

# Immunologische Probleme beim Frühgeborenen

Von

E. SCHNEEGANS, G. VON MURALT, R. BUTLER, G. HEUMANN und  
J. GEISERT

Institut de Puériculture, Strasbourg, Frankreich, Frühgeborenenstation der Frauenklinik, und Zentrallaboratorium des Schweizerischen Roten Kreuzes, Bern, Schweiz

(Eingegangen am 5. März 1966)

Das Frühgeborene ist vom Beginn seines extrauterinen Lebens bis zur Zeit des eigentlichen Geburtstermins und noch darüber hinaus zahlreichen Belastungen ausgesetzt. Ikterus, Hirnblutungen, hyaline Membran, renale Unreife, retrolentale Fibroplasie, um nur die wichtigsten zu nennen, sind Gegenstand zahlreicher Arbeiten gewesen. Dasselbe trifft nicht für die Reifung der Immunglobuline zu.

Viele Kliniker haben beobachtet, daß Frühgeborene, wenn sie nach ihrer Aufzucht mit modernen Methoden in das elterliche Haus zurückkehrten, noch immer sorgfältigster Pflege bedurften. Soziale Einrichtungen und Säuglingsschwestern haben sie zu betreuen und insbesondere das häusliche Milieu so hygienisch wie möglich zu gestalten, um dadurch zu verhindern, daß diese Kinder beim Übergang von dem sterilen Milieu in eine verseuchte Umgebung Infektionen einen allzu schweren Tribut zahlen, dies vor allem im Winter.

Diese Feststellungen haben uns veranlaßt, systematisch zu erforschen, ob unsere Aufzuchtmethoden, deren Grundlagen vor allem in den Vereinigten Staaten vor etwa 20 Jahren

geschaffen wurden, mit einer normalen Entwicklung der Immunglobuline zu vereinbaren sind.

Halbquantitative Methoden erlauben uns heute, auch niedrige Titer der Immunglobuline zu erfassen und ihre Reifung zu verfolgen.

a) Die Bestimmungen mit physikochemischen Methoden, durch Elektrophorese im Gelmilieu oder Papierelektrophorese erlauben nicht, die  $\gamma$ -Globuline M und A von den  $\gamma$ -Globulinen G zu unterscheiden. Diese Methoden sind unterhalb von 1/5 des normalen Spiegels (ungefähr 200 mg%) nicht mehr genau.

b) Das Ultrazentrifugieren, das eine sehr genaue Methode zur Messung der Sedimentierungskonstanten einer Eiweißfraktion darstellt, ist für die quantitative Ermittlung derselben Fraktion nicht sehr genau [16].

c) Die Immunelektrophorese dagegen ist empfindlicher und erlaubt, in einem Serum eine Mischung von Antikörpern nachzuweisen und sie voneinander zu unterscheiden. Mit ihr lassen sich die  $\gamma$ -Globuline, A, M und G getrennt darstellen.

Bei der Herstellung einer Verdünnungsreihe der Antikörpermischung

kann sie zur semiquantitativen Bestimmung dienen. Die Präzipitationslinie bleibt bis zu einer Konzentration, die 1/30 des normalen Titers entspricht, bestehen. Für die  $\gamma$ -Globuline M und A, deren Menge um ein Zehnfaches geringer als die der  $\alpha$ -Globuline ist, verschwinden die entsprechenden Präzipitationslinien, wenn der Titer um die Hälfte absinkt. Die Empfindlichkeit der Methode hängt ganz vom Antikörpertiter des Antiserums und von der angewandten Technik ab.

d) Die Ergebnisse der quantitativen Immunpräzipitation nach HEIDELBERGER hängen ebenfalls von der absoluten Spezifität der im Antiserum enthaltenen Antikörper ab.

e) Die quantitativen Methoden der Präzipitation im Gelmilieu nach OUDIN oder nach OUCHTERLONY sind die genauesten.

Erstere wird unterhalb von 50 mg%  $\gamma$ -Globulin G ungenau. Die Methode der doppelten Diffusion in einem Gel nach OUCHTERLONY bleibt eine der empfindlichsten. Die Rosettenmethode, eine Abänderung der OUCHTERLONYSchen Technik, erlaubt annähernd quantitative Bestimmungen mit kleinen Mengen Antigen eines Immunerums.

Vorliegende Resultate wurden hauptsächlich mit der Rosettenmethode und Mikroimmunelektrophorese gewonnen. Ihre Technik ist gutbekannt; einige Einzelheiten werden durch Abbildungen noch präzisiert.

Bevor wir die Reifung der Immunglobuline studieren, müssen wir die Art des Überganges von der Mutter

auf das Kind, bei und vor der Geburt, kennenlernen, denn es handelt sich um Frühgeborene. Wir müssen uns auch fragen, ob nach der Geburt eine Zufuhr erfolgt, wenn man von der durch Antigenreiz bewirkten Erhöhung absieht. Ist eine Aufnahme aus dem Darm, aus dem Kolostrum, aus Muttermilch oder aus Kuhmilch möglich?

Diese Daten werden, allerdings mit nur annähernder Sicherheit, den Titer festlegen, von dem die Reifung der Immunglobuline ausgeht. Die menschliche Plazenta ist hämochorisch und die fötalen Zotten tauchen direkt in das mütterliche Blut ein. Nur drei Schichten fötaler Zellen trennen das fötale Blut vom mütterlichen. Der Übertritt der Immunglobuline geschieht beim Menschen durch die Plazenta und nicht wie bei manchen Tierarten über den Darm. Die menschliche Plazenta ist für die  $\gamma$ -Globuline (Molekulargewicht 160 000) unbeschränkt durchlässig während sie die Gesamtheit oder jedenfalls einen großen Teil der  $\gamma$ -M und  $\gamma$ -A Globuline, deren Molekulargewicht 160 000 bzw. etwa 1 Million beträgt, zurückhält. Ein Körper von kleinem Gewicht passiert also nicht unbedingt die Plazentarschranke. Die Versuche von Bordawill mit fluoreszierenden Antikörpern sprechen nicht zugunsten einer Proteinsynthese in der menschlichen Plazenta, sondern für eine Übertragen von mütterlichen Albuminen und  $\gamma$ -Globulinen durch das Syncytium hindurch, und zwar wahrscheinlich durch Zellabschnürung und nachfolgende Entladung in das Zotten

stroma. Untersuchungen mit markierten mütterlichen Serumproteinen an Affen, deren Plazentarstruktur der menschlichen entspricht, haben gezeigt, daß die Albumine und Globuline unmittelbar durch die Plazenta übertragen werden, ohne die Amnionflüssigkeit oder das fötale Intestinum zu passieren.

Untersuchen wir nun, was beim Föten geschieht. Wie erwähnt, wer-

den alle  $\gamma$ -Globuline, die das Neugeborene besitzt, ihm im Laufe der Schwangerschaft auf diaplazentarem Wege von der Mutter übertragen. Sie sind von der 11. Woche an im Blut des Föten feststellbar, allerdings erst bis zu einem sehr niedrigen Titer, der allmählich bis zur Geburt ansteigt. Der Durchtritt durch die Plazenta ändert die Antigenstruktur der dem Kind übertragenen  $\gamma$ -Globuline

TABELLE I

Immunchemische Bestimmung der Gammaglobuline bei Mutter und Kind

Autor	Methode	Anzahl von Mutter-Kind Paaren	Nabelschnurblut g%	Mutterblut g%
ZAK und GOOD 1959	Heidelberger-Kendall	31	1,08 ± 0,28	0,97 ± 0,29
DE MURALT und GUGLER 1959	Rosette	20	kein Unterschied	
HITZIG 1960	Oudin	16	1,25 ± 0,2	1,09 ± 0,08

nicht. Allerdings konnte das  $\gamma$ -M-Globulin nur im Serum bei 14 von 20 untersuchten Föten nachgewiesen werden. Es war im Serum eines 14 Wochen alten Föten vorhanden.  $\gamma$ -A-Globulin wurde im Serum bei 7 von 14 untersuchten Föten gefunden, und war im Serum eines 11 Wochen alten Föten vorhanden. ROTH [19] konnte ebenfalls in allen untersuchten Proben von Nabelblut Spuren von  $\gamma$ -A und  $\gamma$ -M-Globulinen nachweisen. Der Titer dieser beiden Globuline fällt im Gegensatz zu dem der  $\gamma$ -Globuline-G nach der Geburt nicht ab. Dieser Umstand scheint zu bedeuten, daß diese Globuline dem Föten nicht auf diaplazentarem Wege vermittelt, sondern von ihm selbst gebildet werden.

Die Antikörper dieser Art werden zum großen Teil durch die Plazentarschranke zurückgehalten.

Wieviel Immunglobuline besitzt nun das zum Termin geborenen Kind? Tabelle I zeigt, daß der Titer der passiv übertragenen  $\gamma$ -G-Globuline bei ihm dem der Mutter gleich ist.

Die Immunglobuline sinken nach der Geburt allmählich zu niedrigen Werten bis zur 6. bis 8. Woche ab, dann steigen sie langsam wieder an und erreichen die Werte des Serums von Erwachsenen gegen Ende des ersten Jahres. Um den 20. Tag sind die Titer bei Frühgeborenen mit einem Gewicht über 1500 g auf ungefähr 0,69 erniedrigt, und bei denen von unter 1500 g auf 0,36.

Diese Zahlen wurden kürzlich von WERDER-KIND [29] nach der Methode von OUDIN bestimmt. Wir werden später auf die Einzelheiten eingehen. ROTH [19] fand mit der OUCHTERLONYSchen Technik, und auch *de* MURALT [16], und KARTE [14] ermittelten sehr geringe Mengen von  $\gamma$ -M-Globulin im Nabelblut von zum Termin geborenen Kindern, ungefähr einen absoluten Wert von 0,008 g%. Das  $\gamma$ -A-Globulin ließ sich im Nabelblut nur nach vorheriger Konzentration nachweisen. Durch vorliegende Bestimmung mit einem bekannten Titer gereinigten  $\gamma$ -A-Globulins fand er Werte von 0,0003 g%. Das  $\gamma$ -M-Globulin steigt in den ersten 10 Tagen an und dann langsamer noch bis zu dem 3. Jahr. Das  $\gamma$ -A-Globulin kann ohne vorherige Anreicherung erst vom 20. Tag an nachgewiesen werden. Der Titer steigt in der Folge rascher an, um ungefähr im Alter von 3 Jahren seinen Höchstwert zu erreichen.

Das Frühgeborene unterscheidet sich vom zum Termin geborenen auch hinsichtlich der Immunglobuline in seiner weiteren Entwicklung. Die Unterschiede sind für die  $\gamma$ -A-Globuline am größten. Doch liegen zum Zeitpunkt des eigentlichen Geburtstermins die Titer höher als beim normalen Neugeborenen.

Wie dem auch sei, so ist beim frühgeborenen Kind das Defizit an  $\gamma$ -G-Globulinen um so bedeutender, je geringer das Gewicht des Kindes ist. Es erreicht die Grenze der Agammaglobulinämie. Wir wissen, daß eine Neigung zu schweren septischen Infektionen besteht, wenn der  $\gamma$ -Glo-

bulinspiegel unter 100 mg% absinkt (Titer zum normalen Termin 0,9 bis 1,2%).

Nach WERDER-KIND [29] sinken bei Frühgeborenen von weniger als 1500 g Geburtsgewicht regelmäßig die  $\gamma$ -G-Globuline zwischen dem 21. und dem 70. Tag von 0,36 auf 0,23 und sogar bis auf 0,21 bis zur 26. Woche. Bei vor dem Termin geborenen Kindern von mehr als 1500 g Geburtsgewicht sinken die  $\gamma$ -G-Globuline von 0,69 auf 0,34 bis zum 70. Tag. Sie steigen danach allmählich an.

Das Schema von ROTH [19] zeigt die nach der Methode von OUCHTERLONY bestimmte Entwicklung der  $\gamma$ -M und  $\gamma$ -A-Globuline, angefangen von ihrer Konzentration im Nabelblut und in Abhängigkeit von der Zeit und vom Gewicht (S. Abb. 1 und 2). Es handelt sich natürlich um eine semiquantitative Bestimmung mit Hilfe von Verdünnungen, die vom normalen Serum bis zum Titer 10 bei einer Verdünnung von 1/512 reichen.

WERDER-KIND [29] gibt für Frühgeborene von weniger als 1500 g Gewicht einen Anstieg der  $\gamma$ -M-Globuline von 0,013 g% bis zu 0,015 g% in der Zeit vom 20. Tag bis zur 26. Woche an; und für diejenigen, deren Gewicht über 1500 g liegt, für denselben Zeitraum einen Anstieg von 0,014 g% auf 0,024 G%. Die Autorin gibt keine genauen Zahlen für die  $\gamma$ -A-Globuline an.

Wie bereits erwähnt wird der Mensch ebenso wie einige Tierarten auf diaplazentarem Wege mit Antikörpern versorgt. Dagegen beziehen

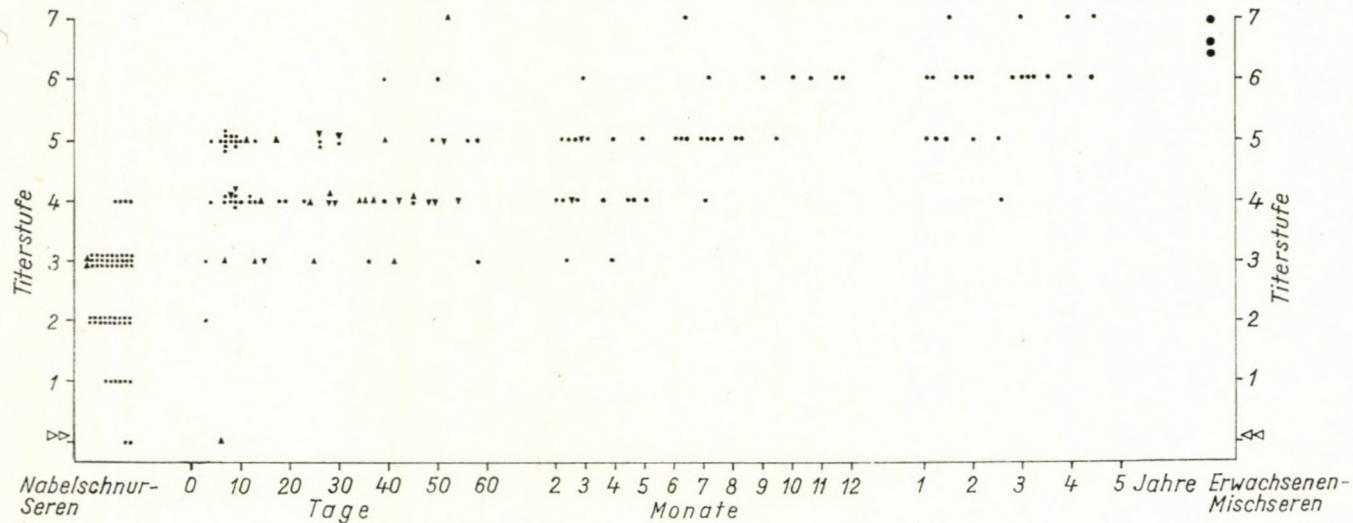


ABB. 1.  $\beta_2$  M Globulingehalt in 190 Seren geordnet nach Alter und Titerwert. Der leere Pfeil bedeutet, daß  $\beta_2$  M Globulin nicht sicher nachgewiesen werden konnte.

- Geburtsgewicht >2500 g
- ▲ Geburtsgewicht 2000 g—2500 g
- ▼ Geburtsgewicht < 2000 g

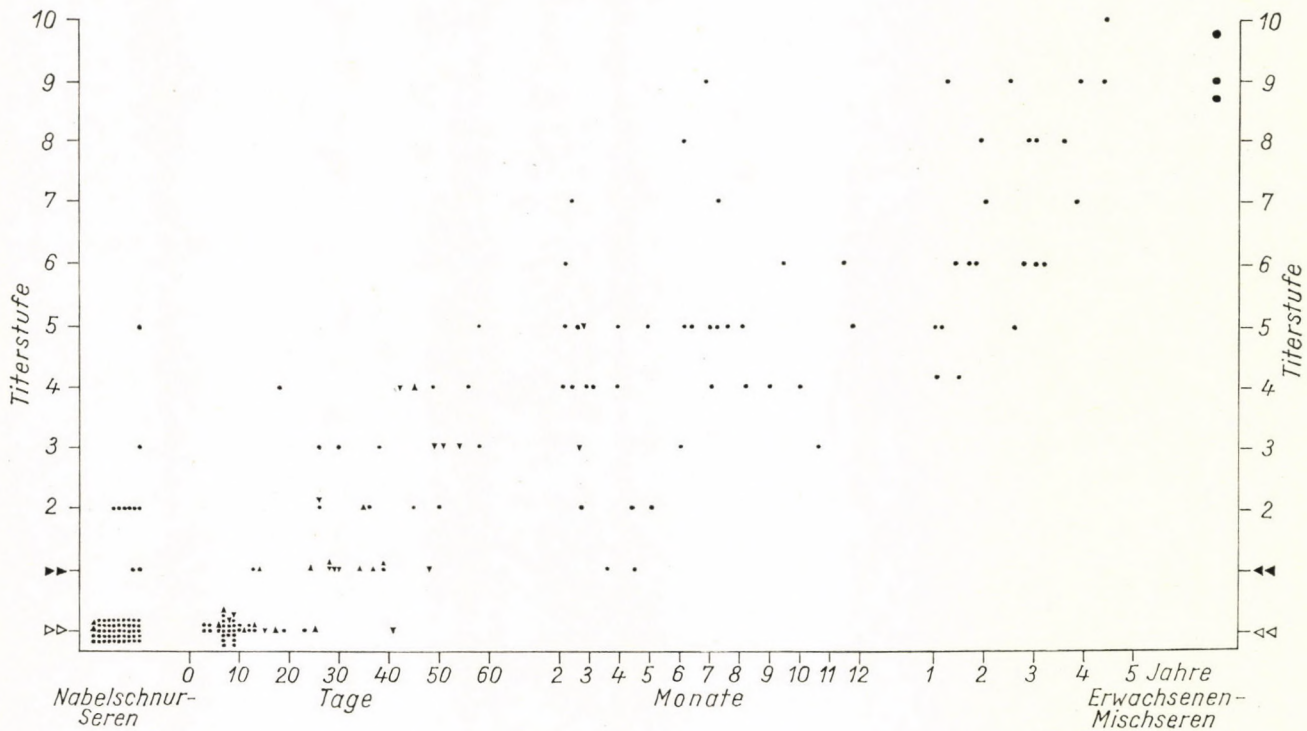


ABB. 2.  $\beta_2$ -Globulingehalt in 190 Seren, Erklärung wie bei Abb. 1.

die jungen Widerkauer bereits von der 24. bis 48. Stunde ab den größten Teil ihrer Immunglobuline aus der Nahrung. Obwohl die Versorgung mit Antikörpern beim Menschen über die Plazenta erfolgt, hätte man dennoch im Hinblick auf die wohlbekannte Permeabilität des Darmes des Neu-

und Frühgeborenen denken können, daß ein nicht zu unterschätzender Anteil der Immunglobuline in den ersten Lebenstagen über das Kolostrum zugeführt werden könnte. Wäre diese Annahme richtig, so hätte das die Aufzuchtbedingungen der Frühgeborenen erheblich verändert und

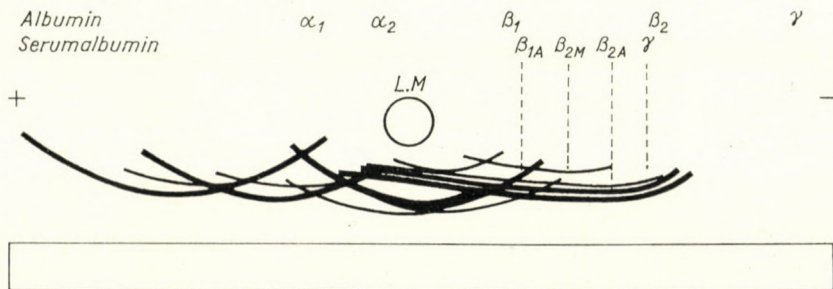
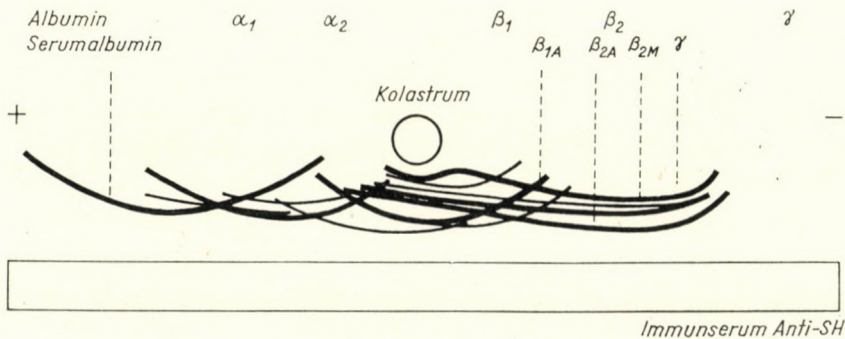


ABB. 3



Immunserum Anti-SH

ABB. 4

die Bedeutung des Antigenreizes sehr verringert. In Zusammenarbeit mit de MURALT und mehreren meiner Mitarbeiter haben wir dieses grundlegende Problem experimentell studiert [22, 23].

Mit einem Antiserum vom Pferd und vom Menschen haben de MURALT und GÜGLER [16, 17] Muttermilch und Kolostrum untersucht. Sie fanden

12 Präzipitationslinien, von denen einige untersucht und mit Hilfe spezifischer Antiseren identifiziert wurden. Sie fanden eine Antigenverwandtschaft zwischen den Serumproteinen und den Proteinen des Kolostrums und der Muttermilch. Das Kolostrum enthält mehr  $\gamma$ -M, 90% seiner Immunglobuline bestehen aus  $\gamma$ -A und  $\gamma$ -M-Globulinen, und 10% aus rasch wan-

dernden  $\gamma$ -Globulinen. In reifer Milch bestehen die Immunglobuline vor allem aus  $\gamma$ -A-Globulinen (Abb. 3 und 4).

DE MURALT und Mitarbeiter [16, 17] haben an zwei Gruppen von 10tägigen Säuglingen, von denen die eine mit Muttermilch, die andere mit Kuhmilch ernährt wurden, gezeigt, daß

das  $\gamma$ -A-Globulin nur im Serum von zweien der gestillten Säuglinge, und  $\gamma$ -M-Globuline im Serum von 90% der Kinder, unabhängig von ihrer Ernährungsweise nachzuweisen war (S. Tabelle II).

Wir haben diese Untersuchungen bei drei Gruppen von Frühgeborenen mit jeweils geringerem Geburts-

TABELLE II

Erscheinen der Immunglobuline bei 108 Neugeborenen im Alter von 10 Tagen (Immuns serum: anti-Normalhumanserum Nr. 491 und 511, Institut Pasteur)

Anzahl	Ernährung	Globulin $\beta$ 2A				Globulin $\beta$ 2M			
		Vorhanden		Nicht vorhanden		Vorhanden		Nicht vorhanden	
		Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%	Anzahl	%
58	Muttermilch	2	3,4	56	96,6	54	93	4	7
50	Kuhmilch	0	0	50	100	47	94	3	6

gewicht wiederholt; die einen wurden mit Buttermilch, die anderen mit Muttermilch, und die letzte Gruppe mit Kolostrum ernährt (S. Tabelle III.).

Wir können aus diesen Untersuchungen folgern, daß das Frühgeborene nicht fähig ist, Immunglobuline im Nativzustand zu resorbieren. Da die Empfindlichkeitsgrenze der Methode sich um 1 bis 2 mg% bewegt, haben wir dieselbe Arbeit mit der genaueren OUCHTERLONYSchen Methode wiederholt. Sie hat die Ergebnisse bestätigt.

Entgegen der Behauptung gewisser Autoren schien die Art der Ernährung bei der immunologischen Reifung des Neu- und Frühgeborenen keine Rolle zu spielen.

In einer zweiten Arbeit hatten wir diese Tatsachen zu präzisieren gesucht

da wir uns sagten, daß selbst wenn die Globuline ihre Spezifität verlieren würden, eine an Proteinen und Globulinen reiche (2 bis 9%) Nahrung wie das Kolostrum einen Anstieg der Albumine und der Globuline im Blut der Frühgeborenen bewirken könnte. Die Untersuchungen des Serums wurden mit der Biuretmethode durchgeführt, die der Albumine nach vorheriger Präzipitation der Globuline und Papierelektrophorese nach der Methode von GERARDS und ROUSSELET. Diese Messungen wurden an 2 Gruppen von 11 Frühgeborenen durchgeführt, wovon die eine mit Kolostrum, die andere mit Muttermilch vom 1. bis zum 10. Lebenstag ernährt worden waren. (S. Abb. 5. und 6.)

Abb. 5 und 6 zeigen, daß bei protein- und globulinreicher Ernährung in den ersten 10 Tagen keine Ände-



TABELLE III  
Mit Kolostrum ernährte Frühgeborene

Ernährung	Geburtsgewicht	Lebenstag und Anzahl der Bestim- mungen	Immunsrum			
			(511, 13.411, 13.459)		Anti $\beta$ 2A	Anti $\beta$ 2M
			$\beta$ 2A	$\beta$ 2M		
Butter- milch:						
4 Fälle	2000—2500	2 (3)	+ + + - 0 0 3	+ + + - 0 0 3	+ + + - 0 0 3	+ + + - 0 1 2
		5 (4)	0 0 4	1 0 3	0 0 4	2 2 0
		8 (3)	0 0 3	1 2 0	0 0 3	2 1 0
		10 (4)	0 0 4	4 0 0	0 0 4	4 0 0
		15 (4)	0 0 4	4 0 0	0 0 4	4 0 0
Mutter- milch:						
12 Fälle	1440—2000	2 (12)	0 0 12	0 0 12	0 0 12	2 0 10
		5 (8)	0 0 8	1 0 7	0 0 8	4 0 4
		8 (7)	0 0 7	4 0 3	0 0 7	5 1 1
		10 (8)	0 0 8	5 0 3	0 0 8	5 2 1
		15 (12)	0 0 12	7 1 4	0 0 12	9 1 2
Kolo- strum:						
11 Fälle	1480—2000	2 (11)	0 0 11	1 0 10	0 2 9	1 0 10
		5 (9)	0 0 9	3 0 6	0 2 7	4 3 2
		8 (8)	0 0 8	6 0 2	0 1 7	4 3 1
		10 (8)	0 0 8	7 1 0	0 0 8	7 1 0
		15 (8)	0 0 8	6 0 2	0 1 7	6 1 1

rung in der Zusammensetzung des Eiweißes, der Albumine und der Globuline eintritt. Das ist übrigens die Ansicht der meisten Autoren. Nur LEWIS und WELLS, dann BOYD und MARTIN Du PAN und SCHEIDEGGER [15] waren anderer Meinung.

Den Einfluß der Ernährung auf die Entwicklung der Immunglobuline beim Frühgeborenen nach der Geburt können wir also ausschließen. Wir müssen annehmen, wie das von DIETEL und LOHMANN [3] und ande-

ren festgestellt und durch Versuche an keimfreien Tieren bestätigt wurde, daß die Antigenreize der äußeren Umgebung die Reifung der Immunglobuline beim Frühgeborenen bestimmen.

Diese Tatsachen haben uns beunruhigt, und wir haben uns gefragt, ob das ärztliche Eingreifen in die Aufzucht der Frühgeborenen nicht zu weit ginge, mit einem Wort, ob wir nicht wiederum den Zauberlehrling spielten.

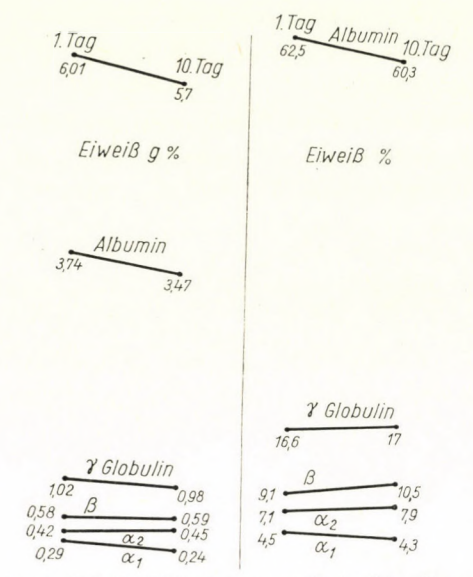


ABB. 5 Mit Kolostrum ernährte Säuglinge

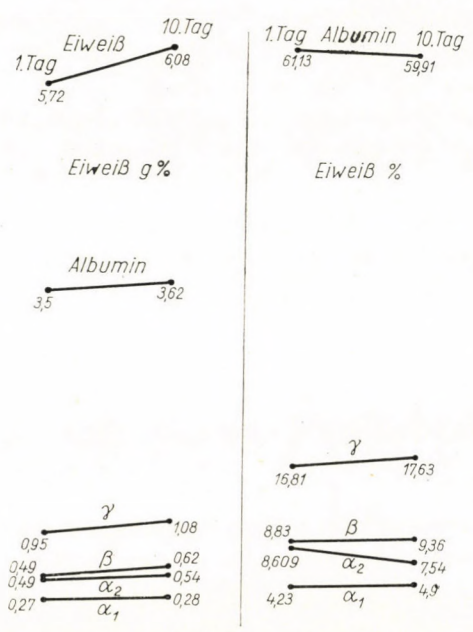


ABB. 6 Mit Muttermilch ernährte Säuglinge

Wir haben also die Methoden für die Aufzucht von Frühgeborenen mit denen verglichen, die in Speziallaboratorien bei keimfreien (»germ free«) und spezifisch pathogenfreien (»specific pathogen free«) Tieren angewandt werden (Mäusen, Ratten, Hähnchen und Meerschweinchen).

Bei den Frühgeborenen erfüllen wir die folgenden Bedingungen:

1. Transport im sterilen Inkubator.
2. Aufzucht der kleinen, weniger als 1600 g schweren Frühgeborenen im sterilen Inkubator, sterile Windeln, sterile filtrierte Luft bei regelmäßiger bakteriologischer Kontrolle.

3. Für die etwas größeren Frühgeborenen Aufzucht in Inkubatoren mit Deckeln oder an der Luft, mit Klimaanlage versehenen Boxen mit Vorbox, filtrierte, unter leichtem Überdruck stehende Luft.

4. Auf 300 Liter Luft kommen nur etwa 20 Kolonien von Saprophyten.

5. Ernährung und Pflege werden von Krankenschwestern versorgt, die mit Handschuhen und sterilen Sonden arbeiten und die sterile weiße, täglich gewechselte Kittel und Stiefel tragen. Die Flaschen werden von den Schwestern mit Handschuhen unter sterilen Bedingungen in einem klimatisierten keimfreien Raum bereit. Wir müssen feststellen, daß das Frühgeborene vor allem mit denjenigen Bakterien im Kontakt ist, die es von der Entbindung her mitbringt.

Untersuchen wir nun im Hinblick auf die immunologische Reifung die Experimente, die man an jungen Tieren unter keimfreien (germ free

oder specific pathogen free) Bedingungen durchgeführt hat.

Für die specific pathogen free Gruppe haben wir die tiermedizinischen Untersuchungen von SACQUET, VARGUES und CHARLIER [16] studiert. Die Mäuse werden in einem streng isolierten Milieu gehalten. Die Luft wird filtriert, Nahrung und Schlafstelle werden im Autoklaven sterilisiert. Das Personal wäscht sorgfältig die Hände und trägt sterile Kleidung.

Die specific pathogen free Tiere haben eine Bakterienflora, die jedoch sehr viel ärmer als die von normalen Tieren ist. Enterobakterien sind selten im Darm. Die Autoren haben einige Alkaligene isoliert, und zwar Entero kokken, Laktobakterien und eine nicht weiter bestimmte anaerobe Flora, die viel zahlreicher im Mund als im Darm sind.

Mit Hilfe der Präzipitation der Serumglobuline in Gegenwart von

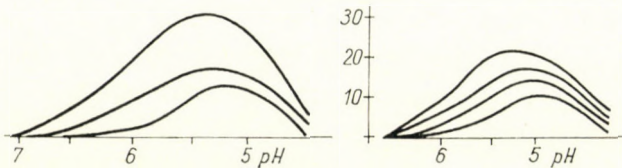


ABB. 7. Retikuloendotheliale Werte. Links von oben nach unten: erwachsene Ratte; neugeborene Ratte; aseptisch (germ free) aufgezogene Ratte. Rechts von oben nach unten: erwachsene Maus, neugeborene Maus; pathogenfrei gehaltene Maus; aseptisch (germ free) aufgezogene Maus

schwachen Ionenpuffern, deren pH von 7,5 bis 4,5 variiert, ist es gelungen, durch Vergleich mit gesunden Tieren derselben Art, die unter normalen Bedingungen aufgezogen wurden, eine starke Verminderung der  $\gamma$ -Globuline nachzuweisen. Sie haben auf diese Weise eine retikuloendotheliale Charakteristik geschaffen.

Nun sind die Titer der  $\gamma$ -Globuline bei specific pathogen free Tieren schwächer als die der mit klassischen Methoden aufgezogenen. Die Werte liegen zwischen den sehr niedrigen, die man bei völlig germ free lebenden Ratten bestimmt hat, und denen normaler Tiere.

Diese Ergebnisse sind mit denen von WORTMANN und OLSEN [18] bei Hähnchen vergleichbar. SELL [24]

wies bei germ free Meerschweinchen nach, daß der Titer der  $\gamma$ -Globuline bei diesen Tieren die Hälfte oder 1/6 von dem der Vergleichstiere ausmacht. Es scheint sich um eine geringere Synthese bei gleicher katabolischer Wirkung zu handeln. Wenn man die Tiere in ihre gewöhnliche Umgebung bringt, sind sie dennoch fähig, mit einem normalen  $\gamma$ -Globulintiter zu reagieren. Führt man germ free Meerschweinchen *E. coli* zu, so wandelt sich der atrophische Darm wieder in einen funktionellen um, die lymphatische Proliferation wird auch lebhafter. Sie scheint von der Stärke des Antigenreizes abzuhängen. Die Mangelernährung spielt ebenfalls eine Rolle. Die  $\gamma$ -Globuline sind am niedrigsten bei denjenigen germ free Tie-

TABELLE IV

Erscheinen des $\gamma_A$ und $\gamma_M$			Erscheinen der Mikroorganismen			
	$\gamma_A$	$\gamma_M$		Stuhl	Rachen	Nase
48 Stunden	0%	57%	12 Stunden	14%	0%	5%
8 Tage	0%	77%	24 Stunden	47%	33%	33%
15 Tage	0%	95%	36 Stunden	71%	57%	33%
30 Tage	50%	100%	48 Stunden	86%	76%	50%
			5 Tage	95%	100%	76%

TABELLE V

Nr	Geburts- gewicht g	Ouchterlony															
		$\gamma_G$					$\gamma_A$					$\gamma_M$					
		48 St	8 Tage	15 Tage	30 Tage	60 Tage	48 St	8 Tage	15 Tage	30 Tage	60 Tage	48 St	8 Tage	15 Tage	30 Tage	60 Tage	
1	1500	1/256		1/256		1/128	—	—	—	1/4	1/4		1/4		1/4		1/4
2	1520	1/256	1/256	1/128	1/128		—	—	—	—	1/4	1/2	1/2	1/4			
3	1610	1/256	1/128	1/256	1/64	1/64	—	—	—	—	1/2	—	—	—	1/2	1/4	1/4
4	1650	1/64	1/64	1/32	1/64		—	—	—	1/4	—	—	1/4	1/4			
5	1700	1/128	1/64		1/64		—	—	—	—	—	1/4		1/4			1/4
6	1710	1/256	1/128	1/128	1/128		—	—	—	1/4	—	1/2	1/2	1/4			1/4
7	1750	1/16		1/128	1/128		—	—	—	1/2	—		1/2	1/2			1/2
8	1770	1/512		1/256	1/256		—	—	—	1/2	—		1/4	1/4			1/4
9	1890	1/512	1/512	1/256	1/128		—	—	—	—	1/2	1/2	1/4	1/4			1/4
10	1900	1/256		1/128	1/64		—	—	—	—	—		1/4	1/4			1/4
11	1960	1/256		1/512	1/512		—	—	—	1/4	1/4		1/8	1/8			1/8
12	2030	1/256	1/16	1/256	1/128		—	—	—	1/2	1/2	1/2	1/4	1/4			1/4
13	2080	1/256	1/256				—	—	—	—	1/2	1/4					1/4
14	2100	1/256		1/256	1/256		—	—	—	1/4	1/2		1/4	1/4			1/4
15	2110	1/128	1/128				—	—	—	—	—	1/4					1/4
16	2130	1/512		1/256			—	—	—	—	1/2		1/4				1/4
17	2130	1/256		1/256	1/128		—	—	—	—	1/2		1/4	1/4			1/4
18	2200	1/256	1/256	1/256	1/256		—	—	—	—	1/2	1/2	1/4	1/4			1/4
19	2270	1/256	1/256	1/64	1/64		—	—	—	—	—	—	1/2	1/4			1/4
20	2330	1/256	1/512	1/512	1/128		—	—	—	1/2	1/2	1/2	1/4	1/4			1/4
21	2430	1/1024	1/512	1/64			—	—	—	—	1/2	1/2	1/8				1/8
	Kon- trolle	1/128					1/32					1/16					

ren, denen man keine Vitamine zuführt.

Wir haben uns mit Recht gefragt, ob die Aufzuchtmethoden für Frühgeborene nicht denselben Antigen-Bedingungen mit ähnlichen Folgen unterliegen.

Sehr ausführliche bakteriologische Studien haben aber gezeigt, daß bei 18 von 21 frühgeborenen Kindern

verschiedenen Alters, der Darm wie normal, also zwischen 12 und 36 Stunden von apathogenen Colibazillen besiedelt war. In einem Fall blieb der Darm 48 Stunden, ein andermal 52 Stunden, und bei einem dritten Kind 72 Stunden lang steril. Der Rachen war bei dem ersten 30 Stunden steril geblieben, bei dem zweiten 5 Tage und beim dritten 72 Stunden.

Bakteriologie															Papiererelektrophorese				
Stuhl					Rachen					Nase					Alb	% (48. St)			
12 St	24 St	36 St	48 St	5 Tage	12 St	24 St	36 St	48 St	5 Tage	12 St	24 St	36 St	48 St	5 Tage		$\alpha_1$	$\alpha_2$	$\beta$	$\gamma$
-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	59	5	10	13	13
-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	68	4	8	9	11
+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	75	3	7	6	9
-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	64	3	10	7	16
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	60	4	9	7	20
-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	72	4	6	5	13
+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	62	6	9	7	16
-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	+	68	6	7	7	12
+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	69	4	7	8	12
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	50	5	9	16	20
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	68	3	7	6	16
-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	70	3	7	5	15
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	59	6	8	8	19
-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	69	5	7	6	13
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	75	3	4	8	10
-	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	55	7	10	8	20
-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	69	6	6	8	11
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	65	5	5	8	17
-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	-	-	-	+	62	6	7	7	18
-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	68	4	8	5	15
-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	61	6	8	7	18

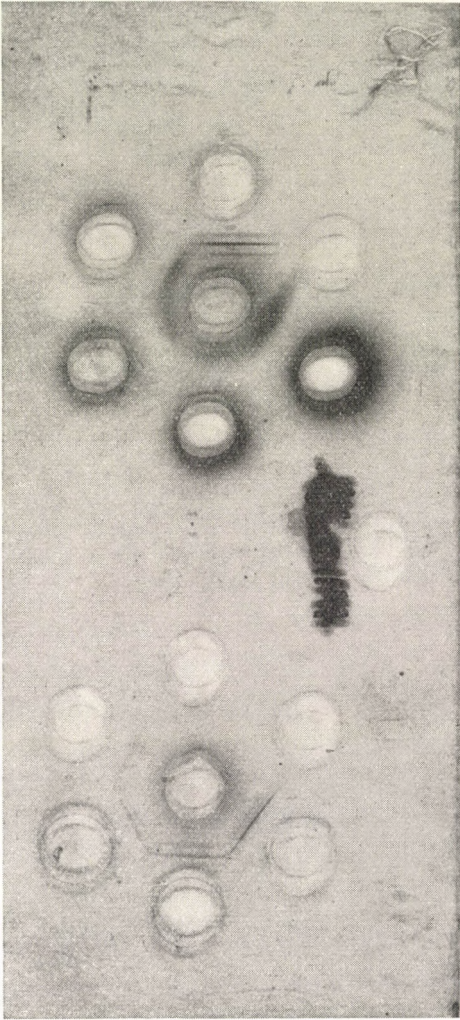


ABB. 8. Ouchterlony'sche Präzipitation, Rosetten-Methode. Im zentralen Reservoir Kaninchen-Antiserum, in den kleinen umgebenden Reservoiren Verdünnungen von Frühgeburtenserum. Die Präzipitationslinien sind sehr deutlich.  $\gamma$ M hatte eine kleinere Diffusionsgeschwindigkeit, es ist also die äußere Linie, die andere ist  $\gamma$ A

Bei 15 von 21 Kindern wiederum war der Rachen (Kultur) in weniger als 24 Stunden von einer mannigfaltigen Bakterienflora besiedelt. Bei 6 von 21 Frühgeborenen blieben Rachen und

Nase 48 Stunden bis 15 Tage steril. In einem Fall haben wir nach 72 Stunden *Ps. pyocyanea* gefunden. Die Seren von 29 Frühgeborenen, die nach den eben beschriebenen Methoden aufgezogen wurden, wurden durch Immunelektrophorese nach GRABAR und WILLIAMS, nach der Mikromethode von SCHEIDEGGER durch Papierelektrophorese, und vor allem nach der semiquantitativen Technik von OUCHTERLONY (Rosettenmethode) untersucht.

Unsere Ergebnisse sind in Tabellen IV und V dargestellt.

Bei diesen Frühgeborenen zeigte das  $\gamma$ -G-Globulin, dessen Spiegel normal absinkt, und auch das  $\gamma$ -M-Globulin dieselbe Reifungszeit wie bei normalen Frühgeborenen. Dagegen fehlte das  $\gamma$ -A-Globulin in 50% der Fälle. Wir haben sein Fehlen bei einem im Inkubator, also unter besonderen Kautelen aufgezogenen Kind festgestellt. Ob daraus geschlossen werden soll, daß der Mangel eines Antigenreizes die Reifung der  $\gamma$ -A-Globuline verhindert, die dann verspätet eintritt und die nach ROTH [19] und anderen nur in äußerst kleinen Mengen im Nabelblut vorhanden ist, kann nicht mit Sicherheit behauptet werden. Dieses Globulin scheint von den Plasmocysten gebildet zu werden, von denen man weiß, daß sie erst um die 2. bis 3. Woche im Retikuloendothel erscheinen. Nach BUSER und BUTLER besteht vor allem für die  $\gamma$ -A-Globuline bei vielen Säuglingen eine Reifungsverzögerung. Wahrscheinlich ist diese bei in Inkubator aufgezogenen Frühgeborenen häufi-

ger, doch werden noch viele Untersuchungen an kleinen Frühgeborenen, deren Aufzucht im Inkubator erfolgt, notwendig sein, bevor wir uns eine genaue Vorstellung machen können.

Wie dem auch sei, so konnte doch keine Abweichung von der normalen

Reifung für die  $\gamma$ -M und in der Hälfte der Fälle für die  $\gamma$ -A-Globuline nachgewiesen werden, hier besteht also ein Unterschied gegenüber den germ free aufgezogenen Tieren.

Wie SPRINGER bei aseptisch aufgezogenen Hähnchen beobachtete, genügt eine einzige Colibazillen ent-

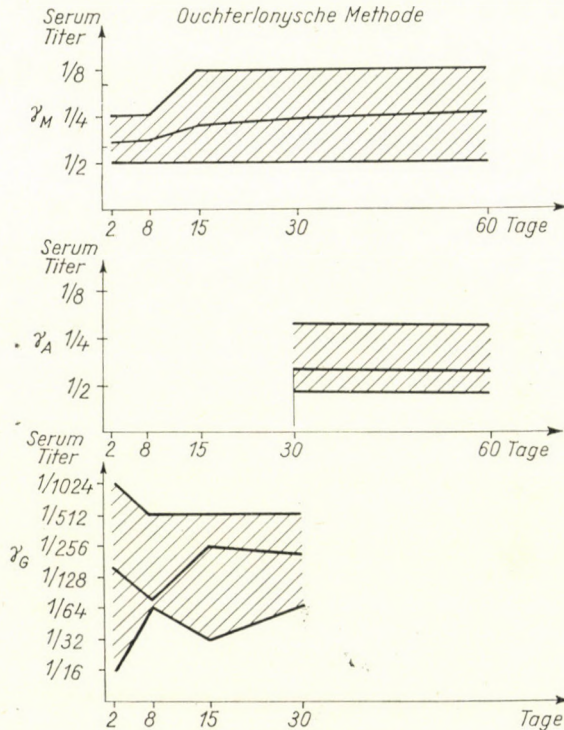


ABB. 9 Ouchterlony'sche Methode

haltende Mahlzeit, um eine massive und anhaltende Monokontamination des Darmes nach sich zu ziehen, und das Auftreten reichlichen Anti-B-Agglutinins, das ihnen vorher fehlte, hervorzurufen. Es hat also wohl den Anschein, daß der Erwerb von Immunglobulinen zu einem für Frühgeborene noch normalen Titer in Beziehung einer frühzeitigen Besiedlung des

Darmes mit nichtpathogenen Colibazillen steht, die zweifellos auf oralem Wege erfolgt. Letztere spielen wahrscheinlich eine entscheidende Rolle als Antigenreiz für die Immunglobuline. Übrigens haben SELL [24] und andere Autoren gezeigt, daß die germ free aufgezogenen Tiere die Fähigkeit behalten, gegen ein mikrobielles Antigen, das ihnen auf ora-

lem Wege zugeführt wird, zu reagieren.

Es ist bekannt, daß Frühgeborene nach Impfung mit verschiedenen Impfantigenen entsprechende Antikörper bilden. Wie CHESTER und FINK und Mitarbeiter [5, 6] gezeigt haben, treten dabei zuerst Makroglobuline vom

Typ 19 S auf, denen nach einigen Wochen  $\gamma$ -G-Globuline vom Typ 7 S folgen. Es würde zu weit führen, auf Einzelheiten dieser Untersuchungen einzugehen; sie bestätigen allerdings die Fähigkeit des Frühgeborenen, auf Antigene zu reagieren. Es scheint also, wenn die Lage nach dem Auf-

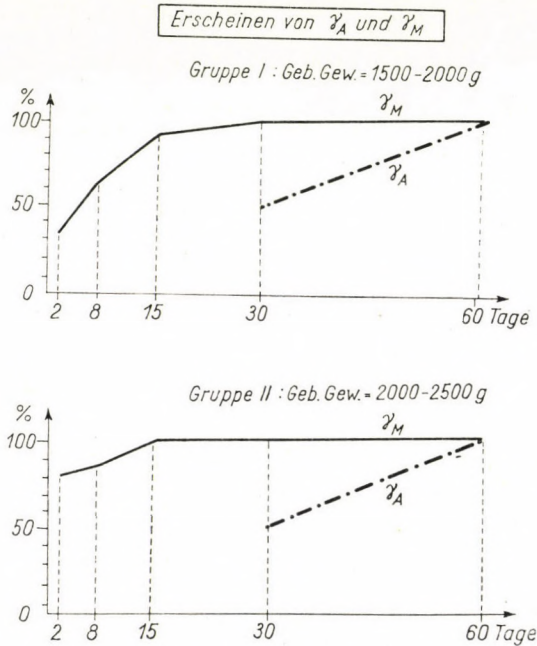


ABB. 10

treten des  $\gamma$ -A-Globulins auch noch ungeklärt ist, daß unsere modernen Aufzuchtmethoden der Frühgeborenen die Reifung der Immunglobuline, zumindest in den ersten Monaten nicht in augenfälliger Weise verzögern.

#### ZUSAMMENFASSUNG

Auftreten und Entwicklung der Immunglobuline wurden bei Frühgeborenen untersucht, deren Aufzucht

nach modernen Richtlinien erfolgte. Die quantitativen Bestimmungen wurden mit der modifizierten Rosettenmethode durchgeführt. Die Untersuchungen ergaben, daß die Entwicklung der Immunglobuline durch die Ernährung weder quantitativ noch qualitativ beeinflusst werden. In Anlehnung an immunologische Experimente an keimfrei aufgezogenen Tieren wurde bei Frühgeborenen das Auftreten der Bakterienflora und



der Immunglobuline geprüft. Es konnte keine Verzögerung bei den  $\gamma$ -G und  $\gamma$ -M-Globulinen beobachtet werden, doch schienen die  $\gamma$ -A-Globuline in 50% der Fälle verspätet aufzutreten.

Die Bedeutung der Besiedelung des Darmes mit nichtpathogenen Colibakterien für die immunologische Reifung wird erörtert.

## LITERATUR

1. BORRONE, C., CERRUTI, P.: Studio immunoelettroforitico delle proteine sieriche nel neonato prematuro e a termine. *Minerva pediat.* **12**, 1413 (1960)
2. COTTIER, H.: Zur Histopathologie des Antikörpermangelsyndroms. *Schweiz. med. Wschr.* **88**, 82 (1958)
3. DIETEL, V., LOHMANN, D.: Die Entwicklung der Serumeiweißkörper bei Frühgeborenen. *Z. Kinderheilk.* **84**, 560 (1960)
4. FELLMANN, K.: Studies on the behaviour of immunoglobulins in the blood serum of premature, newborn and older infants, under normal and pathological conditions. *Pediat. pol.* **39**, 153 (1964)
5. FINK, C. W., LOSPALLUTO, J., MILLER, W. JR., DORWARD, B.: The sequences of gamma globulin formation in immunized premature infants: macroglobulin (19S) antibody formation followed by 7S antibody. *Amer. J. Dis. Child.* **102**, 460 (1961)
6. FINK, C. W., MILLER, W. E. JR., DORWARD, B., LOSPALLUTO, J.: The formation of macroglobulin antibodies. II. Studies on neonatal infants and older children. *J. clin. Invest.* **41**, 1422 (1962)
7. FOUCAUD, M., GOUDEMAND, M.: Études immuno-électrophorétiques chez des nourrissons prématurés. *Rev. franç. Étud. clin. biol.* **6**, 446 (1961)
8. GLEYE, M., SACQUET, E., SANDOR, G.: Étude immuno-chimique du serum du rat élevé sous conditions steriles. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* **254**, 2100 (1962)
9. GORDON, H. A.: The germ free animal. Its use in the study of physiologic effects of the normal microbial flora on the animal host. *Amer. J. dig. Dis.* **5**, 841 (1960)
10. GRABAR, P., COURCON, J., WOSTMANN, S.: Immunoelectrophoretic analysis of the serum of germ free rats. *J. Immun.* **88**, 679 (1962)
11. HITZIG, W. H.: Die physiologische Entwicklung der Immunglobuline. *Helv. paediat. Acta* **6**, 596 (1957)
12. HITZIG, W. H., SCHEIDEGGER, J. J., BUTLER, R., GUGLER, E.: Zur quantitativen Bestimmung der Immunglobuline. *Helv. med. Acta.* **26**, 142 (1959)
13. HITZIG, W. H., BUTLER, R., COTTIER, H., HESS, M., MURALT, G. v.: Die Plasmaproteine in der klinischen Medizin. Springer, Berlin 1963
14. KARTE, J.: Immunoelektrophoretische Befunde bei Neugeborenen und Frühgeborenen. *Mshr. Kinderheilk.* **107**, 108, (1959)
15. MARTIN DU PAN, R., SCHEIDEGGER, J. J.: Le rôle du colostrum dans l'alimentation du prématuré. *Arch. franç. Pédiat.* **12**, 243 (1955)
16. MURALT, de G.: La maturation de l'immunité humorale chez l'homme. Thèse, Paris 1961
17. MURALT, G. v., GUGLER, E.: Die Reifung der Immunglobuline. *Helv. med. Acta* **26**, 410 (1959)
18. OLSEN, E.: Studies on the intestinal flora of infants. Munkagaard, Copenhagen (1949) S. 67
19. ROTH, N.: Zur semi-quantitativen Erfassung der beiden Serum-Immunglobuline  $\beta_{2A}$  und  $\beta_{2M}$  im Neugeborenen und Kindesalter. *Ann. paediat. (Basel)* **199**, 548 (1962)
20. SACQUET, E., VARGUES, R., CHARLIER, H.: Études sur l'hypogammaglobulinémie des animaux sans germes (germ free). *Ann. Inst. Pasteur* **101**, 703 (1961)
21. SCHEIDEGGER, J. J., MARTIN DU PAN, R.: Étude immuno-électrophorétique des protéines du nouveau-né et du nourrisson. *Étude. néonat.* **6**, 135 (1957)
22. SCHNEEGANS, E., de MURALT, G., DIERHEIMER-VAURY, C.: Élevage des prématurés au colostrum. *Arch. franç. pédiat.* **19**, 124 (1962)
23. SCHNEEGANS, E., de MURALT, G., HEUMANN, G., LEVY-SILAGY, J.: Étude

- comparée des protéinogrammes de prématurés nourris au colostrum et au lait maternel parfait. *Arch. franç. pédiat.* **20**, 551 (1963)
24. SELL, S.:  $\gamma$  globulin metabolism in germ-free guinea-pigs. *J. Immun.* **92**, 559 (1964)
25. SMITH, R. T.: Immunological tolerance as a developmental phenomenon. *Pediatrics* **34**, 14 (1964)
26. VAHLQUIST, G.: Neonatal immunity. *Amer. J. Dis. Child.* **99**, 729 (1960)
27. VAHLQUIST, B.: Immunity of full-term newborns and prematures. *Lancet* **1**, 256 (1949)
28. VIVELL, O., SICK, T.: Immunoelectrophoretische Untersuchungen über die Entwicklung der Serumeiweiße. *Z. Kinderheilk.* **34**, 349 (1960)
29. WERDER-KIND, H.: Das Serumeiweißbild beim Frühgeborenen. *Helv. pediat. Acta* **18**, 450 (1963)
30. ZAPP, E.: Immunoelektrophoretische Untersuchungen zur Herkunft des  $\gamma$  Globulins beim Neugeborenen I. *M Schr. Kinderheilk.* **108**, 120 (1960)

Prof. Agr. E. SCHNEEGANS  
Institut de Puériculture  
23 rue de la Porte de l'Hôpital  
Strasbourg, France