

Über die Trockenblutprobeagglutination mit Leichenblut.

Von

W. Steuer,

Oberarzt d. R.,

Leiter der Hygienisch-bakteriologischen Heeresuntersuchungsstelle Krakau.

Mit 3 Tabellen.

(Eingegangen am 21. August 1942.)

Die Anwendbarkeit der *Gruber-Widalschen* Reaktion am Kranken- wie am Leichenblut in der gleichen Weise läßt es naheliegend erscheinen, die zur Schnelldiagnose bei Infektionskrankheiten angegebene Trockenblutprobeagglutination (Tr.B.A.) ebenfalls am Leichenblut zu versuchen. Sie bietet den Vorteil, schon am Beginn oder während der Sektion das makroskopische Bild in wenigen Minuten zu bestätigen oder neue Hinweise zu geben, bevor noch das Ergebnis histologischer und serologisch-bakteriologischer Laboratoriumsuntersuchungen vorliegt. Sowohl bei Typhus, Paratyphus und Ruhr, wie insbesondere auch bei Fleckfieber ist dies von praktischer Bedeutung, da eine makroskopische Diagnosestellung nach dem Befund nicht immer möglich ist. Bei Typhus-Paratyphus liegt das an dem wechsellvollen Symptomenbild, das keine deutliche Mitbeteiligung des Darmes aufzuweisen braucht, darüber hinaus können vorhandene Entzündungserscheinungen des Darmes — ebenso wie bei Ruhr — nicht immer deutlich charakteristisch erscheinen. Bei Fleckfieber schließlich ist auch in typischen Fällen eine offensichtliche spezifische Organschädigung nicht völlig einwandfrei in situ zu sehen.

Die serologische Untersuchung als diagnostisches Hilfsmittel bei unklarem Krankheitsbild Verstorbenen oder bei unbekannten Leichen kann also wertvolle Anhaltspunkte oder gar volle Klarheit herbeiführen. Inwieweit dazu die Tr.B.A. als Schnellmethode benutzt werden kann, soll im folgenden dargelegt werden.

Zu diesem Zweck sind rund 250 Leichenblute untersucht worden. Es handelt sich um verschiedenartige Krankheitsfälle und Todesursachen, um einerseits die Spezifität des an sich schon veränderten und getrockneten Leichenblutes nachzuweisen, andererseits in den spezifischen Fällen die Titerstufen festzustellen, die erfaßt werden.

Die angewandte Technik der Tr.B.A. ist hier die gleiche wie bei der Untersuchung von Krankenblut. Sie ist früher an anderer Stelle eingehend geschildert und in der Münch. med. Wschr 1942, Nr. 2, nochmals zusammenfassend behandelt worden. Sie ist dort, vor allem auch wegen der möglichen Fehlerquellen, nachzulesen. Hier sei nur erwähnt, daß mit einer Normalöse von 2 mm Durchmesser (Drahtdicke 0,5 mm)

3 Blutstropfen von der Leiche (Herzblut oder anderes) entnommen und auf einem Objektträger nebeneinander ausgebreitet und getrocknet werden. Sofort oder später wird abgetötete, im allgemeinen formolisierte Bacillenaufschwemmung den Tropfen zugesetzt, und zwar dem 1. Tropfen 0,02 ccm, dem 2. Tropfen 0,04 ccm, dem 3. Tropfen 0,08 ccm. Nach öfterem leichten Hin- und Herneigen des Objektglases zur besseren Lösung und Mischung der reagierenden Substanzen wird die Reaktion nach 1, 5, 10 Min. bei Untersuchung mit *Proteus* OX 19-Bacillen auf Fleckfieber, nach 1, 5, 15 Min. bei Prüfung mit Typhus-, Paratyphus- oder Enteritiskeimen und nach 10, 20, und 30 Min. bei Agglutination mit *Shiga-Kruse*-, *Flexner*- oder *Kruse-Sonne*-Bakterien abgelesen. Bei negativem Ausfall bleibt die Bacillenaufschwemmung homogen verteilt wie am Anfang. Bei positivem Ausfall treten entsprechend der Höhe des Serumtiters alsbald oder später fein-, mittel- oder grobkörnige, bei den beigeßelten Keimen (Typhus-, Paratyphus-, Enteritiskakterien) flockige oder gemischte, grauweiße Agglutinate auf. Die Ablesung erfolgt mit der Lupe oder bloßem Auge gegenüber schwarzem Hintergrund oder mit Hilfe des angegebenen Objektglasagglutinoskops. Instrumente und Reagenzien für die Tr.B.A. können in einem handlichen Kästchen (wird demnächst veröffentlicht) bequem überallhin mitgeführt werden.

Die eigenen Untersuchungen von Leichenbluten sind in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt. Der Vergleich serologischer Reaktionen gleicher oder ähnlicher Art untereinander ist natürlich mit verschiedenen Ungenauigkeiten behaftet, die von dem jeweiligen Zustand und der Empfindlichkeit der reagierenden Substanzen einerseits, von technischen Umständen bei der Ausführung und allgemeinen Momenten beim Agglutinationsvorgang andererseits abhängig sind.

Aus der Zusammenstellung ist ersichtlich, daß die Tr.B.A. mit der *Gruber-Widalschen* Serumreaktion im großen und ganzen gleichsinnig verläuft und ansteigt. Natürlich müssen kleine Unterschiede im Ausfall der Tr.B.A. vorhanden sein, da auch noch der Serum-Blutkörperchenanteil des Leichenblutes jeweils ein anderer ist und von dem Grad der Gerinnung abhängt. Serumtiter von 1:0 und 1:50 sind durchweg mit dem Trockenblut negativ ausgefallen, Titerstufen 1:100 und 1:200 sind je nach dem Serumanteil im Tropfen negativ, zweifelhaft oder positiv gewesen. Höhere Titer als 1:200 mit Typhus-, *Flexner*- und *Proteus* OX 19-Bacillen sind ohne Ausnahme deutlich bzw. stark positiv angezeigt worden. Entsprechende Titer für Paratyphus-B und -C-Bacillen waren leider in dem Material nicht enthalten, dürften aber analog — wie beim Krankenblut schon erwiesen — reagieren. Zur Erfassung diagnostisch verwertbarer Titerstufen wird man sich also mit Vorteil der Schnellreaktion auf dem Objektträger bedienen können.

Ein Nachteil der Agglutinationsprüfung im allgemeinen ist es allerdings, daß sie nicht streng spezifisch ist, sondern auch bei heterologen

Tabelle 1. Agglutininprüfung mit Leichenbluten.

Zahl der Fälle	Titer	Tr.B.A. mit homolog. formulierter Bacillenaufschwemmung			Diagnose
		0,02	0,04	0,08	
Gruber-Widal-Reaktion mit:					
Typhusbacillen					
34	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	4 Tbc., 4 Periton., 6 Ca., 2 Pneumon., 3 Art. skler. 2 Mening., 4 Typh. ex., 2 Anämie, Lues, Ost. myel. Dysent., Ikterus, Vit. cord., Emphys.
1	1 : 100 =	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Typh. abd.
1	1 : 200 = (0)	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Typh. abd.
4	1 : 800	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	Typh. abd.
2	1 : 1600	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	Typh. abd.
1	1 : 3200	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	Typh. abd.
1	1 : 6400	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	Typh. abd.
Paratyphus B-Bacillen.					
39	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Wie oben. Anzahl etwas verschieden
1	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
Paratyphus C-Bacillen.					
40	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Wie oben. Anzahl etwas verschieden
1	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
Flexner-Bacillen.					
19	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Wie oben. Anzahl etwas verschieden
9	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
1	1 : 100 =	—/—/—	—/—/—	—/—/—	2 Ca., 2 Typh. abd., 2 Typh. ex., 2 Tbc., 1 Lues. Tbc.
4	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	2 Ca., Tbc., Pneumonic Typh. abd., Peritonitis.
2	1 : 100	+ / + / —	—/—/—	—/—/—	2 Typh. abd., Ikterus
3	1 : 200	+ / + / —	+ / + / +	—/—/—	2 Dysenterie
2	1 : 200	+ / + / —	+ / + / +	—/—/—	Typh. abd., Dysenterie
3	1 : 400	+ / + / —	+ / + / +	—/—/—	Typh. abd.
1	1 : 1600	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	Meningitis
1	1 : 3200	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	
Shiga-Kruse-Bacillen.					
45	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Wie oben bei Paratyph. B
Proteus OX 19-B.					
197	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Wie oben. dazu 5 Enter., 8 Dysent., 19 Pneum., 17 Tum., 31 Tbc., 11 Typh. abd., 1 Typh. ex., 65 sonstiges
13	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Wie oben bei Paratyph. B
1	1 : 100 =	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
2	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Peritonitis
4	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Typh. abd. Tbc.
		+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	2 Tbc., Cirrh.
1	1 : 200	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Anämie
2	1 : 200	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Peritonitis
2	1 : 400	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Typh. ex., Typh. abd.
2	1 : 800 =	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	2 Res.il.
1	1 : 800	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	2 Typh. ex.
1	1 : 1600	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	1 Typh. ex.
4	1 : 3200	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	1 Typh. ex.
3	1 : 6400	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	4 Typh. ex.
4	1 : 12800	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	3 Typh. ex.
4	1 : 25600	+ / + / +	+ / + / +	+ / + / +	4 Typh. ex.

Krankheiten oder Gesunden mehr oder weniger stark positiv ausfallen kann, wie bekannt und auch aus der letzten Rubrik der Tabelle 1 ersichtlich. Es handelt sich dabei um Mit-, Normal-, anamnestic Agglutination oder Impfwirkung, die sich im Laufe krankhafter Prozesse verschiedener Art auch noch verstärken kann. Dies trifft besonders für *Flexner*-Agglutinine zu. Diese Tatsache und diagnostische Einschränkung muß also bei der Schnell- wie auch bei der Serum-Langsamagglutination in gleicher Weise berücksichtigt werden. Trotzdem werden deutliche und stark positive Reaktionen für Typhus, Paratyphus, Ruhr oder Fleckfieber als diagnostisches Hilfsmittel, das letztthin alle serologischen Untersuchungen nur sind, von praktischer Bedeutung sein können, wenn dem der weitere Sektionsbefund nicht schon makroskopisch oder später im histologischen Bild widerspricht.

Eine andere Schwierigkeit ist es, wenn das Leichenblut schon bei Anstellung der serologischen Reaktion hämolytisch ist. Dann ist weitere Vorsicht am Platze, da solches Blut zu Spontanagglutination neigen kann¹. Tabelle 2 gibt einen Überblick über 42 verschiedentlich geprüfte hämolytische Proben.

In einem Falle sind beide Reaktionen spontan hoch positiv für Fleckfieber bei vorliegender Dysenterie ausgefallen. In drei weiteren Fällen ist der Serumtiter mit *Proteus* OX 19-Bacillen 1:0 gewesen, die Tr.B.A. dagegen spontan positiv bzw. stark positiv. Die pathologisch-anatomische Diagnose schließt aber eine Spezifität der Agglutination sicher aus. Von zwei hämolytischen Leichenbluten (in der Tabelle nicht aufgenommen) war trotz Zentrifugieren kein Serum zu erhalten, sie bestanden nur aus gelösten Blutkörperchen. In einem Fall lautete die Diagnose Dysenterie; die Tr.B.A. mit *Proteus* OX 19-Bacillen war negativ, mit Ruhrkeimen würde leider nicht geprüft. Der zweite Fall war an Fleckfieber gestorben, das Trockenblut reagierte mit *Proteus* OX 19 stark positiv. Wo kein Serum zu erhalten ist, kann die Schnellmethode also noch einen diagnostischen Hinweis liefern. Einmal löste sich der angetrocknete hämolytische Blutstropfen bei Ansetzen der Reaktion in kleinen bräunlichen Klümpchen wieder völlig ab, vielleicht weil es sich um Speckhautgerinnsel handelte oder der Objektträger selbst fettig war. Durch die bräunliche Farbe und das gleichmäßige Aussehen in allen drei Tropfen konnte diese Erscheinung von spezifischer Agglutination unterschieden werden. In den übrigen Fällen sind Unterschiede zwischen verdorbenem und unverdorbenem Blut nicht gefunden worden.

Um bei Leichen, deren Blut bereits hämolytisch ist, serologische Untersuchungen durchführen zu können, besteht noch die Möglichkeit, andere Körperflüssigkeiten sowie Ex- und Transsudate hierzu heran-

¹ Dies hängt wohl von der jeweiligen Ursache der Hämolyse ab.

Tabelle 2. Agglutininprüfung mit hämolytischen Leichenbluten.

Zahl der Fälle	Titer	Tr.B.A. mit homolog. formolisierter Bacillenaufschwemmung			Diagnose
		0,02	0,04	0,08	
Gruber-Widal-Reaktion mit:					
Typhusbacillen.					
8	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Peritonitis, 2 Ca., 2 Dysent., 2 Typh. ex., Pneumonie Carcinom Typh. ex.
1	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
1	1 : 400 (H)	+/+/+	+/+/+	+/+/+	
	1 : 100 (O)	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
Paratyphus B-Bacillen.					
8	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Peritonitis, 2 Ca., 2 Dys., 2 Typh. ex., Pneumonie. — Typh. ex., Ca.
1	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
1	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
Paratyphus C-Bacillen.					
9	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	1 : 50 = Ca., sonst wie oben
1	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
Shiga-Kruse-Bacillen.					
8	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Peritonitis, 2 Ca., 2 Dysent., 2 Typh. ex., Pneumonie. Ca., Typh. ex.
2	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
Flexner-Bacillen.					
4	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Peritonitis, 2 Ca., Dysent., Typh. ex., Ca. Ca.
2	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
1	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
2	1 : 200	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Pneum., Typh. ex. Dysenterie
1	1 : 1600	+/+/+	+/+/+	+/+/+	
Proteus OX 19-Bacillen.					
23	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	2 Perit. 3 Ca., 3 Pneum., 2 Dysent., Typh. abd., 2 Enter., Myelosis, 4 Tbc., Mening., Ikterus, Insuff., Tetanus, Combustio
1	1 : 0	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
2	1 : 0	+/+/+	+/+/+	+/+/+	
6	1 : 50	—/—/—	—/—/—	—/—/—	Aneurysma Sepsis puerp., Nephritis chron. Pneumonie, Hernie, Tbc., Mening., Ca., Sepsis, Tbc.
1	1 : 100	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
1	1 : 200	—/—/—	—/—/—	—/—/—	
1	1 : 200	+/+/+	+/+/+	+/+/+	Peritonitis Tbc. Typh. abd., Ca., Osteomyel
3	1 : 400	+/+/+	+/+/+	+/+/+	
1	1 : 3200	+/+/+	+/+/+	+/+/+	
2	1 : 12800	+/+/+	+/+/+	+/+/+	Dysenterie Typh. ex. Typh. ex.
1	1 : 25600	+/+/+	+/+/+	+/+/+	

zuziehen. Einige Urinprüfungen ergaben sehr niedrigen oder fehlenden Agglutiningehalt, auch bei hohem Blutserumtiter. Brauchbarer erscheint der Liquor cerebrospinalis. Eine positive *Weil-Felix*-Reaktion im Liquor

bei Fleckfieber hat *Randerath* bei seinen Untersuchungen mit einer Ausnahme in allen Fällen gefunden, wenn auch der Titer stets niedriger als im Leichenblut war, und zwar niemals über 1:200. In Anbetracht des vorhandenen geringen Titors empfiehlt es sich bei Heranziehung der Lumbalflüssigkeit zur Schnellreaktion, die Bakterienaufschwemmung dem flüssigen Liquortropfen auf dem Objektglas sofort zuzusetzen, also noch bevor er angetrocknet ist, da beim Trocknen ein Teil der Agglutinine verloren geht. Das Trocknen ist hier überhaupt nicht von der gleichen Bedeutung wie bei Blut, wo es in erster Linie die unerwünschten Blutkörperchen zu beseitigen gilt, und nur bei einem Transport oder Versand der auf das Objektglas entnommenen Probe von Nutzen, wenn die Reaktion nicht an Ort und Stelle ausgeführt wird. Bei Fleckfieberfällen konnte die Liquor-Schnellagglutination bisher noch nicht geprüft werden, dagegen konnte bereits an 54 Proben verschiedener anderer Krankheiten die Spezifität der Untersuchung erwiesen werden. In allen Fällen war die Reaktion mit Typhus-, Paratyphus-, Ruhr- und *Proteus* OX 19-Bacillen negativ, also niemals unspezifisch. Zu gegebener Zeit wird auch über das Ergebnis der Prüfung von Fleckfieberliquor berichtet werden.

Schließlich ist noch in einigen Fällen von Fleckfieber geprüft worden, wie sich der Titer des Leichenblutes zu dem des Krankenblutes verhält. Verschiedentlich sind Ansichten geäußert worden, daß der Leichenbluttiter bedeutend niedriger und unter Umständen negativ sein kann. *Hübener* und *v. Glinski* hatten unter 49 Fleckfieberleichen eine negative Reaktion bei 6, eine schwache Agglutination von 1:25 bei 2 Fällen. Auch bei den eigenen Untersuchungen ist ein Blut trotz spezifischer Krankheit negativ gewesen (s. Tabelle 1). Dies würde in erster Linie der bekannten Tatsache entsprechen, daß schon während der Krankheit bei Fleckfieber — ebenso bei Typhus, Paratyphus, Ruhr — manchmal kein oder nur ein unbedeutender Agglutinintiter vorkommt. Wo aber ein *Proteus* OX 19-Titer bei Fleckfieber aufgetreten ist, scheint er bei letalem Ausgang im allgemeinen nicht abzusinken. *Randerath*, der bei histologisch sicher nachgewiesenem Fleckfieber nie eine negative Reaktion hatte, konnte in allen seinen Fällen feststellen, daß im Leichenblut geradezu höhere Titer vorkommen, als zu Lebzeiten gefunden worden waren. Ebenso war es bei den wenigen von uns daraufhin untersuchten Fällen, die nachstehend wiedergegeben sind (Tabelle 3).

Die noch vertretene Meinung vom Absinken eines vorhandenen Titors vor dem Tode kann also durch die Nachprüfungen nicht bestätigt werden. Der Tod wird ja bei Infektionskrankheiten im allgemeinen auch nicht durch das Versagen des ganzen Immunitätsapparates, sondern durch irgendeine besondere, schwere, nicht auszugleichende Schädigung eines bestimmten Organes, Organsystems oder deren Folgen herbeigeführt.

Tabelle 3. *Weil-Felix*-Titer während der Krankheit und mit Leichenblut.

Nr.	W.F.-Reaktion während der Krankheit		Gestorben am	W.F.-Titer mit Leichenblut
	am	Titer		
1	11. 11. 41	1 : 0	18. 11. 41	1 : 3200
2	30. 1. 42	1 : 100	2. 2. 42	1 : 1600
3	12. 1. 42	1 : 100	9. 2. 42	1 : 3200
4	22. 1. 42	1 : 200	25. 1. 42	1 : 3200
5	16. 12. 41	1 : 400	18. 12. 41	1 : 25600
6	21. 1. 42	1 : 1600	25. 1. 42	1 : 25600
7	12. 1. 42	1 : 6400	25. 1. 42	1 : 25600
8	24. 11. 41	1 : 12800	25. 11. 41	1 : 12800

Zusammenfassung.

Es wird die Anwendung der Trockenblutprobeagglutination am Leichenblut geschildert, desgleichen die Möglichkeit und die Grenze ihrer Brauchbarkeit bei bereits hämolytischem Blut. Auf die weitere diagnostische Heranziehung des Liquor cerebrospinalis in solchen Fällen wird hingewiesen.

Schrifttum.

Hübener u. v. Glinski: Veröff. Med.verw. 8, 321 (1918). — *Kudicke u. Steuer*: Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. 1940, H. 40. — *Randerath*: Med. Klin. 1941 I, 435, 462. — *Steuer, W.*: Z. Immun.forsch. 99, 330; 100, 137, 149, 301; 101, 102. — Münch. med. Wschr. 1942, 33; ferner im Druck.