

vorerst sehr spärlichen Untersuchungen vermuten dürfen, auch für Spermaflecken. Um eine möglichst rasche Klärung dieser nun doch einigermaßen umstrittenen Verhältnisse herbeizuführen, schlage ich Untersuchungen auf möglichst breiter Basis vor, damit vor allem auch die genetischen Verhältnisse einer näheren Klärung zugeführt werden können.

Literatur

- ANDERSEN, A.: *Acta path. microbiol. scand.* **31**, 4 (1952).
 BRAHN, B., u. F. SCHIFF: *Klin. Wschr.* **8**, 33, 1523 (1929).
 DODD, B., and M. PEREIRA: *III. Intern. Kongr. f. forens. Immun., Path. and Tox.* London, April 1963.
 FRIEDENREICH, V.: *Z. Immun.-Forsch.* **91**, 39 (1937).
 —, u. G. HARTMANN: *Z. Immun.-Forsch.* **92**, 141 (1938).
 GREENFIELD, G.: *Z. Immun.-Forsch.* **56**, 107 (1928).
 HENNINGSEN, K.: *Acta path. microbiol. scand.* **26**, 639, 769 (1949).
 HOLZER, F. J.: *Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med.* **28**, 234 (1937).
 LEHRS, H.: *Z. Immun.-Forsch.* **66**, 175 (1930).
 MARESCH, W., u. E. WEHRSCHÜTZ: *Arch. Kriminol.* **132**, 1 (1963).
 PUTKONEN, T.: *Acta Soc. Med. „Duodecim“* **14** (2), 107 (1930).
 SCHIFF, F., u. H. SASAKI: *Klin. Wschr.* **11**, 34, 1426 (1932).
 YAMAKAMI, K.: *J. Immunol.* **12**, 184 (1926).

Prof. Dr. W. MARESCH, Graz, Universitätsplatz 4 II,
 Institut für gerichtliche Medizin der Universität

J. JUNGWIRTH (München): Vergleichende Untersuchungen zum P-Test.

Das Studium der inkompletten Antikörper zeigt eine fast unüberschbare Vielfalt von Nachweismethoden. Seit Erkennung der klinischen Bedeutung dieser Antikörper ist das Interesse daran ständig gewachsen, was aus der Fülle der wissenschaftlichen Arbeiten über dieses Thema ersichtlich ist. Die eingehende Erforschung der Gm-Serumgruppen lieferte weitere wichtige Erkenntnisse. Erst in jüngster Zeit scheinen sich erhebliche Fortschritte in der Abklärung der Antikörperwirkung im Bereich der Gammaglobulinmoleküle abzuzeichnen.

Bei der Vielzahl der angebotenen Nachweismethoden ist es selbst für den Fachmann meist unmöglich, sämtliche Methoden auf ihre Brauchbarkeit vergleichend zu testen. Dieses schwierige Unterfangen ist m.E. nicht notwendig, da die meisten ohnehin nur wissenschaftliches Interesse beanspruchen, für eine allgemeine Anwendung wegen ihrer relativ umständlichen Ausführung nicht in Frage kommen. Es handelt sich vielmehr darum, für die praktische Anwendung geeignete Verfahren auszuwählen und kritisch zu prüfen. Hierbei sind jedoch einige wesentliche Voraussetzungen zu beachten:

- a) Einfachheit der Ausführung,
- b) Wirtschaftlichkeit des Verfahrens,
- c) Sicherheit.

Aus der Fülle der mitgeteilten Nachweistechniken scheint eine die gewünschten Voraussetzungen fast in idealer Weise zu erfüllen, nämlich der von PROKOP und LILLCHMANN-CHRIST mitgeteilte sog. „P-Test“. Es handelt sich hierbei um ein Agglutinationsphänomen sensibilisierter Erythrocyten, das durch Zugabe einer hypotonischen Kochsalzlösung ausgelöst werden kann. In diesem Zusammenhang soll lediglich die praktische Bedeutung dieses Phänomens besprochen werden; theoretische Betrachtungen verbieten sich aus äußeren Gründen.

Hinsichtlich Wirtschaftlichkeit und Einfachheit der Ausführung steht dieses Verfahren zweifellos unübertroffen an der Spitze sämtlicher bekannter Untersuchungstechniken. Es steht daher lediglich die Frage der Sicherheit zur Debatte. Eine Bearbeitung dieses Problems erschien nur durch Vergleichsuntersuchungen mit einem bekannten bewährten Verfahren zweckmäßig. Hiefür bot sich der Antiglobulintest vorzugsweise an, da dessen Wert gerade durch den P-Test gemindert schien. Andererseits ist zu berücksichtigen, daß der Antiglobulintest unbestritten als die sicherste Routine-nachweismethode für inkomplette Antikörper gilt. Als weitere Kontroll- und Vergleichsmöglichkeiten wurde die gleichzeitige Ausführung dieser Teste mittels der sog. Eldonkarte zur Verträglichkeitsbestimmung gewählt. Hier galt es ebenfalls, festzustellen, wie weit der Reaktionsausfall mit den übrigen Methoden Übereinstimmung zeigt. Gerade im Interesse einer eigenen Meinungsbildung über den Wert der Kartenmethode erschien es zweckmäßig, diese vergleichend zu prüfen.

Die Erfassung inkompletter Antikörper ist nach zwei Gesichtspunkten durchzuführen. Von besonderer klinischer Bedeutung ist der Nachweis in vivo gebundener inkompletter Antikörper an den Erythrocyten wie beispielsweise bei Neugeborenen mit MHN oder bei Patienten mit hämolytischer Anämie. Neben dieser Anwendung ist der Nachweis freier inkompletter Antikörper im Patientenserum von Bedeutung, wie bei der Verträglichkeitsprüfung vor Transfusionen. Beide Methoden wurden in die vergleichende Untersuchung einbezogen. Zusammen mit meiner Mitarbeiterin L. CORINTH wurden insgesamt 588 Blute getestet. Davon entfielen auf den direkten Antiglobulin- und P-Test 64 Neugeborenenblute, die nur wenige Stunden alt waren, sowie 90 Blute von Patienten mit einer eventuell vorliegenden erworbenen hämolytischen Anämie.

Im indirekten Antiglobulin- und P-Test wurden insgesamt 434 Seren getestet, davon waren 216 Gefrierseren. Bei 200 dieser Seren wurden zu Vergleichszwecken unter gleichen Bedingungen auf der Eldonkarte der

indirekte Antiglobulin- und der Papaintest durchgeführt. Ein Teil der getesteten Patientenserien war von uns bereits früher nach anderen Methoden untersucht worden. Außerdem lagen vielfach die Ergebnisse von Titerbestimmungen dieser Seren vor.

Material und Methodik

Der Antiglobulintest diente als Standardverfahren für die vergleichende Untersuchung. Für sämtliche Untersuchungen wurde dasselbe Antiglobulinserum verwendet. Es handelte sich dabei um ein selbstgewonnenes Kaninchen-Immunserum, welches wir nunmehr seit über 9 Jahren in gleichbleibender Reaktionsstärke gebrauchen. Eine besondere Gewähr für gleiche Versuchsbedingungen war dadurch gegeben. Es zeigte eine optimale Wirksamkeit für Rh-sensibilisierte Blutkörperchen bei einer Gebrauchsverdünnung von 1:100. Die Antiglobulinteste wurden auf einer Glasplatte ausgeführt. Die verschiedenen Vergleichstests wurden jeweils hintereinander durchgeführt, so daß die vorangehenden Vorgänge wie Inkubieren und Waschen für sämtliche Untersuchungen gleich waren. Die Kontrollproben waren ebenfalls stets dieselben. Lediglich zur Ausführung des P-Tests wurde nochmals zentrifugiert, um ein möglichst dichtes Sediment zu erhalten. Ein Tropfen Sediment wurde mit einem Tropfen einer 0,5%igen Kochsalzlösung beschickt und nach 2 min Stehen vorsichtig verrührt.

Die Vergleichsuntersuchungen wurden auf Eldonkarten zur Verträglichkeitsbestimmung durchgeführt, wobei nach der dort angegebenen Technik gearbeitet wurde. Es handelte sich dabei jeweils um einen angetrockneten Antiglobulin- und einen Papaintest auf den Kartenfeldern. Zur Kontrolle des Antiglobulintestes beschickten wir die negativen Reaktionsfelder mit einem Mikrotropfen sensibilisierter Blutkörperchen, was stets prompte Agglutinationsreaktion zur Folge hatte. Bei Testung von eingefrorenen gelagerten Seren wurden an Stelle der eigenen Erythrocyten solche des Typs 0 rr zur Prüfung der Papainkartenreaktion verwendet. Auf weitere technische Einzelheiten kann aus räumlichen Gründen nicht näher eingegangen werden.

Ergebnis

Von insgesamt 588 Vergleichsuntersuchungen entfielen 434 auf den indirekten Antikörpernachweis. Von letzteren fiel der indirekte Antiglobulintest in 221 Fällen, der P-Test in nur 60 Fällen positiv aus.

In umgekehrtem Verhältnis steht dagegen das Ergebnis des direkten Antikörpernachweises an den Erythrocyten. Bei 64 frischen Neugeborenenbluten fiel der direkte Antiglobulintest neunmal positiv aus, im Gegensatz zu 22 Fällen beim P-Test. In jenen vom Antiglobulintest abweichenden Fällen handelte es sich um klinisch gesunde Rh-positive Kinder rh-negativer Mütter ohne Symptome des MHN. Ein ähnliches Verhalten fand sich bei 90 Patientenbluten mit Verdacht auf hämolytische Anämie. Hier war der direkte Antiglobulintest 15mal positiv im Gegensatz zum P-Test, der in 26 Fällen positiv ausfiel.

Bei 200 Seren wurden zusätzliche Paralleluntersuchungen mittels Antiglobulin- und Papaintest durchgeführt. Hierbei stimmte bei den

175 positiven Reaktionsausfällen der Eldon-Antiglobulintest mit unserem Standard-Antiglobulintest völlig überein, während der Papaintest in 161 Fällen positiv ausfiel. Beim P-Test konnte hingegen nur in 38 Fällen eine positive Reaktion festgestellt werden. Von den 25 in beiden Antiglobulintesten negativen Reaktionsausfällen waren beim Papaintest vier, beim P-Test eine positive Reaktion zu beobachten. Bei diesen 200 unter völlig gleichen Bedingungen durchgeföhrten Untersuchungen zeigten also nur die beiden Antiglobulinteste identisches Verhalten, während der Papaintest vergleichsweise eine geringe und der P-Test eine sehr stark herabgesetzte Empfindlichkeit aufwiesen.

Nach unseren Erfahrungen scheint der P-Test beim direkten Antikörpernachweis eine Tendenz zur Unspezifität aufzuweisen, da alle abweichenden Befunde von klinisch gesunden Menschen stammten. Im Gegensatz dazu gelang der indirekte Antikörpernachweis mittels P-Test nur etwa in einem Viertel der Fälle. Dieser Überschuß an sog. falschen negativen Reaktionen dürfte wohl zum Teil durch die Lagerungseinflüsse und dem damit verbundenen Komplementschwund bedingt sein. Während zum direkten Antikörpernachweis praktisch nur frische Blutproben dienten, setzt sich das Material für den indirekten Antikörpernachweis aus älteren, eingesandten und eingefrorenen gelagerten Serumproben zusammen.

Noch ein Wort zum Sicherheitsproblem.

Die sog. falschen negativen Reaktionen beim P-Test können im Gegensatz zum Antiglobulintest nicht überprüft werden. In letzterem Fall werden einfach sensibilisierte Blutzellen auf die negativen Reaktionsfelder nachträglich aufgetropft, wobei die sofort eintretende Agglutination die Spezifität der Reaktion beweist. Das Agglutinationsphänomen beim P-Test war zuweilen sehr schwierig zu beurteilen. In einigen Fällen verschwand eine anfängliche Agglutination nach wenigen Sekunden wieder vollständig. Ein ähnliches Verhalten war auch bei den positiven Kontrollreaktionen nicht selten zu beobachten. Unter Berücksichtigung dieser Umstände erscheint der P-Test in der ursprünglichen angegebenen Technik nicht geeignet, als Einzelverfahren den Antiglobulintest zu ersetzen.

Entsprechend dem erheblichen klinischen Aussagewert derartiger Untersuchungen muß die Frage der Sicherheit stets erstes Anliegen bei der Beurteilung neuer Untersuchungsverfahren sein.

Professor Dr. JUNGWIRTH, 8 München, Frauenlobstr. 7,
Institut für gerichtliche und Versicherungsmedizin der Universität

E. STICHNOTH (Münster): Zur Genese der Gm-Antikörper.