

Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire
ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 95 (1953)

Heft: 1

Artikel: Hämagglutination, Autolyse und Immunisierungsvermögen von Schweinerotlaufbazillen

Autor: Radvila, P.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-588586>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. [Siehe Rechtliche Hinweise.](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. [Voir Informations légales.](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. [See Legal notice.](#)

Download PDF: 14.03.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Aus der technischen Abteilung des Schweizerischen Serum- und Impfinstitutes Bern
(Leiter: P.-D. Dr. R. Regamey)

Hämagglutination, Autolyse und Immunisierungsvermögen von Schweinerotlaufbazillen

Von P. Radvila

Bei der Herstellung von Impfstoffen gegen Schweinerotlauf kommt der Auswahl der Stämme größte Bedeutung zu. Es ist nun seit langem bekannt, daß die Virulenz jedenfalls kein zuverlässiges Maß für das Immunisierungsvermögen eines bestimmten Stammes darstellt; dagegen soll man nach Dinter auf die hämagglutinierende Fähigkeit der Rotlaufbakterien abstellen können.

Das Interesse an der Eigenschaft verschiedener Bakterienarten, Erythrozyten zur Agglutination zu bringen, ist durch die Entdeckung der virusbedingten Hämagglutination durch Hirst neu erwacht. So ist in den letzten Jahren eine Hämagglutination unter anderem durch folgende Bakterien beschrieben: *H. pertussis*, *H. bronchisepticus* (Keogh und Mitarbeiter); *Shigella* *alc.*, *Vibrio comma* (Griffits); Pneumokokken (Hallauer und Löffler) und Rotlaufbazillen (Dinter). Letzterer untersuchte 70 Rotlaufstämme auf ihre hämagglutinierende Kraft und fand, daß 6 Stämme stets, die übrigen aber nur schwach oder gar nicht hämagglutinierten. Weiter hat er darauf hingewiesen, daß die hämagglutinierenden Stämme auch gute immunogene Eigenschaften besitzen.

Dedié untersuchte Rotlaufstämme auf säurelösliche Antigene. Die säurelöslichen Gruppen teilt er in Varianten A und B, diejenigen, welche keine säurelösliche Antigene haben, nennt er N-Formen. Beide Varianten sind artspezifisch, aber für die Herstellung abgetöteter Impfstoffe sollen nur Stämme der Gruppe B benützt werden.

Im Jahre 1933 immunisierte Birö Schweine mit Rotlaufbouillonkulturfiltraten; die Immunsera besaßen eine deutliche Schutzkraft und agglutinierende Eigenschaften.

Weiter hat Traub gut gewachsene, flüssige Rotlaufkultur durch Berkefeldfilter keimfrei filtriert und Mäuse mit dem an Aluminiumhydroxyd adsorbierten Filtrat immunisiert. Für diesen Autor hängt die lösliche immunisierende Substanz von der Wachstumsintensität der Bakterien und von deren Antigenstruktur ab.

Im Jahre 1947 hat Traub Rotlaufbouillonkultur an Aluminiumhydroxyd adsorbiert und mit Erfolg an Schweine verimpft. Als lebende Kultur eingespritzt vermag *jeder Stamm* einen mehr oder weniger wirksamen Schutz zu erzeugen; dagegen eignen sich zur Herstellung von wirksamen abgetöteten Adsorbatimpfstoffen nur *Stämme* mit besonderer Antigenstruktur. Auch mit solchen Stämmen kann aber nur durch Depotwirkung eine ausreichende Immunität erzielt werden.

Unsere Versuche bezweckten, eine sichere und einfache Methode zur Ermittlung geeigneter Rotlaufstämme *in vitro* auszuarbeiten. Ferner hat uns interessiert, inwieweit die verschiedenen Rotlaufstämme lösliche Antigene besitzen und welche Beziehungen zwischen diesen Antigenen und der Bakteriolyse bestehen.

Eigene Versuche

Zur Herstellung des Rotlaufadsorbatimpfstoffes werden verschiedene Rotlaufstämme auf ihr Hämagglutinationsvermögen untersucht. Von 108 Stämmen hämagglutinieren 9 immer stark, 4 das eine Mal stark, das andere Mal schwach oder gar nicht, die übrigen 95 überhaupt nicht. Die Hämagglutination wird nach Dinters Methode ausgeführt.

Es werden eine 24stündige Kultur in 10% Pferdeserumbouillon, sowie eine 1%ige, dreimal gewaschene Hühnererythrozytensuspension benützt. Zur Ausführung der Reaktion werden hohlgeschliffene Objektträger verwendet. Die Kulturen werden stufenweise verdünnt und von jeder Verdünnung 0,05 ccm in die Vertiefung des Objektträgers gebracht. Zu jeder Verdünnung kommen 0,05 ccm Erythrozytensuspension und dann wird gut gemischt. Die Mischung wird einige Male hin- und hergeschwenkt; die Ablesung der Reaktion findet nach 10 Minuten statt. Die Hämagglutination wird wie folgt beurteilt: Sehr stark + + + +, stark + + +, mittelstark + + und schwach +. Die Stämme, welche in Verdünnung 1:8 stark und 1:16 mittelstark bzw. schwach hämagglutinieren, betrachten wir als hämagglutinierende Stämme.

Dinter hat darauf hingewiesen, daß nicht alle Hühner agglutinable Erythrozyten besitzen und es scheint, daß diese Eigenschaft bei bestimmten Hühnern konstant zu sein pflegt. In unserem Versuch konnten von 10 untersuchten Hühnern eines mit inagglutinablen und eines mit „panagglutinablen“ Erythrozyten ermittelt werden: die Erythrozyten dieses letzten Huhnes sprachen auf sämtliche Rotlaufstämme an; die Erythrozyten der andern 8 Hühner dagegen wurden in differenzierter Art agglutiniert. Für die Ermittlung der hämagglutinierenden Stämme eignen sich Hühnererythrozyten mit sehr starker Agglutinabilität selbstverständlich nicht, weil es in diesem Fall schwer zu unterscheiden ist, welche Rotlaufstämme zu den hämagglutinierenden zu zählen sind.

Die Intensität der Hämagglutination hängt nicht nur von den Hühnererythrozyten allein, sondern auch vom Nährboden ab. Je nach der Nährbodencharge kann die Hämagglutination sehr verschieden ausfallen, und zwar völlig unabhängig vom Rotlaufstamm bzw. den Hühnererythrozyten. Worauf diese Variabilität beruht, können wir nicht mit Sicherheit sagen.

Es sei jedoch erwähnt, daß das für die Nährböden verwendete Pferdeserum auf spontane Hämagglutination untersucht werden sollte. In einem Falle kam es vor, daß die 10%ige Pferdeserumbouillon (Diphtheriepferd) ohne Rotlaufkultur in der Verdünnung 1:8 noch stark hämagglutinierte; nach ca. 1½ Jahren hämagglutinierte das Serum vom gleichen Pferd noch in der Verdünnung 1:4. Wir untersuchten 23 Diphtherie- und 10 Normalpferdesera und konnten feststellen, daß ca. 50—60% der unverdünnten Sera hämagglutinierten. Zwischen Diphtheriepferde- und Normalpferdesera wurden keine wesentlichen Unterschiede festgestellt.

Alle weiteren Versuche wurden mit 10% Pferdeserumbouillon (pH 7,8) ausgeführt und die Rotlaufstämme wurden in 1%iger Peptonbouillon gehalten.

Nach Dinter sollen die hämagglutinierenden Stämme gute immunisierende Eigenschaften besitzen, was auch durch unsere zahlreichen Versuche bestätigt werden konnte. Das Protokoll der Auswertung eines 5fachen konzentrierten Adsorbatimpfstoffes ist in der Tabelle I ersichtlich: die ersten zwei Adsorbatimpfstoffe (Stämme 15 und 9) wurden aus der gleichen, die zwei letzten (Stämme 7 und 10) aus einer anderen Nährbodencharge hergestellt. Der Stamm 7 hämagglutinierte 1:16 und der Stamm 15 1:32 noch deutlich. Die Stämme 9 und 10 hämagglutinierten nicht. Vergleichend wurden die Mäuse auch mit nicht adsorbierter Formolkultur immunisiert. Da der Adsorbatimpfstoff 5mal konzentriert war, wurde von der Formolkultur eine 5mal größere Menge injiziert. Die Mäuse wurden 3 Wochen nach der Immunisierung mit 0,01 ccm einer 24stündigen Rotlaufkultur intraperitoneal infiziert.

Tabelle 1

Vergleich des Immunisierungsvermögens
von hämagglutinierenden und nicht hämagglutinierenden Stämmen

Rotlaufstamm	Art des Impfstoffes	Hämagglutination nach 24 Stunden	Impfstoffdosis in ccm	Anzahl der Mäuse			Überlebensrate in %
				geprüfte	tote	überlebende	
15	Adsorbatimpfstoff	++++	0,05	10	1	9	90
			0,0125	15	10	5	33
			0,00625	14	11	3	21
	Formolkultur	++++	0,25	8	8	0	0
			0,0625	8	8	0	0
			0,03125	8	8	0	0
9	Adsorbatimpfstoff	—	0,05	11	8	3	27
			0,0125	11	11	0	0
			0,00625	11	11	0	0
	Formolkultur	—	0,25	5	5	0	0
			0,0625	11	11	0	0
			0,03125	10	10	0	0
7	Adsorbatimpfstoff	++++	0,05	15	4	11	73
			0,0125	13	7	6	46
			0,00625	4	2	2	50
10	Adsorbatimpfstoff	—	0,05	8	6	2	25
			0,0125	7	7	0	0
			0,00625	8	7	1	12

Aus der Tabelle 1 ist zu entnehmen, daß die mit den hämagglutinierenden Stämmen 15 und 7 hergestellten Adsorbatimpfstoffe die Mäuse viel besser immunisieren, als die mit den nicht hämagglutinierenden Stämmen 9 und 10. Ferner zeigt sich, daß die beiden nicht adsorbierten Impfstoffe in allen Verdünnungen die Mäuse nicht zu schützen vermochten; die Depotwirkung ist also für abgetötete Kulturen unerläßlich. Kontrolltiere, die nicht vorimmunisiert wurden und die lediglich 0,01 ccm der lebenden Kultur erhielten, starben innert 3—4 Tagen.

Mit den übrigen 7 hämagglutinierenden Rotlaufstämmen wurden auch Adsorbatimpfstoffe hergestellt und an Mäusen ausgewertet: die 7 Impfstoffe waren gleichwertig.

Wenn die hämagglutinierenden Rotlaufstämme in 10% iger Pferdeserum-

bouillon gezüchtet werden, findet man, daß die Hämagglutination nach 24stündiger Bebrütung bei 37° C am stärksten ist und daß das pH in diesem Zeitpunkt sehr stark gesunken ist, um danach auf ungefähr gleicher Höhe zu bleiben. Die Wirksamkeit des hämagglutinierenden Agens sinkt langsam und ist nach 96 Stunden vollständig verschwunden. Wenn man eine solche Kultur biologisch und morphologisch genau verfolgt, stellt man folgendes fest: nach 24 Stunden sind sämtliche Bazillen Gram-positiv (Entfärbung mit Alkohol allein, ohne Azeton) und haben deutliche Konturen, aber nach 96 Stunden findet man ein ganz anderes Bild. Die Keime sind aufgelöst und durch den Zerfall der Bakterienleiber entstehen hellrote Flecken oder Granula, die Gram-negativ sind. In solchen Kulturen findet sich immer noch eine kleine Zahl von Bazillen, welche meistens in lange oder kurze Degenerationsformen übergegangen und Gram-positiv geblieben sind. Diese Involutionsformen scheinen sich erst nach Auftreten der autolytischen Prozesse zu entwickeln. In nicht autolysierten Kulturen konnten nie deutliche Degenerationsformen beobachtet werden; in ungelösten Kulturen bleiben sämtliche Formen unverändert und Gram-positiv.

Als Beispiel zeigen wir in der Tabelle 2 ein Protokoll, wonach die Stämme 3 und 7 immer bis 1:16 hämagglutinierten und Stamm 11 nie.

Die Kulturdichte (Opazität) wurde mit dem Nephelometer nach Lange geprüft und zur Messung der Kultur wurden 15,3 mm dicke Reagensgläser benützt.

Aus Tabelle 2 ist folgendes zu entnehmen:

Nach 24stündiger Bebrütung hämagglutinieren Stamm 7 und 3 sehr gut und Stamm 11 gar nicht. Das pH der ersten drei Kulturen war gleich, nur bei Stamm 11 etwas niedriger; die Opazität war in allen Kulturen ungefähr gleich.

Nach 48 Stunden haben die beiden Kulturen des Stammes 7 noch stark und der Stamm 3 mittelstark hämagglutiniert. Mikroskopisch konnte man bei Stamm 3 schon starke Bakteriolyse feststellen; die Aufhellung der Kultur war deutlich. Der Stamm 11 blieb unverändert.

Nach 72 Stunden hat nur noch eine Kultur von Stamm 7 mittelstark hämagglutiniert; obwohl man in dieser Kultur schon Autolyse wahrnehmen konnte, waren jedoch noch viele Gram-positive Stäbchen mit deutlichen Konturen zu sehen und die Aufhellung der Kultur war nicht so ausgeprägt.

Nach 96 Stunden ist die Opazität der 3 ursprünglich hämagglutinierenden Kulturen wesentlich zurückgegangen und das Hämagglutinationsvermögen ist nun verschwunden. Die Kultur des Stammes 11, die von Anfang an nicht hämagglutinierte, bleibt nach 4 Tagen unverändert.

Zusammenfassend zeigt die Tabelle 2, daß *das Hämagglutinationsvermögen proportional mit der Zunahme der Autolyse abnimmt.*

Es zeigen sich hier also wesentliche Unterschiede zwischen Pneumokokken und Rotlaufbakterien. Die Pneumokokken geben nämlich keine Hämagglutination, wenn sie nicht autolysiert sind (Löffler) und die Rot-

Tabelle 2

Beziehungen zwischen Autolyse und Hämagglutination

Bebrütungszeit	Rotlaufstamm	Hämagglutination	Opazität	pH der Kultur	Bemerkungen
24 Std.	7	++++	70,5	7,2	Keine Autolyse. Kurze Gram-positive Stäbchen
	7	++++	71,6	7,2	
	3	++++	68,4	7,2	
	11	0	68,0	6,7	
48 Std.	7	++++	64,8	7,2	Sehr schwache Autolyse Wie nach 24 Stunden Starke Autolyse. Wenig Keime. Involutionenformen Wie nach 24 Stunden
	7	++++	71,0	6,8	
	3	++	58,0	6,8	
	11	0	66,5	6,7	
72 Std.	7	0	48,5	7,2	Starke Autolyse. Ganz wenig Keime. Schollenbildung Schwache Autolyse. Noch viele Gram-positive Stäbchen Sehr starke Autolyse Wie nach 24 Stunden
	7	+++	61,4	6,8	
	3	0	48,2	6,7	
	11	0	67,5	6,7	
96 Std.	7	0	45,5	7,2	Starke Autolyse. Schollenbildung Kurze Gram-positive Stäbchen. Keine Autolyse
	7	0	52,7	6,8	
	3	0	47,5	6,7	
	11	0	67,2	6,7	

laufbakterien verlieren ihre Fähigkeit zu hämagglutinieren, wenn sie autolytisch sind.

Dinter schreibt: „Bei laktosehaltigen Nährböden ist allerdings darauf zu achten, daß die Hämagglutination am ersten Bebrütungstag zwar stark ist (pH über 6), daß sie aber bei fortschreitender Säuerung der Kultur, und zwar schon am 2. Bebrütungstag, schwach wird (pH unter 6) oder auch völlig ausbleiben kann (pH unter 5,5):“ In späteren Arbeiten weisen Dinter und Bakos darauf hin, daß die Hämagglutination im Bereich von pH 5 bis 8 nachweisbar ist, unter pH 4,5 und über pH 9,5 aber völlig verschwindet.

Wir haben in Tabelle 2 festgestellt, daß Bakterienleiber in 72–96 Stunden aufgelöst werden, aber durch diesen Zellzerfall verschwand auch das Hämagglutinin vollständig. Wenn die fortschreitende Säuerung der Kultur daran schuld wäre, könnte man schließen, daß nur diejenigen Kulturen ihr Hämagglutinationsvermögen verlieren, welche stark sauer reagieren. Aus der Tabelle 2 ersehen wir ferner, daß die erste Kultur des Stammes 7 ein

pH von 7,2 aufwies; nach drei Tagen war aber das Hämagglutinin schon vollständig verschwunden. Die zweite Kultur des gleichen Stammes besaß nach 2 Bebrütungstagen ein pH von 6,8; sie hämagglutinierte aber nach drei Tagen unverdünnt noch stark. Wenn also die saure Reaktion der Kultur für das Verschwinden der Hämagglutination verantwortlich wäre, so sollte die erste Kultur länger und deutlicher hämagglutinieren als die zweite. Es kann eine Kultur mit einem pH von 6,6 hämagglutinieren, auch wenn die Autolyse nicht oder schwach eingetreten ist.

Aus unseren Versuchsergebnissen können wir den Schluß ziehen, *daß das Hämagglutinationsvermögen nicht infolge fortschreitender Säuerung der Kultur, wohl aber infolge der Bakteriolyse zurückgeht.*

Dubos hat 1937 die Autolyse der Pneumokokken untersucht. Die durch Hitze oder Konservierungsmittel abgetöteten Keime, die ihre Gram-Färbbarkeit behielten, konnten durch Zusatz von zellfreiem Pneumokokkenautolysat in Gram-negative Bakterien umgewandelt werden. Der Verlust der Färbbarkeit nach Gram und die Auflösung der Pneumokokken ist nach Dubos ein enzymatischer Vorgang. Löffler weist darauf hin, daß ein zellfreies Pneumokokkenautolysat eine doppelte Fähigkeit besitzt: erstens Gram-positive in Gram-negative Keime zu verwandeln und zweitens Erythrozyten zu hämagglutinieren.

Worauf beruht die Auflösung der Rotlaufbazillen während der Bebrütung? Entweder sind dafür Bakteriophagen oder autolytische Enzyme verantwortlich.

Kommt ein Bakteriophag in Frage?

Eine gut autolytierte 96stündige Kultur wird durch Seitzfilter keimfrei filtriert und das Filtrat mit dem gleichen Teil Serumbouillon gemischt. Zur Kontrolle wird nur Serumbouillon benützt. Die beiden Nährböden werden mit autolytischer und nicht autolytischer Kultur beimpft. Nach 24stündiger Züchtung ist das Wachstum in beiden Kulturen gut; ebenso hämagglutinieren beide. Nach 96 Stunden sind aber beide Kulturen wieder in Autolyse übergegangen und hämagglutinieren auch nicht mehr.

Wenn hier Bakteriophagen im Spiele wären, so hätten sie die Rotlaufkeime schon im Entwicklungsstadium aufgelöst. Die Bakteriophagen können sich nämlich nur in lebenden Bakterienzellen vermehren und in diesem Falle entsteht die Bakteriolyse meistens bei deutlich alkalischer Reaktion. Unsere Kultur reagierte aber schwach sauer.

Ferner wurden Agarplatten mit Rotlaufkultur ausgespatelt und dann mit keimfreiem Autolysat stellenweise beschickt. Nach 24 Stunden konnten weder „taches vierges“ noch atypische Kolonien nachgewiesen werden.

Wir müssen also annehmen, daß die Autolyse der Rotlaufkultur nicht auf die Wirkung eines Bakteriophags sondern auf die eines endogenen Prinzipes zurückzuführen ist.

Kommen autolytische Fermente in Frage?

Zur Erklärung dieser Frage wird eine stark autolytierte Kultur 1 Stunde bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert; die klare überstehende Flüssigkeit wird sodann absiphoniert und im Kühlschrank bei 4° C aufbewahrt.

Zur Darstellung der Lyse werden 8 ccm einer 24stündigen gut gewachsenen Kultur abzentrifugiert, das Sediment in 0,5 ccm physiolog. NaCl-Lösung suspendiert und im Wasserbad bei 65° C während 20 Minuten abgetötet. Nach dieser Behandlung behalten die Keime ihre normale Gestalt und ihre Gram-positive Färbbarkeit. Diese abgetötete Kultur wird stufenweise von $\frac{1}{8}$ bis zum ursprünglichen Volumen mit überstehender Flüssigkeit von dem zentrifugierten Autolysat aufgefüllt und im Brutschrank bei 37° C gehalten. Die Kontrollröhrchen enthalten nur die Bakterienkultur und gleiche Serum-bouillon.

Schon nach 24 Stunden wird die Mehrzahl der abgetöteten Keime Gram-negativ und aufgelöst, während die Bazillen der Kontrollröhrchen Gram-positiv und nicht aufgelöst sind. Nach 48 Stunden kann man deutlichere Veränderungen wahrnehmen. In jenen Röhrchen tritt die Bakteriolyse am stärksten auf, in denen das Autolysat bis zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt worden war. Die Kontrollsuspension bleibt unverändert.

Die überstehende Flüssigkeit der abzentrifugierten aber nicht keimfrei filtrierten Kultur enthält stets noch eine kleine Anzahl lebender Keime, welche während des lytischen Vorganges wachsen; diese Keime gehen in Involutionsformen über. Bei den nicht autolysierten Kulturen treten die Degenerationserscheinungen nicht so deutlich hervor. In den gelösten Kulturen befinden sich immer Keime, welche der Lyse widerstehen; in der Mitte oder an den Enden dieser sogenannten resistenten Stäbchen findet man aber eine hellrote Einschmelzungsstelle, die auf eine beginnende Lyse deutet. Die Auflösung erfolgt besser bei 37° C als bei 41° C.

Die autolysierten Kulturen wurden auch durch Seitzfilter keimfrei filtriert; ebenso wie das zentrifugierte Autolysat hat das Filtrat die abgetöteten Rotlaufbakterien lysiert. Daraus ist zu folgern, daß die Stoffe, die die Autolyse einleiten, leicht durch Seitz-Entkeimungsschichten gelangen.

Wenn man von einer *nicht autolysierten* Rotlaufkulturflasche nach 24stündiger Bebrütung eine Probe entnimmt und keimfrei filtriert, dann greift dieses Filtrat die fixierten Bakterien gar nicht an. Wenn man aber diese Kultur im Brutschrank autolysieren läßt, dann gewinnt sie lysierende Eigenschaften. Dieser Befund weist darauf hin, daß *das lysierende Agens ausschließlich in autolysierter Kultur vorhanden ist.*

Zwischen der Lyse von abgetöteten und lebenden Rotlaufkeimen besteht ein Unterschied:

1. Das Lysin löst die *abgetöteten* Keime schneller auf, als die lebenden. Aber sie zerfallen nicht ganz, sondern bleiben als hellrote, schattenhafte Stäbchenformen.
2. Wenn die *lebenden* Keime aufgelöst sind, dann zerfallen sie ganz und in mikroskopischen Präparaten erscheinen Granula und Schollen. Der Prozeß ist also ähnlich wie bei den natürlich autolysierten Kulturen.
3. Die Zahl der nicht angegriffenen Keime ist in den lebenden größer als in den abgetöteten Kulturen.

Von unsern 108 geprüften Stämmen können die 9 hämagglutinierenden in Autolyse übergehen, bzw. Lysin produzieren. Die übrigen 99 Stämme waren nicht hämagglutinierend; sie können aber stark, schwach oder gar nicht autolysieren. Obwohl der Stamm 11 sich als spontan nicht autolytisch erweist, kann das Lysin eines andern Stammes ihn lysieren; der Stamm 11 kann also das Bakteriolyysin nicht selbst produzieren, er ist aber gegen Lysine nicht widerstandsfähiger als die andern autolysierenden Stämme.



Abb. 1. 24stündige Kultur vor der Autolyse.

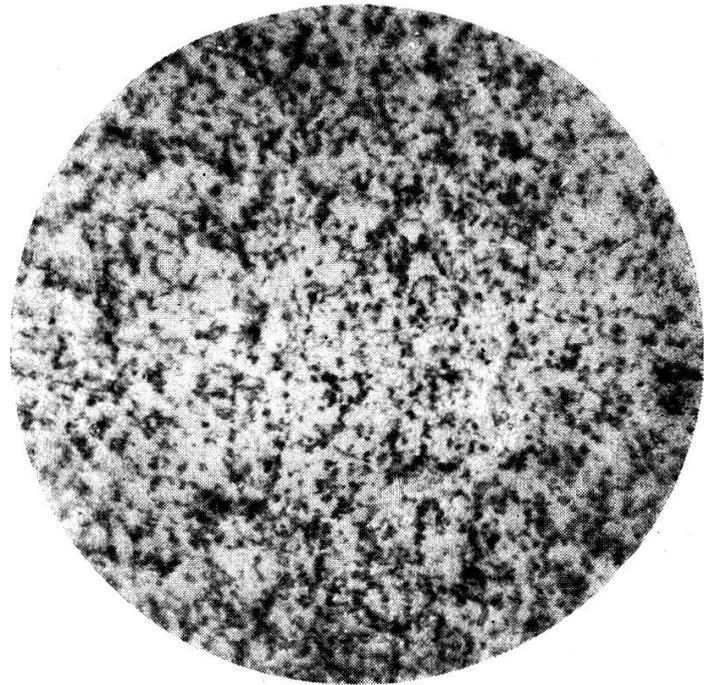


Abb. 2. Dieselbe, aber nach 96 Stunden autolysierte Kultur. Die dunkeln Punkte sind aufgelöste und zerfallene Keime.

Das Lysin wird durch Erwärmen auf 60° C während einer Stunde inaktiviert. Bei der Aufbewahrung bei 10° C im Dunkelraum während 2 Monaten nimmt die Wirksamkeit des Autolysins ab. Die Aktivität des Lysins wird durch 0,2% Formaldehyd abgeschwächt. Die Wasserstoffionenkonzentration hat auch eine gewisse Bedeutung auf das lysierende Vermögen: die Bakteriolyse geht besser vor sich bei saurer (pH 6,7) als bei alkalischer (pH 7,8) Reaktion. (Die Serumbouillon allein kann bei saurer Reaktion die Rotlaufkultur nicht lysieren).

Es wurde früher erwähnt (Tabelle 1), daß die hämagglutinierenden Stämme die Maus besser immunisieren als die nicht hämagglutinierenden Stämme. Analogerweise wurden auch autolysierte und nicht autolysierte Kulturen in bezug auf ihr immunisierendes Vermögen untersucht. Eine stark autolysierte Kultur besteht ausschließlich aus zerfallenen Bakterienleibern und Lysin (Abb. 2). Bei einer nicht autolysierten Kultur befinden sich Bakterienleiber in toto, aber kein Lysin.

Im folgenden Versuch wurden von dem gleichen hämagglutinierenden Stamm 7 sechs Adsorbatimpfstoffe hergestellt, nämlich 3 aus einer autolytierten und 3 aus einer nicht autolytierten Kultur; die Auswertung fand an weißen Mäusen statt. Vor ihrer Bearbeitung als Impfstoffe wurden die Kulturen gleich lang bebrütet. Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in Tabelle 3 ersichtlich.

Tabelle 3

Wirksamkeitsunterschiede zwischen autolytierten
und nicht autolytierten Adsorbatimpfstoffen

Zustand der Kultur vor der Herstellung des Adsorbatimpfstoffes	Impfstoffcharge	Impfstoffdosis in ccm	Anzahl der Mäuse			Überlebensrate in %	
			geprüfte	tote	Überlebende	für jede Impfstoffcharge	für jede Impfstoffart
Autolytiert	1	0,05	6	1	5	83	Durchschnittlich 94%
	2	0,05	10	0	10	100	
	3	0,05	10	0	10	100	
Nicht autolytiert	1	0,05	14	8	6	42	Durchschnittlich 48%
	2	0,05	8	4	4	50	
	3	0,05	11	5	6	54	

Aus Tabelle 3 ist zu entnehmen, daß die *autolytierten* Impfstoffe 1, 2 und 3 durchschnittlich 94% immunisierte Mäuse zu schützen vermochten, dagegen die drei letzten *nicht autolytierten* nur 48%. Auch bei dem in der Tabelle 1 erwähnten ersten Adsorbatimpfstoff (hergestellt mit Stamm 15) war die Kultur stark autolytiert und 0,05 ccm des Impfstoffes schützte 90% der weißen Mäuse gegen eine vielfach tödliche Dosis.

Der autolytierte Adsorbatimpfstoff wurde auch an Schweinen ausgewertet. Dazu verwendeten wir eine Mischung von verschiedenen autolytierten Adsorbatimpfstoffen (Kontroll-Nr. 2853). 4 Schweinen im Gewicht von 75–80 kg wurden je 5 ccm subkutan hinter dem Ohr injiziert. Am 21. Tag nach der Impfung wurden die immunisierten Schweine sowie vier unbehandelte Kontrolltiere mit drei verschiedenen virulenten Rotlaufstämmen perkutan infiziert. Die Kontrollschweine waren ungefähr gleich schwer wie die immunisierten.

Alle 4 immunisierten Schweine zeigten weder allgemeine noch lokale Krankheitserscheinungen, während von den 4 Kontrolltieren 3 an septikämischem Rotlauf im Anschluß daran an Backsteinblattern erkrankten. Am 2. und 3. Krankheitstag wurde den schwererkrankten Kontrollschweinen je 40 ccm Heilserum eingespritzt. Das vierte Kontrolltier blieb gesund. (Man findet einerseits hin und wieder Schweine, welche eine hohe natürliche fa-

Tabelle 4

**Immunitätsprüfung von Schweinen
nach Immunisierung mit autolysierten Adsorbatimpfstoffen**

	Schwein Nr.	Temperatur nach:				
		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag
Immunisierte Tiere	1	39,4	38,9	39,1	—	39,0
	2	39,4	39,0	39,3	—	38,8
	3	39,1	39,3	39,1	—	39,1
	4	39,4	39,5	39,8	—	39,2
Kontrolltiere	5	41,8	41,5	40,0	41,0	39,1
	6	39,0	39,1	39,0	39,0	39,1
	7	42,0	39,7	41,8	40,5	39,6
	8	41,4	41,6	42,0	40,7	39,3

miliäre Resistenz besitzen; andererseits sind auch beim Rotlauf subklinische Infektionen bekannt).

Der gleiche Impfstoff Nr. 2853 wurde auch an weißen Mäusen gleichzeitig ausprobiert: Die Dosis von 0,025 ccm schützte 88% der infizierten Mäuse.

Vergleichende Versuche mit autolysierten und nicht autolysierten Impfstoffen konnten wir an Schweinen nicht ausführen. Der Mäuseversuch zeigt aber deutlich, daß ein autolysierter Adsorbatimpfstoff eine fast doppelt so starke Immunität erzeugt, wie ein nicht autolysierter. *Aus diesen Ergebnissen können wir den Schluß ziehen, daß für die Wirksamkeit eines Adsorbatimpfstoffs die Autolyse der Kultur einen unentbehrlichen Faktor darstellt.*

Zusammenfassung

Zur Auswahl von geeigneten Rotlaufstämmen für die Herstellung von wirksamen Adsorbatimpfstoffen benutzten wir den Hämagglutinationstest. Von 108 untersuchten Stämmen hämagglutinierten 9 stets stark, 4 sehr variabel, die übrigen nicht.

Alle Adsorbatimpfstoffe, die mit diesen 9 hämagglutinierenden Stämmen hergestellt wurden, immunisierten die weißen Mäuse gleichwertig.

Als Nebenfund konnte festgestellt werden, daß 8 von 10 Hühnern Erythrozyten mit brauchbarer, d. h. mittelstarker Agglutinabilität lieferten. Die Erythrozyten eines Huhnes waren inagglutinabel; diejenigen eines andern Huhnes zeigten eine gewisse Tendenz zur Spontanagglutination.

Das hämagglutinierende Vermögen geht mit dem Fortschreiten der Autolyse der Rotlaufbakterien zurück; es ist von der Säuerung des Kulturmediums unabhängig.

Unsere sämtlichen hämagglutinierenden Stämme erwiesen sich als spontan autolytisch, die nicht hämagglutinierenden dagegen nicht. Falls ein Stamm nicht spontan in Autolyse übergeht, kann das Lysin eines andern Stammes ihn auflösen.

Das Lysin ist thermolabil. Aufbewahrung bei 10° C im Dunkelraum während 2 Monaten setzte seine Wirksamkeit herab. 0,2%iges Formol kann das lysierende Agens stark abschwächen. Die Lyse geht bei saurer Reaktion besser vor sich als bei alkalischer.

Autolysierte Kulturen, die an Aluminiumhydroxyd adsorbiert wurden, immunisieren die weißen Mäuse besser, als nicht autolysierte.

Résumé

Nous utilisons pour le choix de souches de rouget appropriées, dans la préparation de vaccins adsorbés efficaces, le test d'hémagglutination. Sur 108 souches examinées, 9 ont toujours hémagglutiné, 4 étaient très variables et les autres n'agglutinaient pas du tout.

Tous les vaccins adsorbés fabriqués avec ces 9 souches hémagglutinantes ont également immunisé les souris blanches.

On a constaté accessoirement que 8 poules sur 10 fournissaient des érythrocytes à agglutinabilité utilisable, c'est-à-dire moyenne. Les érythrocytes d'une poule étaient inagglutinables, ceux d'une autre présentaient une certaine tendance à l'agglutination spontanée.

Le pouvoir hémagglutinant diminue avec l'augmentation de l'autolyse des bacilles du rouget et ne dépend pas de l'acidité du milieu de culture.

Toutes nos souches hémagglutinantes étaient spontanément autolytiques, ce qui n'était pas le cas des non-hémagglutinantes. Lorsqu'une souche ne présente pas d'autolyse spontanée, la lysine d'une autre souche peut la dissoudre.

La lysine est thermolabile. Son efficacité diminue lors d'un séjour à 10° C dans l'obscurité pendant 2 mois. Du formol à 0,2% peut fortement atténuer l'agent de la lysine.

Les cultures autolysées, adsorbées sur l'hydroxyde d'aluminium, immunisent mieux les souris blanches que les non-autolysées.

Riassunto

Per la scelta di ceppi adatti di bacilli del malrossino, in vista di fabbricare dei vaccini adsorbiti efficaci, adoperammo il „testo“ di emoagglutinazione. Di 108 ceppi esaminati, 9 presentarono sempre un'emoagglutinazione elevata, 4 una molto variabile e gli altri ceppi nessuna.

Tutti i vaccini adsorbiti, che furono fabbricati con questi 9 ceppi emoagglutinanti, immunizzarono i topi bianchi in modo equivalente.

Come reperto secondario potè essere accertato che su 10 polli 8 fornivano degli eritrociti con un'agglutinabilità usabile, ossia media. Gli eritrociti di un pollo non erano agglutinabili; quelli di un altro presentarono una certa tendenza all'agglutinazione spontanea.

Il potere emoagglutinante diminuisce col progredire dell'autolisi dei batteri del malrossino; esso è indipendente dall'acidificazione del terreno di coltura.

Tutti i nostri ceppi emoagglutinanti presentarono autolisi spontanea, i non agglutinanti no. Quando un ceppo non va spontaneamente in autolisi, lo può sciogliere la lisi di un altro ceppo.

La lisina è termostabile. La conservazione a 10 gradi C in ambiente scuro per 2 mesi diminuiva la sua efficacia. Il formolo al 0,2% può indebolire notevolmente l'agente della lisi. Questa si svolge meglio con la reazione acida che con quella alcalina.

Le colture autolizzate, che furono adsorbite con l'idrossido di alluminio, immunizzano i topi bianchi meglio di quelle non autolizzate.

Summary

The hemagglutination test is used for the selection of erysipelas strains for the preparation of adsorbât vaccines. Out of 108 strains, which were tested, 9 hemagglutinated very strongly 4 variably and the remainder not at all. All vaccins prepared with the hemagglutinating strains immunised white mice uniformly.

An occasional observation: 8 of 10 hens had erythrocytes with medium agglutinability, useful for the wanted purpose. One hen had inagglutinable erythrocytes, and the red cells of another hen were inclined to spontaneous agglutination.

The hemagglutinating power of the erysipelas microbe is reduced with increasing autolysis. It does not depend on the acidity of the medium. All the hemagglutinating strains autolyse spontaneously, but not the others. A strain, which is not autolysed spontaneously is dissolved by the lysine of an other strain. The lysine is thermolabile. It is weakened by keeping in the dark at 10° C for 2 months, and also by 0,2 formaldehyd. Lysis takes place easier in an acid than in an alkaline medium. Autolysed cultures adsorbed to hydroxyd of aluminum have a better immunising potency in white mice, than those which were not subject to autolysis.

Literatur

Birö, E.: Zit. nach Traub, E.: Mh. Vet. Med. 1947, 165. — Dedié, K.: Mh. Vet. Med. 1949, 7. — Dubos, R. J.: J. Exp. Med. 65, 873 (1937). — Dinter, Z.: Zbl. Bakt. Org. 153, 281 (1949). — Dinter, Z. und Bakos, K.: Zschr. für Hygiene, 129, 263 (1949). — Dinter, Z.: Berl. und Münch. Tierärztl. Wschr. 1949, 177. — Hallauer, C.: Schweiz. Zschr. für Path. und Bakt. 9, 553 (1946). — Löffler, H.: Schweiz. Zschr. für Path. und Bakt. 13, 605 (1950). — Traub, E.: Mh. Vet. Med. 1947, 165.

REFERATE

Chirurgie

Zur Kastration am stehenden Hengst. Von R. Teuscher. Monatshefte für Veterinärmedizin, 1952, H. 12, S. 223.

Der Verfasser hält die Methode namentlich dort für wertvoll, wo es gilt, Laienkastrierer, die sie ebenfalls anwenden, zurückzudrängen. Er gibt einen Überblick über die bisher sehr reichhaltige Literatur. Nach 120 selbst durchgeführten Operationen kommt er zu folgendem Verfahren: für Hengste von ca. 300 kg Gewicht 0,2—0,3 g Morphium und von 350—500 kg Gewicht 0,3—0,4 g in 4%iger Lösung i/v, ebenso 10—15,0 Chloralhydrat, beides gemischt oder bei aufgeregten Tieren zuerst das Morphium. 4—5 Minuten warten, Reinigung des Operationsfeldes mit Jodtinktur, Aufstellung auf der linken Seite. Möglichst langer Schnitt bis auf den Hoden beiderseits, Samenstranganästhesie mit 10%iger Lösung von Isocain oder Tutocain (nach Westhues), Entfernung der Hoden mit einem Emaskulator, wobei darauf geachtet wird,