

Da pesquisa de antígeno e de anticorpo pela fixação de complemento

pelo

Dr. Arthur Moses.

Ueber den Nachweis von Antigen und Antikörper durch Komplementablenkung

von

Dr. Arthur Moses.

O diagnóstico preciso e rápido das moléstias infetuosas de grande alcance para fins profiláticos e terapêuticos, outrora, dependente da verificação microscópica do germen, consegue-se hoje, pesquisando os anticorpos específicos elaborados pelos microorganismos, agentes da infecção.

A aglutinação constitui, após os trabalhos de GRUBER e WIDAL prova robusta de diagnóstico, principalmente, nas infecções causadas pelos germens do grupo coli-tifo; a pesquisa de bacteriolizinas no soro dos doentes entrou para a prática clínica com os estudos de STERN e para o diagnóstico da infecção stafilocócica aconselham, de longa data, BRUCK, MICHAELIS e SCHULTZE a verificação no sangue da stafiloantilizina.

Tornou-se mais lata a aplicação prática da pesquisa de anticorpos, após os estudos de BORDET e GENGOU que revelaram na maior parte dos soros microbianos a presença de produtos de reação específica.

Não nos deteremos no estudo da natureza desses anticorpos. Na Alemanha NEUFELD que com especial cuidado estudou o assunto opina pela existência de novo anticorpo diferente dos já descritos, criando para elle a denominação de *anticorpo* de BORDET. Em recente revista histórica e crítica sobre fixação de

Eine sichere und schnelle Diagnose der Infektionskrankheiten ist für prophylaktische und therapeutische Zwecke von grosser Bedeutung; während dieselbe früher vom mikroskopischen Nachweise des Erregers abhing, erreicht man sie heute durch den Nachweis der spezifischen Antikörper, welche durch die Infektionsträger hervorgerufen werden.

Seit den Arbeiten von GRUBER und WIDAL bildet die Agglutination einen wichtigen Beweis für die Diagnose, besonders bei Infektionen, welche durch Bakterien der Coli-Typhusgruppe verursacht werden; der Nachweis von Bakteriolytinen im Blutserum der Kranken wurde durch die Studien von Stern in die klinische Praxis eingeführt und BRUCK, MICHAELIS und SCHULTZE empfahlen schon vor langer Zeit für die Diagnose der Staphylococcusinfektion das Aufsuchen des Staphyloantilyns im Blute; die praktische Anwendung des Antikörpernachweises wurde jedoch erst durch die Studien von BORDET und GENGOU verallgemeinert, da dieselben in dem grössten Teil der Mikrobiensera die Gegenwart von spezifischen Reaktionsprodukten erwiesen. Ich will mich hier nicht mit dem Studium der Natur dieser Antikörper aufhalten.

In Deutschland ist NEUFELD, welcher den Gegenstand besonders sorgfältig studierte, der Ansicht, dass ein neuer Antikörper existiert,

complemento é essa opinião contestada por BORDET que persiste em responsabilizar pelo fenomeno a que ligou o nome um anti corpo da natureza de amboceptor.

Essa determinação indireta do agente da entidade morbida só é applicavel nos cazos em que o organismo se acha durante algum tempo sob a ação do germen de modo a poder elaborar anticorpos, o que equivale a dizer que é limitada sua applicação.

Necessario seria possuir um metodo biologico, não da demonstração de anticorpos, mas da pesquisa direta do microorganismo. Para substituir os morosos processos de verificação microscopica e estudo das propriedades culturais dos germens izolados dos humores organicos deram-nos WASSERMANN e BRUCK um metodo biologico bastante sensivel, que consiste na pesquisa direta do agente da infeção, ou melhor, de particulas de destruição do mesmo. E' esse metodo applicavel nos primeiros dias de infeção, quando ainda não é possivel a pesquisa de anticorpos.

Conhecido um dos elementos facil se torna ajuizar da presença do outro tomando para indice a fixação de complemento.

Com a modificação introduzida por WASSERMANN e BRUCK na primitiva tecnica de BORDET tornou-se a reação, hoje, geralmente denominada de BORDET e GENGOU um precioso auxiliar de diagnostico. Consiste a modificação no emprego de extratos bacterianos em logar das emulsões aconselhadas por *Bordet*.

Com o fim de nos certificarmos do valor que tem a reação para o diagnostico de molestias infetuosas realizámos uma serie de pesquisas de antijeno e anticorpo, quer em cazos clinicos quer em infeções animaes espontaneas e experimentaes.

Antes de abordarmos a applicação pratica daremos de modo sucinto o metodo de trabalho. O complemento era fornecido por soro normal de 24 horas, conservado durante esse tempo no aparelho *Frigo* de *Morgenroth*, si bem que, tivessemos verificado no correr dos trabalhos que no *Frigo* se mantem inalteravel o soro durante 48 horas. Precedia qual-

welcher von den schon beschriebenen verschieden ist und für den er die Bezeichnung «*Antikörper von Bordet*» aufgestellt hat. Diese Auffassung wird von BORDET in einer neuen, historischen und kritischen Bearbeitung der Komplementablenkung zurückgewiesen, indem er fortfährt, die nach ihm benannte Erscheinung auf einen Antikörper von Amboceptornatur zurückzuführen.

Diese indirekte Bestimmung des Krankheitserregers lässt sich nur in den Fällen anwenden, in welchen der Organismus einige Zeit unter dem Einfluss desselben gestanden hat, so dass er Antikörper bilden konnte, d. h., sie findet nur eine beschränkte Anwendung. Es wäre am Platze, eine neue biologische Methode zu finden, welche nicht zum Nachweise der Antikörper, sondern zur direkten Bestimmung des Erregers dient. Als Ersatz der zeitraubenden Prozesse, welche dem mikroskopischen Nachweise und dem Studium der Kultureigenschaften der aus den Körpersäften isolirten Keime dienen, haben WASSERMANN und BRUCK eine ziemlich empfindliche biologische Methode angegeben; dieselbe besteht in direktem Nachweis des Krankheitserregers oder richtiger der Zerstörungsprodukte derselben. Diese Methode lässt sich bereits in den ersten Krankheitstagen anwenden, wenn der Nachweis des Antikörpers noch nicht möglich ist.

Wenn das eine Element bekannt ist, so lässt sich die Gegenwart des anderen leicht beurteilen, indem man die Komplementablenkung zum Nachweise benützt. In der von WASSERMANN und BRUCK eingeführten Modification der ursprünglichen BORDET'schen Technik bildet heute die, gewöhnlich nach BORDET und GENGOU benannte, Reaktion, ein wertvolles Hilfsmittel für die Diagnose. Die Modification besteht in der Anwendung von Bacterienextrakten an Stelle der von BORDET empfohlenen Emulsionen.

Um mich von der Bedeutung zu überzeugen, welche die Reaktion für die Diagnose der Infektionskrankheiten besitzt, führte ich eine Reihe von Antigen- und Antikörper-Untersuchungen aus und zwar sowohl in klinischen Krankheitsfällen, als auch bei spontanen und experimentellen Tierinfektionen.

quer ensaio a dozajem do soro hemolitico e do complemento e a verificação da quantidade de antígeno ou de humor organico em que existia anticorpo que exercia sobre o sistema hemolitico ação impediende de modo a não exceder nas experiencias a metade dessa quantidade.

Do preparo do antígeno diremos mais por miudo a propozito de cada infeção estudada; podemos aqui adiantar que do emprego comparativo das emulsões e dos extratos bacterianos concluimos que não era necessario empregar elevadas quantias de emulsão nos cazos em que fôra suficiente um minimo de extrato; a vantajem da tecnica de WASSERMANN e BRUCK consiste na possibilidade de obter resultados quantitativos pelo emprego de antígeno de valor quazi constante.

Terminados os ensaios previos, é possivel investir os dois problemas que se oferecem na fixação de complemento: pesquisa de antígeno e de anticorpo.

Eram os ensaios realizados em tubos de 5 cm. de altura e 1 de diametro colocados em suporte lastrado dentro de um termostato do tipo OSTWALD, em que um termoregulador de mercurio mantem constante a temperatura de 37°. Consoante a tecnica seguida pela maioria dos pesquisadores realizamos cada ensaio em 3 horas (1 hora de absorção e 2 de hemolize). Convencionamos traduzir pelos sinais —, +, ++, +++ o resultado das experiencias; — indica auzencia de hemolize; + denota sombra de hemolize; ++ indica hemolize incompleta e +++ hemolize total.

Rezumem-se em 9 cazos de infeção tifica, 38 de peste e 3 de dizenteria bacilar os cazos clinicos em que aplicamos a reação de BORDET.

Dos 9 cazos de infeção tifica foi quatro vezes o diagnostico confirmado pela cultura do bacilo, em um cazo izolado das fezes, em outro do sangue, em um terceiro do sangue e da urina e finalmente em um quarto do baço em autopsia.

Em duas das quatro observações citadas concorreu ainda para firmar o diagnostico a

Bevor ich auf die praktische Anwendung eingehe, beschreibe ich kurz die angewandte Methode:

Das Komplement wurde von 24 Stunden altem Normalserum geliefert; dasselbe wurde, während der angegebenen Zeit, im Apparat «*Frigor*» von MORGENROTH aufbewahrt; übrigens habe ich im Laufe der Arbeit festgestellt, dass das Serum sich im «*Frigor*»-Apparate auch während 48 Stunden unverändert erhält. Vor jedem Versuche wurde hämolytisches Serum und Komplement dosirt und die Menge von Antigen oder antikörperhaltiger Organflüssigkeit festgestellt, welche auf das hämolytische System keine hindernde Wirkung ausübte, wobei jedoch im Versuche die Hälfte dieser Menge nicht überschritten wurde.

Auf die Herstellung des Antigens werde ich bei den einzelnen untersuchten Infektionen näher eingehen; ich schicke nur voraus, dass die vergleichsweise Anwendung der Emulsionen und Bakterienextrakte mich überzeugte, dass man keine grossen Emulsionsmengen anzuwenden braucht, wo ein Minimum von Extrakt genügt; der Wert der WASSERMANN und BRUCK'schen Technik besteht vielmehr in der Möglichkeit, quantitative Resultate durch Anwendung eines Antigens von nahezu konstantem Werte zu erhalten. Nach Abschluss der Vorversuche kann man die zwei Probleme angehen, welche sich bei der Komplementablenkung darbieten, nämlich das Aufsuchen des Antigens und dasjenige des Antikörpers. Die Versuche wurden in Glasröhrchen von 1 cm. Durchmesser und 5 cm. Höhe ausgeführt; dieselben wurden in einem zweckmäßigen Ständer in einen OSTWALD'schen Thermostaten gebracht, in welchem ein Quecksilberregulator eine konstante Temperatur von 37° erhielt. Bei der in der Mehrzahl der Fälle angewandten Technik nahm jeder Versuch drei Stunden in Anspruch (eine für die Absorption und zwei für die Hämolyse). Die Resultate der Versuche werden durch die konventionellen Zeichen: —, +, ++, +++ ausgedrückt; — bedeutet Fehlen der Hämolyse; + eine Spur derselben, ++ unvollständige, +++ totale Hämolyse.

Die klinischen Fälle, bei denen ich die

reação de WIDAL. Nos cinco observandos restantes confirmámos pelo resultado positivo da aglutinação o diagnostico clinico.

Seis vezes verificamos a presença de anticorpo e duas a de antígeno. Se por um lado verificámos antígeno em doente em que foi negativa a hemocultura, em dous outros em que foi positiva essa prova não revelou o ensaio a presença do agente da infeção.

Sobreleva entre as observações a primeira, que mais tempo ocupará nossa atenção. A presença do anticorpo de BORDET verificada no soro na ausência de aglutininas, embora, seja fato digno de registro não constitue o lado mais interessante dessa observação.

HIRSCHFELD e NEUFELD em estudos anteriores tinham já assinalado a precocidade de formação do anticorpo de BORDET.

Não foi ainda o que nos chamou a atenção para esse caso a presença de antígeno no sangue cuja cultura resultou esteril. A sensibilidade da reação constitue explicação sufficiente d'este fato.

Acreditamos sumamente interessante essa observação pela presença simultanea de antígeno e anticorpo verificada no soro de um mesmo doente e do qual não conhecemos em literatura outro exemplo.

A explicação, que pudemos encontrar para esse fato é a não correspondencia dos antígenos e anticorpos pesquisados. Outra explicação seria o estabelecimento de equilibrio quimico no qual além da combinação antígeno + anticorpo restaria livre uma certa quantidade desses elementos que teriam entrado em combinação por ocasião de nova adição de antígeno ou anticorpo, permitindo assim nova prisão de complemento.

A essa observação referem-se os quadros 1 e 2.

BORDET'sche Reaktion anwandte, bestehen aus 9 Typhus-, 38 Pest- und 3 Dysenterie-Fällen (letztere von bacillärer Form). Von den 9 Typhusinfektionen wurde bei viere die Diagnose durch Kultur des Bacillus erwiesen, welcher einmal aus Fäces, ein anderes Mal aus dem Blute, ein drittes Mal aus Blut und Urin und endlich ein viertes Mal bei der Autopsie aus der Milz isolirt wurde. In 2 dieser 4 Fälle trug auch die WIDAL'sche Reaktion zur Bestätigung der Diagnose bei. In den übrigen 5 Beobachtungen wurde die klinische Diagnose durch positives Ausfallen der Agglutination bestätigt.

Sechsmal konstatierte ich das Vorkommen des Antikörpers und zweimal die Gegenwart von Antigen. Während ich bei einem Kranken, bei welchem die Hämokultur negativ blieb, Antigen nachwies, war diese in zwei anderen Fällen positiv, obwohl die Untersuchung die Gegenwart des Krankheitserregers nicht anzeigte; von diesen Beobachtungen fällt die erste besonders auf und soll unsere Aufmerksamkeit etwas länger beschäftigen. Der Nachweis des Vorkommens des Antikörpers von BORDET im Serum bei fehlendem Agglutinin ist zwar erwähnenswert, bildet jedoch nicht die interessanteste Seite der Beobachtung. HIRSCHFELD und NEUFELD hatten schon bei früheren Untersuchungen die frühzeitige Bildung des Antikörpers von BORDET angegeben. Auch die Gegenwart des Antigens im Blute, dessen Kultur steril blieb, fiel mir nicht besonders auf, da die Empfindlichkeit der Reaktion dies genügend erklärt. Was ich dagegen bei dieser Beobachtung für besonders interessant halte, ist das gleichzeitige Vorkommen von Antigen und Antikörper bei der Untersuchung des Blutes von einem und demselben Patienten, wovon ich in der Litteratur kein anderes Beispiel kenne.

Die Erklärung dieser Tatsache kann man darin suchen, dass die gefundenen Antigene und Antikörper sich nicht entsprechen. Eine andere Erklärung wäre die Herstellung eines chemischen Gleichgewichtes, bei welchem neben der Verbindung Antigen + Antikörper eine gewisse Menge dieser Elemente frei bliebe, welche sich bei einem neuen Zusatze von Antigen oder Antikörper verbinden und so eine neue Komplementbindung ermöglichen können.

Em 3 doentes do Hospício Nacional de Alienados, cujo diagnóstico clínico foi em um caso confirmado pela cultura de fezes, que nos forneceram um bacilo dizentérico do tipo Shiga-Kruse e em dois outros pela aglutinação, aplicamos a reação de BORDET.

Empregando em um caso uma emulsão de bacilos do tipo *Shiga-Kruse* foi positiva a reação; nos dois outros utilizamos-nos de uma emulsão de bacilos do tipo *Flexner*, sendo em um caso positivo e em outro negativa a reação.

Dada a pequena quantidade de sangue que pudemos colher não nos foi possível verificar a questão controversa da especificidade dos anticorpos para cada qual dos escantilhões de bacilo dizentérico. Em trabalho cuidadoso por DOPTER publicado em 1905 é essa especificidade negada.

Ao diagnóstico clínico da peste procuramos aplicar a reação que vimos estudando, aproveitando uma série de casos recolhidos ao Hospital de Isolamento de S. Sebastião.

Além dos primitivos estudos de BORDET que verificou no soro antipestoso de cavalo a presença de sensibilizadora específica só conhecemos neste assunto os trabalhos de STRONG que, em Manilha, lançou mão da fixação de complemento para avaliar do grau de imunidade conferida pela vacina antipestosa e de G. FURNARIO que, no Instituto Pasteur de Paris, verificou a presença de anticorpo no soro de cobaias vacinadas por via retal e em outros que tinham ingerido *per os* bacilos mortos pelo aquecimento a 60°. Esses anticorpos ainda eram pesquisáveis cinco mezes após a inoculação.

Em larga série de 38 casos clinicamente diagnosticados, dos quais 32 confirmados bacteriologicamente duas vezes assinalamos a presença de antígeno e 25 a de anticorpo. Em onze casos foi negativa a reação. Nos dois doentes em que conseguimos pesquisar antígeno no soro a hemocultura nos deu a indicação de tratar-se de casos de septicemia pestosa. Na pesquisa de anticorpos empregamos como antígeno a emulsão bacilar que serve para preparo da vacina antipestosa de

Ich versuchte die BORDET'sche Reaktion bei 3 Patienten der hiesigen Irrenanstalt, bei welchen die klinische Diagnose einmal durch Isolierung eines Dysenteriebacillus vom Typus SHIGA-KRUSE aus den Fäces und zweimal durch die Agglutination bestätigt wurde. In einem Falle erhielt ich ein positives Resultat der Reaktion bei Anwendung einer Emulsion von SHIGA-KRUSE'schen Bacillen; in den beiden anderen benutzte ich Bacillen vom Typus FLEXNER, wobei die Reaktion einmal positiv und das andere mal negativ ausfiel.

Bei der geringen Blutmenge, die ich entnehmen konnte, war es mir nicht möglich, die Streiffrage über die Specificität der Antikörper für die beiden Dysenteriebacillenformen zu unterscheiden. In einer sorgfältigen, im Jahre 1905 veröffentlichten Arbeit von DOPTER wird die Spezifität in Abrede gestellt.

Die von mir studierte Reaktion suchte ich auch auf die klinische Diagnose anzuwenden, wobei ich eine Serie von Fällen aus dem hiesigen Isolirhospital (S. Sebastião) benutzte.

Abgesehen von den ursprünglichen Untersuchungen von BORDET, welcher in antipestosem Pferdeserum die Gegenwart eines spezifischen Antikörpers nachwies, kenne ich über diesen Gegenstand die Arbeit von STRONG, der in Manilla die Komplementablenkung anwandte, um den durch die antipestöse Impfung bewirkten Immunitätsgrad festzustellen. Dazu kommt noch die Arbeit von FURNARIO aus dem «Institut Pasteur» in Paris, welcher den Antikörper im Blutserum von Meerschweinchen nachwies; letztere waren teils *per rectum* geimpft, teils hatten sie *per os* durch Erhitzung auf 60° abgetötete Bacillen aufgenommen. In einer Serie von 38 klinisch diagnostizierten Fällen, unter welchen 32 mit bakteriologischem Nachweis des Erregers, erkannte ich zweimal die Gegenwart von Antigen und 25 mal die des Antikörpers. In 11 Fällen war das Resultat der Reaktion ein negatives. Bei 2 Patienten, deren Serum Antigen erkennen liess, zeigte die Blutkultur, dass es sich um septikämische Pest handelte. Bei der Untersuchung auf Antikörper verwandte ich als Antigen die Bacillenemulsion, welche in Manguinhos zur Herstellung der antipes-

Manguinhos cujo preparo vem descrita em trabalho desse Instituto por A. Fontes em 1903.

Na maioria das observações retiramos sangue no 5.º dia de molestia; fornecerem alguns material no 8.º e 9.º dia de enfermidade. Cumpre assinalar, entretanto, quatro doentes que no terceiro dia de molestia nos deram resultado positivo. Ainda assim não é difícil explicar esses resultados para quem conhece o tempo de incubação da molestia que é na media de 3—5 dias. Este periodo pôde variar dentro de grandes limites, desde algumas horas (peste fulminante) até cerca 5 a 15 dias.

Na impossibilidade de aqui reproduzir os quadros referentes a todas as observações daremos uma pesquisa de antígeno e outra de anticorpo, sendo essa de um doente no 7.º dia de molestia. (Quadros 3 e 4).

Quadro 3

2 horas a 37°

1 hora a 37°						
Soro antipestoso de cavalo, inativado	Soro de doente, inativado	Soro normal humano, inativado	Complemento: Soro de cobaia	Soro de cobaia \times coelho	Globulos de coelho 5%	Resultado
0,2	0,2	—	0,15	0,01	1 cc	—
»	0,1	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	+
»	0,03	—	»	»	»	++
»	0,01	—	»	»	»	+++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	—	0,2	»	»	»	++
»	—	0,1	»	»	»	+++
»	—	0,05	»	»	»	+++
»	—	0,03	»	»	»	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,4	—	—	»	»	»	+++
—	0,4	—	»	»	»	+++
—	—	0,4	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	—
—	—	—	»	»	»	—

tösen Vaccine dient, wie sie 1903 in einer Arbeit dieses Institutes von A. FONTES beschrieben wurde. In der Mehrzahl der Beobachtungen entnahm ich das Blut am fünften Krankheitstage, bei einigen anderen stammte das Material vom achten bis neunten Tage der Erkrankung; doch müssen auch 4 Patienten erwähnt werden, welche am dritten Krankheitstage mit positivem Resultate untersucht wurden. Im übrigen sind diese Ergebnisse nicht schwer zu verstehen, wenn man die Incubation der Krankheit, im Mittel 3 bis 5 Tage, berücksichtigt. Letztere Periode schwankt innerhalb weiter Grenzen, von einigen Stunden (bei fulminirenden Fällen), bis zu einer Frist von 5 bis 15 Tagen. Da es mir nicht möglich ist, die auf sämtliche Beobachtungen bezüglichen Tabellen zu reproduzieren, gebe ich eine Untersuchung auf Antigen und eine auf Antikörper wieder, wobei die letztere von einem Patienten am 7. Krankheitstage stammt. (Tabellen 3 und 4).

Tafel 3

2 Stunden auf 37°

1 Stunde auf 37°						
Inaktivirtes anti-pestöses Pferdeserum	Inaktivirtes Krankenserum	Inaktivirtes menschliches Normalserum	Komplement: Meerschweinchenserum	Meerschweinchsen-Kaninchenblutserum	5% Kaninchenblutkörperchen	Resultat
0,2	0,2	—	0,15	0,01	1 cc	—
»	0,1	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	+
»	0,03	—	»	»	»	++
»	0,01	—	»	»	»	+++
»	0,006	—	»	»	»	+++
»	—	0,2	»	»	»	++
»	—	0,1	»	»	»	+++
»	—	0,05	»	»	»	+++
»	—	0,03	»	»	»	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,4	—	—	»	»	»	+++
—	0,4	—	»	»	»	+++
—	—	0,4	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	—
—	—	—	»	»	»	—

Quadro 4

2 horas a 37°

1 hora a 37°						
Emulsão de bacilos da peste mortos pelo calor	Soro de doente, inativado	Soro normal humano, inativado	Complemento: Soro de cobaia	Soro de cobaia \times coelho	Globulos de coelho 5%	Resultado
0,02 mg	0,1	—	0,1	0,01	1 cc	—
»	0,08	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	—
»	0,03	—	»	»	»	—
»	0,01	—	»	»	»	+
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	—	0,1	»	»	»	+
»	—	0,08	»	»	»	+
»	—	0,05	»	»	»	++
»	—	0,03	»	»	»	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,04 mg	—	—	»	»	»	+++
—	0,2	—	»	»	»	+++
—	—	0,2	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	—	»	»	—
—	—	—	—	—	»	—

Não nos iludimos quanto á applicação clinica da fixação de complemento em qualquer das 3 infeções estudadas. A complexa tecnica do metodo biologico de que se trata não permitirá, sem duvida, que ella venha, por ora, substituir a hemocultura e a prova de WIDAL.

Abandonando as infeções bacterianas interessou-nos estudar a applicação que poderia ter essa nova aquizição dos modernos estudos de imunidade em infeções cauzadas por espiroquetas e clamidozoarios.

Em vasto numero de cazos de sifilis, paralizia geral e tabes verificámos a reacção de WASSERMANN. Não se tratando nessa infeção de pesquisa de anticorpo e sim de reacção quimica de natureza ainda não desvendada não nos deteremos aqui no estudo do assunto.

Melhor campo nos oferecia, sem duvida, a espiroquetose das galinhas onde, ao contrario do que se observa na sifilis, o virus existe em abundancia no sangue.

Datam de 1908 os estudos de MANTEUFEL; até então só eram conhecidos no soro de ga-

Tafel 4

2 Stunden auf 37°

1 Stunde auf 37°						
Durch Hitze getöte Pestsacillen Emulsion	Inaktivirtes Krankenserum	Inaktivirtes menschliches Normalsrum	Komplement: Meerschweinchenserum	Meerschweinchsen-Kaninchenblutserum	5% Kaninchenblutkörperchen	Resultat
0,02 mg	0,1	—	0,1	0,01	1 cc	—
»	0,08	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	—
»	0,03	—	»	»	»	—
»	0,01	—	»	»	»	+
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	—	0,1	»	»	»	+
»	—	0,08	»	»	»	+
»	—	0,05	»	»	»	++
»	—	0,03	»	»	»	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,04 mg	—	—	»	»	»	+++
—	0,2	—	»	»	»	+++
—	—	0,2	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	—	»	»	—
—	—	—	—	—	»	—

Ueber die klinische Verwendbarkeit der Komplementablenkung bei den 3 verschiedenen von mir studirten Infektionen mache ich mir keine Illusionen. Die komplizierte Technik der betreffenden biologischen Methoden wird sicherlich nicht gestatten, dass sie zur Zeit die Blutkultur und den WIDAL'schen Versuch ersetzen könnten.

Abgesehen von Bakterieninfektionen, schien mir von Interesse zu untersuchen, inwiefern sich diese neue Errungenschaft der Immunitätsstudien auch bei den durch Spirochäten und Chlamydozoen hervorgerufenen Infektionen anwenden liesse.

Ich habe die WASSERMANN'sche Reaktion bei sehr zahlreichen Fällen von Syphilis, allgemeiner Paralyse und Tabes untersucht. Da es sich dabei nicht um den Nachweis eines Antikörpers, sondern um eine, in ihrer Natur noch nicht erklärte, chemische Reaktion handelt, will ich mich hier nicht mit dem Studium dieses Gegenstandes aufhalten.

Ein besseres Beobachtungsfeld dürfte zweifellos die Spirochätose der Hühner bieten,

linhas imunes: aglutininas e anticorpos paratizicidas.

MANTEUFEL empregou como antígeno sangue seco pulverizado em suspensão em solução fisiológica, extratos de órgãos e de sangue de galinhas várias vezes inoculadas com espiroquetas. Verificou assim a presença de anticorpos específicos no soro de galinhas imunes em todas as experiências em que trabalhava com extrato sanguíneo.

Encetando os estudos sobre antígeno e anticorpo na espiroquetoze das galinhas preparamos o imunisoro como o fizera MANTEUFEL, fazendo repetidas inoculações de sangue rico em espiroquetas em galinhas que tinham resistido à infecção experimental; diverjimos, entretanto, desse pesquisador no modo de preparar o antígeno.

Substituímos o extrato sanguíneo pelo soro de galinha no 3.^o ou 4.^o dia de infecção, ocasião em que aumenta o número de espiroquetas na circulação geral.

Inativamos o imunisoro e o soro de galinha infetada e assim conseguimos pesquisar antígeno no soro enquanto o exame microscópico revelava a presença do microorganismo no sangue.

Ao desaparecer o germen da circulação periférica tornou-se possível a pesquisa de anticorpos que, então, se mantem no soro durante largo espaço de tempo. (Quadros 5 e 6).

Entre as infecções causadas por clamidozoários ocuparam nossa atenção as infecções vacínica, variólica, rábica, tracomatoza, o epitioma contagioso dos pombos e a peste das galinhas.

Compreendendo o grande alcance que poderá ter para a imunidade conferida pela vacína, assim como para o diagnóstico da variola, com grande empenho pesquisamos nessas duas infecções a formação de anticorpos.

Na vacína como na variola é questão de não pequena importância a da circulação do vírus no organismo. Longamente debatida ainda não concordaram sobre esse assunto os pesquisadores. Admitida por PFEIFFER, REITER, FROSCH, FREYER, SIEGEL, v. WASIELEWSKI e

bei welcher im Gegensatz zur Syphilis das Virus reichlich im Blute gefunden wird. Bis zu den Studien von MANTEUFEL (1908) kannte man im Serum der immunisirten Hühner nur Agglutinine und parasitizide Antikörper. MANTEUFEL verwandte als Antigen getrocknetes, zerriebenes und in physiologischer Salzlösung suspendiertes Blut, ausserdem Extrakte aus den Organen und dem Blute von Hühnern, die mehrmals mit Spirochäten geimpft waren. Auf diese Weise konstatierte er die Gegenwart von spezifischen Antikörpern im Blute von immunisirten Hühnern bei allen Versuchen, in welchen Blutextrakt angewandt wurde. Bei meinen Versuchen über Antigene und Antikörper bei Spirochätose der Hühner stellte ich das Immunserum auf dieselbe Weise her, indem ich wiederholt an Spirochäten reiches Blut auf Hühner verimpfte, welche der experimentellen Infektion widerstanden hatten; dagegen wich ich von MANTEUFEL bei der Herstellung des Antigens ab. Ich ersetzte nämlich das Blutextrakt durch Hühnerserum vom dritten und vierten Infektionstage, an welchen die Zahl der Spirochäten in zirkulirendem Blute zunimmt. Ich inaktivirte das Immunserum und das Serum von infizierten Hühnern und es gelang mir so, Antigen im Serum nachzuweisen, solange die mikroskopische Untersuchung die Gegenwart der Parasiten im Blute ergab. Nach Verschwinden derselben aus der peripherischen Circulation war es möglich, die Antikörper nachzuweisen, welche sich dann während langer Zeiträume im Serum erhalten. (Tabellen 5 und 6).

Von den Infektionen durch Chlamydozoen dienten mir zur Untersuchung Vaccine, Variola, Hydrophobie, Trachom, Epithelioma contagiosum der Tauben und Hühnerpest.

In Berücksichtigung der grossen Bedeutung, welche die Bildung der Antikörper für die Vaccinimmunität und die Diagnose der Pocken haben könnte, forschte ich bei beiden Infektionen sehr eifrig nach derselben.

Bei der Vaccine und Variola ist die Frage der Circulation des Virus im Organismus von nicht geringer Bedeutung. Trotz langer Debatte haben sich die Forscher auf diesem Gebiete noch nicht geeinigt. Während die-

Quadro 5

2 horas a 37°

1 hora a 37°						
Imunisoro	Soro de galinha infetada (3.º dia de infeção)	Soro de galinha normal	Complemento: soro de cobaia 1:10	Soro de coelho × carneiro 1:100	Globulos de carneiro 5%	Resultado
0,1	0,1	—	1 cc	1 cc	1 cc	—
»	0,05	—	»	»	»	—
»	0,03	—	»	»	»	—
»	0,01	—	»	»	»	++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	—	0,1	»	»	»	++
»	—	0,05	»	»	»	+++
»	—	0,03	»	»	»	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,2	—	—	»	»	»	+++
—	0,2	—	»	»	»	+++
—	—	0,2	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++

Quadro 6

2 horas a 37°

1 hora a 37°						
Soro de galinha doente (3.º dia de infeção)	Soro de galinha (2 dias depois da crise)	Soro de galinha normal	Complemento: soro de cobaia 1:10	Soro de coelho × carneiro 1:100	Globulos de carneiro 5%	Resultado
0,1	0,1	—	1 cc	1 cc	1 cc	—
»	0,05	—	»	»	»	—
»	0,03	—	»	—	—	++
»	0,01	—	»	—	—	+++
»	0,005	—	»	—	—	+++
»	—	0,1	»	—	—	++
»	—	0,05	»	—	—	+++
»	—	0,03	»	—	—	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,2	—	—	»	»	»	+++
—	0,2	—	»	»	»	+++
—	—	0,2	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++

Tafel 5

2 Stunden auf 37°

1 Stunde auf 37°						
Immunserum	Infiziertes Hühnerserum (3. Tag nach der Infektion)	Normales Hühnerserum	Komplement: Meerschweinchenserum 1:10	Kaninchen-Hammelblutserum 1:100	5% Hammelblutkörperchen	Resultat
0,1	0,1	—	1 cc	1 cc	1 cc	—
»	0,05	—	»	»	»	—
»	0,03	—	»	»	»	—
»	0,01	—	»	»	»	++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	—	0,1	»	»	»	++
»	—	0,05	»	»	»	+++
»	—	0,03	»	»	»	+++
»	—	0,01	»	»	»	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,2	—	—	»	»	»	+++
—	0,2	—	»	»	»	+++
—	—	0,2	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++

Tafel 6

2 Stunden auf 37°

1 Stunde auf 37°						
Krankes Hühnerserum (3. Infektionstag)	Hühnerserum (2 Tage nach der Krisis)	Normales Hühnerserum	Komplement: Meerschweinchenserum 1:10	Kaninchen-Hammelblutserum 1:100	5% Hammelblutkörperchen	Resultat
0,1	0,1	—	1 cc	1 cc	1 cc	—
»	0,03	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	—	—	++
»	0,01	—	»	—	—	+++
»	0,005	—	»	—	—	+++
»	—	0,1	»	—	—	++
»	—	0,03	»	—	—	+++
»	—	0,05	»	—	—	+++
»	—	0,01	»	—	—	+++
»	—	0,005	»	»	»	+++
0,2	—	—	»	»	»	+++
—	0,2	—	»	»	»	+++
—	—	0,2	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++
—	—	—	»	»	»	+++

ALDERSHOFF que registram a formação de pustulas vacinicas em creanças vacinadas com sangue e extrato organico de vitelos imunizados é ella negada por CALMETTE e GUERIN, v. PROWAZEK, PASCHEN, HAALAND, HAUSER, JÜRGENS, MÜHLENS, e HARTMANN, NOBL, HALBERSTAEDTER e ZÜPFLE.

Si na vacina ainda existem duvidas a este respeito, na variola duvida não pode haver sobre a pasagem do virus na circulação geral.

Parece, entretanto, que é em quantidade relativamente pequena que o virus variolico passa no sangue, depositando-se rapidamente nas células. Nem outra conclusão se poderá tirar do grande numero de vacinações negativas em dorso e cornea de coelho com sangue e extrato de baço, rim e figado de doentes falecidos de variola hemorajica e confluyente. (v. PROWAZEK e H. ARAGÃO).

Na vacina JOBLING e CASAGRANDI registram resultados positivos e HELLER TOMARKIN e BERMBACH resultados negativos nos ensaios de fixação de complemento.

Merecem especial menção os recentes estudos de BERMBACH que alem dos ensaios em cobaias e coelhos vacinados e submetidos a inoculações subcutaneas de linfa glicerinada tambem se ocupou da pesquisa *in anima nobili*. Em 18 individuos vacinados e revacinados nem uma vez revelou no soro a presença de anticorpos para virus vacinico. Não se limitou esse autor a pesquisar no soro o produto de reação especifica, estendeu aos extratos splenico e hepatico seu campo de ação.

Em coelhos e em um vitelo fizemos nossos estudos. Foram os coelhos tres vezes inoculados com 1 cc de linfa glicerinada colhida de vitelo vacinado no Instituto de Manguinhos. As inoculações eram separadas por intervalos de sete dias e, oito dias apoz a ultima inoculação, procedemos á sangria.

Quanto ao vitelo depois de imunizado fizemos uma inoculação por via subcutanea de linfa colhida no quinto dia e 3 outras intravenosas de 1, 3 e 4 cc de linfa glicerinada. Oito dias apoz a ultima inoculação sangramos o animal na veia jugular.

selbe von PFEIFFER, REITER, FROSC, FREYER, SIEGEL, v. WASIELEWSKI und ALDERSHOFF zugegeben wird (unter Anführung der Bildung von Vaccinepusteln bei Kindern, die mit Blut und Organextrakt von immunisirten Kälbern geimpft waren), wird dieselbe von CALMETTE und GUÉRIN, v. PROWAZEK, PASCHEN, HAALAND, HAUSER, JÜRGENS, MÜHLENS und HARTMANN, NOBL, HALBERSTÄDTER und ZÜPFLE verneint. Wenn hierüber bei der Vaccine noch Zweifel herrschen, so kann bei der Variola das Vorkommen des Virus in der allgemeinen Circulation nicht bezweifelt werden.

Es scheint jedoch, dass das Variolavirus in verhältnismässig kleiner Menge ins Blut übertritt und sich rasch in den Zellen ablagert. Die zahlreichen negativen Impfungen auf Rücken und Cornea des Kaninchens mit Blut, sowie mit Milz- und Leberextrakt von an hämorrhagischer und confluirender Variola Gestorbenen (v. PROWAZEK und H. ARAGÃO) gestatten keinen anderen Schluss.

Bei Versuchen über Komplementablenkung geben JOBLING und CASAGRANDI positive, HELLER, TOMARKIN und BERMBACH negative Resultate an. Besondere Erwähnung verdienen die neuerdings gemachten Studien von BERMBACH, welcher ausser Versuchen mit Meerschweinchen und Kaninchen, die nach der Impfung mit subkutanen Injektionen von Glycerinlymphe behandelt wurden, auch Untersuchungen *in anima nobili* vornahm. Bei 18 Geimpften und Revaccinirten entdeckte er auch nicht einmal im Serum Antikörper gegen das Vaccinevirus. Auch beschränkte dieser Autor sich nicht auf das Aufsuchen des spezifischen Reaktionsproduktes im Serum, sondern zog auch Milz- und Leberextract in das Gebiet seiner Forschungen.

Ich machte meine Studien bei Kaninchen und einen Kalbe. Erstere wurden dreimal mit Glycerinlymphe geimpft, welche von einem im Institut von Manguinhos geimpften Kalbe herrührte. Die einzelnen Impfungen waren durch einen Zeitraum von 7 Tagen getrennt und 8 Tage nach der letzten fand die Blutentnahme statt.

Beim Kalbe machte ich nach der Immunisirung eine subkutane Einspritzung von Lymphe

Para preparo do antígeno empregamos a seguinte técnica: em gral de porcelana trituramos durante 20-30 minutos linfa recente; depois de 10-12 horas de agitação levamos-a a centrifugo de grande velocidade; desse modo obtivemos um liquido claro sem corpusculo em suspensão e que devia conter virus vacinico.

Em todos os ensaios, quer fosse o complemento de cobaia, coelho, cabra ou vitelo, foram negativos os resultados.

Não foram outros os resultados colhidos na variola. Ao contrario de CASAGRANDE, BEINTKER e SUGAI que assinalaram no soro de variolozos anticorpos para virus da vacina e para o da variola não chegamos na maioria dos casos a essa conclusão. Em casos de variola e varicela registra NICOLAU BETTENCOURT a impossibilidade de pesquisar pela reação de BORDET, anticorpos especificos.

Procuramos variar o mais possivel as condições de experiencia, empregando como antígeno o liquido claro retirado da vesicula de um doente de variola confluenta no 3.º dia de molestia, soro de um doente de variola hemorajica no segundo dia de enfermidade, conteudo de pustulas variolozas em dias diferentes de evolução clinica, ora filtrado em papel grosso, ora em vela BERKEFELD, extrato de figado de variolozo da forma confluenta e hemorajica e do baço de um variolozo da forma gangrenosa.

Para esses antígenos procuramos anticorpos no soro de coelhos inoculados com vacina, puz de variolozo, extrato de baço e em soro de variolozos no 11.º, 12.º, 14.º, 15.º, 17.º, 20.º, 25.º e 40.º dia de molestia.

Empregamos, como já o fizemos, na infecção vacinica complementos de soros diversos (cobaia, coelho, cabra e vitelo) porque atenta a pluralidade de complementos poder-se ia explicar pela falta de um complemento que se adaptase ao anticorpo o resultado negativo da experiencia.

Do quadro n.º 7 é facil verificar que só em um caso para o qual nenhuma explicação aventamos o soro de um doente no 18.º dia

vom 5. Tage und drei andere intravenöse von 1,3 und 4 ccm. Glycerinlymphe. Acht Tage nach der letzten Impfung machte ich bei dem Tiere einen Aderlass an der Jugularis.

Zur Herstellung des Antigens diene folgende Technik: In einer Reibschale wurde während 20 bis 30 Minuten frische Glycerinlymphe zerrieben; nach 10 bis 12-stündigem Schütteln wurde dieselbe auf eine Centrifuge von grosser Umlaufgeschwindigkeit gebracht und auf diese Weise eine klare Flüssigkeit ohne suspendirte Partikel gewonnen, welche das Vaccinevirus enthalten musste. Bei allen Versuchen waren die Resultate negativ, sei es nun, dass das Komplement von Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen oder Kälbern herührte.

Auch bei der Variola erhielt ich dasselbe Resultat. Im Gegensatz zu CASAGRANDE, BEINTKER und SUGAI, welche im Serum von Pockenkranken Antikörper für Vaccine- und Variolavirus fanden, kam ich in der Mehrzahl der Fälle zu einem negativen Resultate. Bei Variola- und Varizella-Fällen konstatierte NICOLAU BETTENCOURT die Unmöglichkeit, spezifische Körper durch die BORDET'sche Reaktion nachzuweisen.

Ich versuchte die Bedingungen der Experimente möglichst mannigfaltig zu gestalten, indem ich als Antigen die, aus einem Bläschen eines Kranken mit confluirender Variola am 3. Krankheitstage entnommene, klare Flüssigkeit, das Blutserum eines Falles von Variola hämorrhagica am 2. Krankheitstage oder den Inhalt von Pockenpusteln (an verschiedenen Krankheitstagen entnommen und durch dickes Filtrirpapier oder BERKEFELD-Filter filtrirt) anwandte, ferner Leberextrakt von Fällen der confluirenden und hämorrhagischen Form und Milzextrakt von gangraenösen Pocken.

Für diese Antigene suchte ich Antikörper im Serum von Kaninchen, die mit Vaccine, Variola-Eiter, Milzextrakt geimpft waren, und im Serum von Pockenkranken am 11., 12., 14., 15., 17., 20., 25. und 40. Krankheitstage.

Wie schon bei der Vaccineinfektion verwandte ich Komplemente verschiedener Sera (von Meerschweinchen, Kaninchen, Kälbern und von Ziegen), weil man, in Hinsicht auf

Na raiva concordam os experimentadores na impossibilidade de, pela fixação de complemento, surpreender a formação de anticorpos. São negativos os trabalhos de HELLER e TOMARKIN, FRIEDBERGER, v. BARONI, M. CINCA e C. TONESCA, MIHAESTI, SATTA e DONATI.

Empregando como antígeno emulsão de cortex cerebral de coelho (virus das ruas) triturado em gral e centrifugado apoz forte agitação procuramos verificar a formação de produtos de reação específica em coelho quatro vezes inoculado com uma emulsão aquecida a 40° durante 15' de cortex e bulbo de boi rabido e em um coelho experimentalmente infetado que morreu em sete dias. Entre as inoculações mediaram cinco dias e entre a sangria e a última inoculação uma semana.

Na peste das galinhas acreditamos serem nossos os primeiros ensaios de fixação de complemento.

A centrifugação demorada de emulsão cerebral de galinha infetada fornecia-nos antígeno para os estudos. Devido á exajerada sensibilidade das galinhas ao virus ativo aquecemos-o a 55° durante 15', diminuindo assim a virulencia e permitindo mais de uma inoculação.

Em virtude da rezistencia de pombos a repetidas inoculações de elevadas dozes de virus prestava-se este animal ás experiencias que tinhamos em vista fazer.

Como acima foi repetido, foram ainda na peste de galinhas negativos os resultados.

Em pombos espontanea e experimentalmente infetados com epitelioma contagiosum inoculámos uma suspensão em solução fisiologica de crostas pulverizadas de epitelioma e servindo como antígeno essa emulsão pesquisámos com resultado negativo anticorpo no soro dos pombos.

No tracoma limitaram-se a tres doentes nossas verificações.

Constava o antígeno de secreção seca e pulverizada em suspensão em solução fisiologica.

der Epithelialdecke. Die Entbindung der Immunkörper und der nachfolgende Uebergang ins Blut, sowie die Fixirung in den Visceralzellen wird durch die oben citirten Arbeiten von BERMBACH widerlegt.

Bei der Hydrophobie, dem Trachom, dem Epiteliom der Tauben und der Hühnerpest ergab sich immer eine totale Hämolyse. Bei der Wut stimmen die Untersucher darin überein, dass es unmöglich ist, durch Komplementablenkung die Bildung von Antikörpern zu entdecken. Die Arbeiten von HELLER und TOMARKIN, FRIEDBERGER, v. BARONI, M. CINCA und C. TONESCA, MIHAESTI und SATTA und DONATI ergaben ein negatives Resultat.

Indem ich als Antigen eine Emulsion der Hirnrinde des Kaninchen (Strassenvirus), zerrieben und nach starkem Schütteln centrifugirt, verwendete, suchte ich die Bildung von Reaktionsprodukten bei Kaninchen zu konstatiren, welche viermal mit einer 15 Minuten lang auf 40° erwärmten Rindenemulsion und dem Bulbus eines tollen Rindes geimpft waren, ausserdem bei einem experimentell infizirten Kaninchen, das am 7. Tage starb. Von einer Impfung zur anderen wartete ich 5 Tage und von der letzten bis zur Blutentnahme eine Woche.

Bei der Hühnerpest glaube ich, dass meine Versuche über Komplementablenkung die ersten sind. Die langdauernde Centrifugirung der Hirnemulsion eines infizirten Huhnes lieferte das Antigen zu meinen Versuchen. Wegen der ausserordentlichen Empfindlichkeit der Hühner für das aktive Virus erhitzte ich dasselbe während 15 Minuten auf 55°, wodurch die Virulenz herabgesetzt und eine wiederholte Impfung ermöglicht wurde.

In Folge ihrer Resistenz gegen wiederholte Einimpfung grosser Virusmengen eigneten sich die Tauben für die Versuche, die ich beabsichtigte. Wie schon oben erwähnt, waren auch bei der Hühnerpest die Resultate negativ.

Bei, spontan und experimentell, mit Epitelioma contagiosum infizirten Tauben, injizirte ich eine Suspension von pulverisirten Epiteliomkrusten in physiologischer Lösung und gebrauchte als Antigen dieselbe Emulsion; die Untersuchung auf Antikörper im Serum der Tauben ergab ein negatives Resultat.

Como em trabalhos anteriores verificára RÖMER não se observa no tracoma impedimento algum de hemolize.

Recentes estudos de MARONGUI no Instituto de Higiene de Cagliari contem a afirmação de que no soro tracomatozo existe uma sensibilizadora especifica de modo que a hemolize que se manifesta em presença do bacilo de KOCH-WEECKS e do de MÜLLER não se manifesta em presença do virus do tracoma. A esse ponto pretendemos ainda voltar quando dispuzermos de maior material.

Bei Trachom beschränkten sich meine Untersuchungen auf drei Patienten. Das Antigen bestand in getrocknetem und pulverisirtem Sekrete, welches in physiologischer Lösung suspendirt wurde. Wie schon RÖMER in früheren Arbeiten feststellte, beobachtet man bei Trachom keine Behinderung der Hämolyse.

Neuere Studien von MARONGUI im Instituto di Igiene di Cagliari enthalten die Angaben, dass im trachomatösen Serum ein spezifischer Antikörper existirt, sodass bei Gegenwart des Trachomvirus die Hämolyse nicht stattfindet, welche bei Vorhandensein der Bazillen von KOCH-WEECKS und MÜLLER erfolgt. Auf diesen Punkt gedenke ich noch zurückzukommen, sobald ich über mehr Material verfüge.