinsam mit Goto, als erster die Untersuchungsergebnisse über präzipitierende Fähigkeit der Seren von Pullorumträgern (J. Jap. Soc. Vet. Sci. 1933, 12, 53). Nach Erfahrungen waren wir der Meinung, dass solche Seren, welche deutliche Präzipitation zeigen, wahrscheinlich auch das Komplement binden können. Im Anschluss an den Versuch von Konno und Goto beabsichtigten wir deshalb zu erproben, ob in den Seren von Pullorumträgern komplementbindender Antikörper, der von Bushnell und Hudson nachgewiesen worden ist, vorhanden sei, und wenn dem so ist, die Beziehung zwischen ihm und der Präzipitation noch zu beobachten.

Zu diesem Zwecke benutzten wir ins gesamt 79 Hühnerseren, wovon 43 aus Pullorumträgern und die übrigen aus gesunden Tieren entnommen worden waren.

Technik

Komplementbindungstechnik: Wie gewöhnlich in 2.5 c.c. Gesamtflüssigkeit. Das hämolytische System bestand aus 2%iger Aufschwemmung von ausgewaschenen Hammelblutkörperchen und dem ihnen entsprechenden Hämolsin (aus Kaninchen) mit Dreifachen des Titors.

Das Komplement wurde in der kleinsten Menge (eine Einheit) verwendet. Den Technikfehler zu vermeiden setzten wir doch ein kleines Ueberschuss-0.005 c.c. zu.

Das Antigen war in folgender Weise bereitet: Die Zentrifugat aus 48-stündigen Bouillonkulturen von Pullorumstämmen wurde auf 1/10 Menge originaler Bouillon mit physiologischer Kochsalzlösung suspensiert, erwärmt bei 90°C. 30 Minuten lang im Wasserbade und 0.5% karbolsiert. Diese Abschwemmung wurde hierauf 7 Tage lang, 2 Stunden täglich, im Schüttelapparat geschüttelt, erhitzt nochmals eine Stunde bei 60–62°C, dann zentrifugiert. Die überstehende wasserklare Flüssigkeit diente als Antigen, welches für den Versuch in 1/3 der die komplementäre Wirkung noch nicht hemmenden Dose gebraucht wurde. Die Bakterienemulsion eignete sich nicht zur Anwendung, weil solche mit meisten Normalseren unspezifische Bindung zu zeigen vermochten, obgleich die Reaktion sich immer partiell erwies.

Die zu untersuchenden Seren waren sämtlich vor 2 oder 3 Monaten von Konno und Goto zwecks ihrer Untersuchung über Präzipitation entnommen und im Eiskammer (von 2 bis 3° C.) ohne Präservativ aufbewahrt worden. Zur Benutzung wurden sie einwandfrei geklärt, sowohl unerhitzt wie erhitzt bei 56°C. 30 Min. in den absteigenden Mengen von 0.05 bis 0.001 geprüft. Die Serummenge mehr als 0.05 war wegen der antikomplementären Wirkung nicht zu verwenden.

Bei der Ausführung des Versuches benutzten wir immer ein Wasserbad und setzten die beiden Phasen auf eine halbe Stunde bei 37–38°C. fest.

Das Resultat wurde tags darauf abgelesen, indem die Röhren mehrere Stunden im Eiskammer stehen lassen wurden.

Die Präzipitation wurde auf derselben Weise durchgeführt,

die schon von Konno und Goto angegeben worden ist.

Versuche

Zuerst prüften wir die Komplementbindung mit den bei 56°C. 30 Minuten lang erhitzten Seren, wobei wir kein positives Resultat erzielten, so dass weder die pullorumpositiven noch die negativen Seren selbst mit ihrer maximalen verwendbaren Menge (0.55 c.c.) das Komplement gebunden hatten. Hierauf wurde weiter untersucht, was auf die unerhitzten Seren erfolgen würde. So konnten wir hierbei eine interessante Tatsache beobachtet, dass die meisten pullorumpositiven Seren starke Komplementbindung zeigten, dagegen bei den Normalseren keine deutliche Bindung eintrat, ausgenommen einige Seren, bei denen schwache Reaktion sich äusserte.

Die Einzelheiten sind wie folgt:

(a) Von den pullorumpositiven Seren zeigten 21 (49%) starke Komplementbindung, bis 0.02 oder 0.005 komplett, 0.01 oder 0.003 partiell; 14 (31%) mässig starken Bindungswert, 0.05 oder bis 0.03 komplett, 0.03 oder 0.02 partiell und 8 (18%) ganz schwache Reaktion. (Tabelle I u. II)

(b) Die 28 (77%) von den 36 Normalseren wiesen ganz schwache oder keine Bindung auf, während bei den übrigen schwache Reaktion (partiell selbst bei 0.05) bemerkt wurde. (Tabelle III)

Diese Ergebnisse bestätigten die Angaben von Bushnell und Hudson.

Verglichen wir nächst obige Ergebnisse mit der Präzipitation von denselben Seren, so ergab sich folgendes:

(a) Bei den 21 pullorumpositiven Seren, welche starke Komplementbindung aufwiesen, trat die Präzipitation ausnahmslos sofort oder innerhalb 30 Sekunden auf.

(b) Die 14 pullorumpositiven Seren, bei denen die Komplementbindung sich mässig stark erwiesen, präzipitierten sofort oder innerhalb 30 Sekunden, mit Ausnahme eines Serums, das erst nach 6 Minuten die Präzipitation zeigte.

(c) Von den 8 pullorumpositiven Seren, die schwache Bindung ergaben, reagierten 4 innerhalb 30 Sekunden, die übrigen

erst nach 2 oder 5 Minuten.

(d) Von den 28 Normalseren, bei denen ganz schwache oder keine Komplementbindung sich zeigte, ergaben 8 die Präzipitation erst nach 2—4 Minuten, während sie bei den übrigen ganz negativ ausfiel.

(e) Die Hälfte von den 8 Normalseren, die schwache Bindung aufwiesen, äusserte sich die Präzipitation nach 2—3 Minuten.

Aus oben erwähnten Ergebnissen geht hervor, dass bei den Seren pulloruminfizierter Hühner die Komplementbindung ermöglicht werde, wenn man das aktive Serum, sei es frisches, sei es langaufbewahrtes, verwendet, ausserdem eine solche Komplementbindungsreaktion im grossen und ganzen parallel mit der Präzipitation zum Vorschein zu kommen scheint.

Bemerkenswert war dabei, dass es unter Normalseren solche gab, welche bei frischem Zustand negative Präzipitation zeigten, jedoch nach einigen Monaten positiv sich erwiesen. Diese Reaktionsschwankung scheint von den unbekannten physiko-chemischen Alterationen des Serums durch längere Aufbewahrung abhängig zu sein. Auch bei Komplementbindung begegnete uns Ungleichheit der Reaktion zwischen den frischen und den langaufbewahrten Seren, obgleich hierbei doch kein Fall beobachtet wurde, dass das positive zum negative oder umgekehrt umgeschlagen hatte.

Zusammenfassung

(1) Es wurden für Komplementbindung mit Pulloruman-tigen ins gesamt 79 Hühnerseren untersucht, wovon 43 aus pulloruminfizierten und die übrigen aus gesunden Tieren entnommen worden waren.

(2) Die Komplementbindung mit inaktivierten Seren erwies sich ausnahmslos ganz schwach oder negativ, so dass kein Unterschied zwischen ihnen bemerkt wurde.

(3) Wenn dabei die aktiven Seren angewandt wurden, so konnte nachgewiesen werden, dass bei den 35 (81%) von pullorumpositiven die Komplementbindung sich sehr oder mässig stark, bei den übrigen nur schwach erwies, dagegen bei den meisten Normalseren sie sich ganz schwach oder negativ zeigte. Diese Ergebnisse bestätigen die Angaben von Bushnell und Hudson.

Tabelle I. Komplementbindung und Präzipitation bei den Seren pullorum-infizierter Hühner

Nr. d. Hühner	Aktives Serum						Inaktiviertes Serum			Präzipitation	
	Komplementbindung bei									Resultat bei uns in Sekunden	Resultat an den- selben Seren beim Versuch v. Konno u. Goto in Sekunden
	0.05	0.03	0.02	0.01	0.005	0.003	0.05	0.03	0.01		
10	###	###	###	###	###	+	+	—	—	sofort	sofort
33	###	###	###	###	+	sp	sp	—	—	5	sofort
41	###	###	###	###	+	sp	+	—	—	5	sofort
87	###	###	###	###	###	+	sp	—	—	5	sofort
80	###	###	###	###	+	—	sp	—	—	sofort	sofort
179	###	###	###	###	sp	—	sp	—	—	5	sofort
54	###	###	###	###	+	—	sp	—	—	10	5
56	###	###	###	+	—	—	sp	—	—	15	20
73	###	###	###	+	—	—	—	—	—	10	40
97	###	###	###	+	+	—	+	sp	—	15	20
114	###	###	###	+	+	—	+	sp	—	20	20
160	###	###	###	###	—	—	—	—	—	10	25
107	###	###	###	###	###	—	sp	—	—	30	15
151	###	###	###	+	—	—	sp	sp	—	10	40
61	###	###	###	+	—	—	+	—	—	16	25
46	###	###	###	sp	—	—	sp	—	—	5	sofort
3	###	###	###	+	sp	—	+	—	—	10	10
5	###	###	###	+	—	—	sp	—	—	10	10
11	###	###	###	+	—	—	—	—	—	5	sofort
15	###	###	###	sp	—	—	sp	—	—	10	60
53	###	###	###	+	—	—	sp	—	—	5	20

Bemerkung: ### = Komplette, ## = fast komplette, +, + = Partielle, sp = Geringgradige und — = Keine Hemmung.

Tabelle II. Komplementbindung sowie Präzipitation bei den Seren pullorum-infizierter Hühner

Nr. d. Hühner	Aktives Serum					Inaktiviertes Serum			Präzipitation	
	Komplementbindung bei								Resultat bei uns in Sekunden	Resultat an denselben Serum beim Versuch v. Konno u. Goto in Sekunden
	0.05	0.03	0.02	0.01	0.005	0.05	0.03	0.01		
37	+++	+++	++	+	+	sp	—	—	10	20
39	+++	+++	+++	+	—	sp	—	—	sofort	30
29	+++	+++	+++	+	—	sp	—	—	60	40
60	+++	+++	+++	—	—	—	—	—	10	15
94	+++	+++	++	sp	—	sp	—	—	15	20
1	+++	+++	+	sp	—	—	—	—	120	30
42	+++	+++	+	—	—	—	—	—	sofort	20
140	+++	+++	+	—	—	+	sp	—	20	60
106	+++	+++	+	—	—	sp	—	—	15	60
141	+++	+++	+	—	—	sp	—	—	15	50
187	+++	+++	+	—	—	+	sp	—	15	20
193	+++	+++	+	—	—	sp	—	—	10	30
9	+++	+++	+	—	—	sp	sp	—	10	20
23	+++	+++	—	—	—	sp	—	—	30	40
192	++	+	sp	—	—	—	—	—	20	45
93	++	+	sp	—	—	+	—	—	25	20
25	++	+	—	—	—	sp	—	—	20	30
47	++	sp	—	—	—	sp	sp	—	180	120
178	++	sp	—	—	—	—	—	—	300±	150
124	++	sp	—	—	—	+	sp	—	180	60
43	++	sp	—	—	—	+	sp	—	120	60
62	+	—	—	—	—	+	—	—	15	20

Tabelle III. Komplementbindung sowie Präzipitation bei Normal-Seren

Nr. d. Hühner	Aktives Serum			Inaktiviertes Serum			Präzipitation	
	Komplementbindung bei						Resultat bei uns in Minuten	Resultat an denselben Serum beim Versuch v. Konno u. Goto in Minuten
	0.05	0.03	0.01	0.05	0.03	0.01		
4	+	—	—	—	—	—	—	—
32	—	—	—	—	—	—	5±	5
51	⦿	+	—	—	—	—	3	4
64	—	—	—	—	—	—	—	—
83	+	—	—	—	—	—	4	2
103	sp	—	—	—	—	—	3	—
104	sp	—	—	—	—	—	—	—
113	+	—	—	—	—	—	4	—
110	—	—	—	—	—	—	2	—
112	+	—	—	—	—	—	2	—
119	+	—	—	—	—	—	3	—
120	+	—	—	—	—	—	—	—
126	⦿	sp	—	—	—	—	2	2
129	⦿	+	—	—	—	—	5±	5±
131	+	—	—	—	—	—	—	—
133	sp	—	—	—	—	—	—	—
134	sp	—	—	—	—	—	—	—
136	sp	—	—	—	—	—	—	—
135	+	—	—	—	—	—	—	—
139	sp	—	—	sp	—	—	2	—
146	sp	—	—	—	—	—	—	—
153	+	—	—	—	—	—	2	2
154	⦿	—	—	—	—	—	—	—
163	+	—	—	—	—	—	—	—
168	+	sp	—	—	—	—	—	—
171	⦿	sp	—	—	—	—	2	—
173	+	—	—	—	—	—	—	—
174	+	—	—	—	—	—	—	—
176	⦿	+	—	—	—	—	—	—
183	+	—	—	—	—	—	—	—
181	+	—	—	—	—	—	—	—
185	⦿	sp	—	—	—	—	—	—
189	⦿	⦿	sp	—	—	—	2	2
190	+	—	—	—	—	—	—	—
194	+	—	—	—	—	—	—	—
199	sp	—	—	—	—	—	—	—

(4) Es wurde von uns festgestellt, dass die komplementbindende Fähigkeit von den Seren pulloruminfizierter Hühner in einem engeren Zusammenhang mit ihrer Präzipitation stand, so dass bei solchen Seren, welche positive Komplementbindung zeigten, die Präzipitation ausnahmslos bemerkt wurde, und ausserdem, dass der Gehalt an komplementbindenden Stoffen dem an Präzipitinen parallel zu gehen schien.

雛白痢保菌鶏血清ノ補體結合反應及ビ 之ト沈澱反應トノ關係ニ就テ

昆野恒太郎 財前旭夫

(釜山 獸疫血清製造所 所長: 嶋崎博士)

(昭和8年7月9日受附)

文獻ニ依ルニ雛白痢保菌鶏血清ニ於ケル補體結合反應ニ關シテハ僅カニ Bushnell and Hudson (1929) ノ記載アルニスギナイ 最近昆野及ビ五島ハ雛白痢保菌鶏血清ガ雛白痢菌ノ煮沸えきスニ對シ沈澱反應ヲ呈スルヲ實驗シ該反應檢査法ハ試験管凝集反應又ハ血清迅速凝集反應ニ代用セラレ得ベシト報告シテ居ル著者ハ沈澱反應ガ陽性ナル血清ニ於テハ補體結合反應モ亦陽性ナラントノ思想ヲ以テ曩キニ昆野及ビ五島ノ實驗ニ使用サレタ保菌鶏 43 羽及ビ健康鶏 36 羽ノ血清ニ就キ補體結合反應及ビ沈澱反應ヲ檢査シテ見タ補體結合反應ノ術式ハ一般法ニ同ジクあんちげントシテハ雛白痢菌えきス (60—62°C 加温及ビ振盪ニヨリテ得タル透明えきス) ヲ用ヒタ其成績次ノ通りデアル

(1) 非働性血清ニヨル補體結合反應ハ悉ク極メテ弱度カ又ハ陰性ヲ示シ保菌鶏ト健康鶏ノ差別ガナイ

(2) 反之働性血清ヲ應用シタ場合ニハ

a. 雛白痢保菌鶏血清 43 ノ内 35 (81%) ハ補體結合反應強度又ハ稍強度ヲ示シ其他ハ弱又ハ微弱度ヲ呈シタ

- b. 健康鶏血清 36 ノ内 28 (78%) ハ補體結合極メテ微弱又ハ陰性デ他
ハ弱反應デアツタ

即チ補體結合反應ハ大體ニ於テ保菌鶏ト健康鶏ヲ鑑別スルニ役立ツコトガ
知ラレル

(3) 補體結合反應ト沈澱反應トハ大體ニ於テ平行シタ

即チ沈澱反應強陽性血清ノ大多數ハ補體結合反應モ亦強ク沈澱反應弱又ハ
陰性ナル血清ノ大多數ニ於テハ補體結合反應モ弱又ハ陰性デアツタ

(自抄)