

# Beitrag zur Frage der Steigerung des Aggressingehaltes durch Zusatz von Formaldehyd zu keimfreien Rauschbrand-Impfstoffen

Autor(en): **Zschokke, W.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **74 (1932)**

Heft 11

PDF erstellt am: **16.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-591700>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus dem bakteriologischen Laboratorium und Seruminstitut von  
Dr. E. Gräub, Bern.

## Beitrag zur Frage der Steigerung des Aggressingehaltes durch Zusatz von Formaldehyd zu keimfreien Rauschbrand-Impfstoffen.

Von W. Zschokke, Bern.

Die Immunisierung gefährdeter Rinder gegen Rauschbrand durch Verimpfung von keimfreien Impfstoffen, hat im Laufe der letzten Jahre auf der ganzen Welt Eingang gefunden. Als Impfstoff werden zumeist keimfreie Filtrate von künstlich gezüchteten Rauschbrandkulturen verwendet, weniger häufig kommen die sog. natürlichen Aggressine, von amerikanischer Seite kurz „aggressin“ genannt, in Anwendung. Letztere sind keimfreie Filtrate von Oedemflüssigkeit oder von Pressmuskelsaft von an Rauschbrand eingegangenen Rindern. Endlich werden auch Impfstoffe gebraucht, die noch die durch Formol abgetöteten, vegetativen Keime und Sporen von Rauschbrandbazillen enthalten. Es sind dies die sog. „bacterins“ der Amerikaner, die hergestellt werden durch Sterilisation von Rauschbrand-Reinkulturen vermittelt Formalin.

Durch die subkutane Verimpfung dieser Impfstoffe in Dosen von 2–10 ccm, wird den Impftieren ein beträchtlicher Impfschutz gegen eine spätere Infektion mit Rauschbrandbazillen verliehen. Diese aktiv erworbene Immunität schützt die Tiere durchschnittlich auf die Dauer von 6–8 Monaten gegen eine nachträgliche natürliche Infektion. Die Verluste von schutzgeimpften und trotzdem an Rauschbrand umgestandenen Tieren werden mit 0,5–1<sup>0</sup>/<sub>00</sub> angegeben.

Im Gegensatz zu andern aktiven Immunisierungen, wo antibakterielle oder antitoxische Immunisationen usw. erzielt werden, tritt bei diesen Rauschbrand-Immunisierungsverfahren eine antiaggressive Immunität auf. Als zur Immunkörperbildung anregendes Antigen kommen in keimfreien Rauschbrandimpfstoffen Aggressine in Betracht. Je höher demnach der Aggressingehalt der Impfstoffe ist, desto wirksamer sollte der Impfstoff sein.

Es fehlte denn auch nicht an zahlreichen Versuchen, den Aggressingehalt in den verwendeten Impfstoffen auf künstlichem Wege zu forcieren. So hat J. P. Scott gezeigt, dass der Zu-

satz von mineralischen Salzen zum Nährmedium von Rauschbrandkulturen die Produktion von Aggressinen erhöht. Der Zusatz von Ammoniumphosphat ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) und Kaliumbikarbonat fördert das Wachstum der Rauschbrandbazillen und erhöht so den Gehalt an aggressiven Substanzen. Er bezeichnet diese Salze als Nährsalze. „Katalytisch wirkende Salze“ bezeichnet er Eisenzitrat und Magnesiumchlorid, die ebenfalls das Wachstum fördern und zugleich die fermentativen Eigenschaften der Rauschbrandbazillen erhöhen. Als „aggressives Salz“ benennt er Kaliumzitrat, das nur die Produktion von aggressiven Substanzen spezifisch begünstigt, sei es durch Zusatz zum Nährmedium, oder erst durch Beigabe zu den fertigen, aggressinhaltigen Filtraten. Durch Kombination dieser Salze aus den 3 Gruppen, soll eine ganz wesentliche Erhöhung der Aggressinmengen erzielt werden können. In neuern Arbeiten versucht derselbe Autor zu beweisen, dass der Zusatz von Formaldehyd zu Rauschbrandfiltraten deren Aggressingehalt erhöhe.

Zum besseren Verständnis der getroffenen Versuchsanordnungen seien hier kurz die wesentlichsten Punkte über Art und Wesen der Aggressine angeführt, soweit diese bis jetzt erforscht sind.

Aggressine sind Bakterienprodukte, die beim Wachstum der verschiedensten Krankheitserreger, sei es in künstlichen Kulturen, sei es im erkrankten Tierkörper entstehen. Die Frage, ob es sich um Produkte ektogener oder endogener Natur handelt, ob die Aggressine von lebenden Keimen gebildet und ausgeschieden, oder erst beim Zerfall und der Lysis der toten Keime frei werden, ist noch umstritten. Sicher ist hingegen, dass sich Aggressine nur in gut und rasch wachsenden Kulturen und unter besonders günstigen Wachstumsbedingungen im Tierkörper nachweisbar bilden.

Die Aggressinbildung geht unabhängig von der Virulenz und Toxidität der betreffenden Krankheitskeime vor sich. Es sind Fälle bekannt, wo atoxische und avirulente Bakterienstämme sehr starke Aggressinbildung aufwiesen und umgekehrt, wo stark toxische und hochvirulente Stämme nur spärlich Aggressine bildeten. Auch bei Rauschbrand steht nach Scott die Virulenz nicht allein mit den Aggressinen in Verbindung, sondern soll von dem Vorhandensein einer andern Substanz, der „Todessubstanz“ (lethal substance) abhängig sein.

Über die chemisch-physikalische Natur der Aggressine sind auch nur wenige Punkte aufgeklärt. Sie sind wasserlöslich. Koli-

Aggressine bestehen nach Blasi aus 2 Komponenten, nämlich aus einem nicht toxischen, thermostabilen, albuminösen und einem toxischen, thermolabilen, globulinösen Teil. Die wesentlichen aggressiven Eigenschaften fallen indessen nur den Albuminen zu. Rauschbrandaggressine sind nach eigenen Versuchen sicher thermolabil. Aggressine sind nicht unbegrenzt haltbar, zumal in Rauschbrandfiltraten verschwinden sie nach zirka 8 Monaten Aufbewahrung.

Einzelne Aggressine sollen auch von der Impedinwirkung abhängig sein, d. h. erhitzte aggressinhaltige Filtrate sollen aggressiver wirken als unerhitzte. Für Rauschbrand kommt der Nachweis dieser Impedinabhängigkeit nicht in Frage, da die Rauschbrandaggressine selbst thermolabil sind und somit die Wirkung des Impedins nicht verfolgt werden könnte.

Die hervorstechendste und kritische Eigenschaft der Aggressine ist ihre infektionsbefördernde oder aggressive Wirkung. Werden nicht krankmachende, oder untertödliche Dosen von Krankheitserregern mit ihren spezifischen Aggressinen zusammen auf Tiere verimpft, so werden sie zu krankmachenden, respektive tödlichen Dosen erhoben, d. h. die Tiere erkranken oder gehen sogar an der Infektion zugrunde. Die infektionsbefördernde Wirkung tritt nur ein, wenn die Aggressine mit den homologen Keimen, unmittelbar zusammen gemischt, verimpft werden. Bei örtlich getrennter Impfung der beiden Komponenten tritt die aggressive Wirkung nicht auf.

Über die Art und Weise der aggressiven Wirkung sind die Akten nicht vollständig geschlossen. Sehr wahrscheinlich wird durch die Wirkung der Aggressine im Tierkörper die Phagozytose verhindert. Ausserdem soll die infektionsbefördernde Eigenschaft durch Lahmlegung der Wirkung des reticuloendothelialen Systems erfolgen. Vermutlich bewirken die beiden Faktoren zusammen die Haupteigenschaft der Aggressine.

Aggressine wirken als Antigen, d. h. sie bewirken, parenteral in den Tierkörper verbracht, die Bildung von spezifischen, gegen dieselben Aggressine wirkende Antikörper, die Antiaggressine. Durch die Bildung von spezifischen Antiaggressinen tritt beim Impftier eine mehr oder weniger lang andauernde antiaggressive, aktive Immunität ein. Die antiaggressiven Immunkörper können im Blute der immunisierten Tiere nachgewiesen werden und verleihen, auf andere Tiere verimpft, diesen eine kürzer dauernde, passive, antiaggressive Immunität.

Aggressine sind spezifisch, d. h. sie wirken nur in Verbindung

mit den sie erzeugenden Keimen. Ebenso sind die Antiaggressine spezifisch. Diese wirken nur gegen die Aggressine, durch die sie erzeugt worden sind.

Aggressine sind ungiftig und vermögen für sich allein keine Krankheitserscheinungen oder gar den Tod hervorzurufen.

Aggressine sollen von allen pathogenen Bakterien gebildet werden, mit Ausnahme der Diphtheriebazillen, wo sie nicht bestätigt werden konnten. Bail geht so weit, dass er alle Bakterien nach der Aggressinbildung in 3 Gruppen trennt, nämlich in stark aggressinbildende echte Parasiten, schwach aggressinbildende Halbparasiten und nur spärlich oder gar nicht Aggressine produzierende Saprophyten.

Der Nachweis der Aggressine kann auf verschiedene Weise geschehen. Scott bestimmt die Aggressine nach Aggressineinheiten, die er nach 2 Arten feststellt, sei es durch Titration mit gewaschenen Rauschbrandsporen, oder mit Anti-Rauschbrandserum.

Bei der Prüfung mit gewaschenen Rauschbrandkeimen ist eine Aggressineinheit diejenige Menge von aggressiver Substanz, welche eine minimale Menge von gewaschenen Rauschbrandbazillen resp. Sporen zur Produktion von typischen Läsionen bei Meerschweinchen aktiviert, oder gar deren Tod herbeiführt.

Bei der Neutralisationsprüfung mit Anti-Rauschbrandserum ist eine Aggressineinheit diejenige Menge von Aggressinen, welche 1 Dosis letalis minima Rauschbrandkultur zur tödlichen Dosis stimuliert bei Meerschweinchen, die 15 Stunden vorher mit 2 Einheiten Anti-Rauschbrandserum immunisiert worden sind, wobei die Serumdosis gegen eine doppelt tödliche Dosis Rauschbrandkultur schützt. Eine Aggressineinheit neutralisiert also eine Anti-Aggressineinheit von Anti-Rauschbrandserum, wovon eine Einheit ein Meerschweinchen gegen die einfache minimale Todesdosis Rauschbrandkeime schützt.

Der Vergleich dieser beiden Methoden zeigt, dass die Menge von Aggressinen, die zur Stimulation von minimalen Dosen gewaschenen Rauschbrandkeimen zur krankmachenden oder tödlichen Infektion erforderlich ist, dieselbe ist, wie die, welche zur Neutralisation von einer Einheit Anti-Rauschbrandserum benötigt wird.

Es hat sich gezeigt, dass keimfreie Rauschbrand-Impfstoffe, die 6,5—13 Aggressineinheiten pro Impfdosis enthalten, Rin-

der immunisieren und dass 16 Einheiten für die praktischen Impfungen genügen.

Bei der Auswertung von Rauschbrandimpfstoffen gingen wir bis jetzt neben andern immunbiologischen und bakteriologischen Prüfungen auch auf den Nachweis von Aggressinen aus. Der Nachweis stützt sich ebenfalls auf die Eigenschaft der infektionsfördernden Wirkung der Aggressine. Während die Amerikaner mit konstanten Dosen von Infektionsmaterial arbeiten, verwenden wir konstante Aggressinmengen und variable Infektionsdosen. Wir prüfen, welchen Bruchteil einer minimal tödlichen Dosis Rauschbrandbazillen eine konstante Menge von 1 ccm aggressinhaltigem Rauschbrandimpfstoff zur tödlichen Dosis erhebt. Nach eigenen Untersuchungen vermögen die Aggressine von 1 ccm Rauschbrandkulturfiltrat Impfdosen von noch  $\frac{1}{75}$  bis  $\frac{1}{100}$  der minimal tödlichen Dosis Rauschbrandsporen zur tödlichen Infektion zu steigern. Für die Praxis haben sich Impfstoffe, bei der Dosierung von 2 ccm pro Rind und Dosis, bewährt, die einen solchen Aggressingehalt aufweisen, dass 1 ccm davon, noch den 15. Teil der Dosis letalis minima Rauschbrandsporen innert 24—36 Stunden zur tödlichen Infektion aktiviert.

Nach den obigen Ausführungen ergibt sich, dass die Aggressine Substanzen recht komplizierter Natur sind. Es war daher nicht ohne weiteres einleuchtend, dass der Zusatz von Formalin zu fertig hergestellten keimfreien Rauschbrandimpfstoffen deren Aggressingehalt erhöhen sollte. Bei den Eigenschaften des Formalins, das als typisches Eiweißgift Gewebe gerbt, Eiweiß koaguliert, Bakterien abtötet, eiweißhaltige Toxine zerstört, oder doch durch Vernichtung der toxophoren Gruppe ihres Moleküls in atoxische Anatoxine überführt, war eher anzunehmen, dass auch die recht sensiblen, sich von Albuminen herleitenden Aggressine eher geschädigt, als sensibilisiert oder vermehrt würden. Eine Nachprüfung der Angaben Scott's über die Aggressinsteigerung durch Zusatz von Formalin zu keimfreien Rauschbrandfiltraten erwies sich schon aus praktischen Gründen angezeigt.

In Nachfolgendem seien kurz die wesentlichsten Punkte von Scott's Beobachtungen an formalinisierten Rauschbrandkulturfiltraten und Oedemfiltraten angegeben. Nach seinen Angaben steigert der Formaldehydzusatz die aggressive Kraft von Rauschbrandfiltraten. Die Steigerung ist abhängig von dem Aggressingehalt, der vordem den nicht formalinisierten Filtraten zukam. Die optimale Konzentration von Formaldehyd in Rausch-

brandfiltraten zur Steigerung des aggressiven Vermögens beträgt 0,5% Formaldehyd (1,25 ccm käufliches, 40% Formalin auf 100 ccm Filtrat). Höhere Konzentrationen des Formaldehyds auf 1—2% bewirken keine Steigerung des Aggressingehalts. — Formalin bewirkt eine rasche Koagulation des Gewebsproteins. Das Formaldehyd bewirkt eine Erhöhung der Aggressivität in Rauschbrandfiltraten in gleicher Masse, wie bei den durch Formalin abgetöteten Rauschbrandkulturen (bacterins). Demnach haben die Rauschbrandbazillenkörper keinen Einfluss auf die Immunisierung als solche.

Nach einer Tabelle weisen formalinisierte Kultur- wie Oedemfiltrate von Rauschbrand durchschnittlich höhere Werte an Aggressineinheiten (A. E.) auf, als dieselben, aber phenolisierten Filtrate. Bei einem Kulturfiltrat, das phenolisiert 17 A.E. aufwies, erhöhte sich der Aggressingehalt nach dem Formaldehydzusatz auf 43 A. E., bei einem andern von 19 auf 32 A.E. und bei einem Oedemfiltrat von 20 auf 44 A.E.

Rauschbrandkulturfiltrate und durch Formol abgetötete Rauschbrandkulturen werden durch Zusatz von Formalin physikalisch nicht verändert. Demgegenüber wird unerhitztes Oedemfiltrat durch das Formalin zu einer festen Masse koaguliert und zwar nach 7 Tagen im Brutschrank aufbewahrt, nach 3 Wochen bei Zimmertemperatur und nach 15 Wochen im Eisschrank gehalten. Erhitztes „aggressin“ blieb formalinisiert während 40 Wochen flüssig. Bei einem formalinisierten Kulturfiltrat hatte die aggressive Wirkung nach 16 und 40 Wochen sogar noch zugenommen.

#### Eigene Versuche.

Im ersten Versuch sollte vor allem nachgeprüft werden, ob der Zusatz von optimalen Dosen von Formaldehyd zu Rauschbrandkulturfiltraten tatsächlich eine Steigerung ihrer aggressiven Wirkung zur Folge habe. Diese Frage sollte durch den schon seit Jahren praktizierten „Aggressinversuch“ gelöst werden. Der Aggressinversuch besteht darin, dass der Nachweis der infektionsbefördernden Wirkung an vielfach untertödlichen, auch nicht mehr krankmachenden Dosen von Rauschbrandbazillen mit je 1 ccm des zu prüfenden Filtrates geleistet wird. Der Versuch wird so durchgeführt, dass je 1 ccm Rauschbrandfiltrat, dem ein Bruchteil der minimal tödlichen Dosis (1/dlm) von lebenden Rauschbrandkeimen zugefügt ist, gemischt einem Meer-schweinchen intramuskulär oder subkutan injiziert wird. Sind in dem Filtrate Aggressine vorhanden, so wird die sicher mehrfach

untertödliche Rauschbrandsporendosis durch die infektionsbefördernde Wirkung der Aggressine, bei einem bestimmten Bruchteil der Dosis letalis minima, zur tödlichen Infektion erhoben und das Impftier geht an Rauschbrand ein oder erkrankt mehr oder weniger heftig an lokalem Rauschbrand. Je kleiner die Infektionsdosis an Rauschbrandkeimen ist, die durch 1 ccm aggressinhaltiges Filtrat zur tödlichen Infektion aktiviert wird, desto mehr Aggressine sind in dem Filtrat enthalten, desto wirksamer ist daher der Impfstoff.

Zur Herstellung der Kulturfiltrate wurden einige Liter Muskel-Muskelbouillon mit einem ganz frisch isolierten Rauschbrandbazillenstamm Nr. 732 beimpft. Nach 8tägigem Aufenthalt im Brutschrank, wobei gutes Wachstum der Rauschbrandbazillen unter kräftiger Gasentwicklung beobachtet wurde, wurde die Bouillon keimfrei filtriert. Nachdem die Keimfreiheit der Filtrate durch Verimpfen von 10 ccm Filtrat auf 100 ccm Muskel-Muskelbouillon erwiesen war, wurde die eine Hälfte des Filtrates mit 0,5% Phenol (30 ccm 15% Phenol auf 1 Liter Filtrat) und die andere Hälfte mit 0,5% Formaldehyd (12,5 ccm 40% Formalin auf ein Liter Filtrat) versetzt und in getrennten Flaschen bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

Als infektiöses, lebende Rauschbrandkeime enthaltendes Material, kam eine Trockenvakzine (Trovac.) in Anwendung. Diese wurde so hergestellt, dass der in seinen Eigenschaften bekannte virulente Rauschbrandstamm 914 auf ein Kölbchen Gehirnbrei nach Hibler verimpft und 10 Tage gewachsen und versport gelassen wurde. Die kompakte Masse des Gehirnbreies wurde sodann im Brutschrank rasch getrocknet, im Mörser zerkleinert und mit Äther entfettet. Die so entfettete, ziemlich spröde Gehirnbreimasse konnte im Achatmörser leicht zu feinstem, staubförmigem Pulver verrieben werden. Solche Trockenvakzine behält ihre Virulenz nach mehrjährigen Erfahrungen monatelang konstant.

Nach Vorversuchen tötete diese Trockenvakzine (Trovac. 914) in der Menge von 0,03 g in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und subkutan oder intramuskulär verimpft, Meerschweinchen innert 24 Stunden und in der Menge von 0,015 g gerade noch in 4 Tagen. Kleinere Impfdosen liessen die Impftiere noch lokal an Rauschbrand erkranken, vermochten aber nicht mehr zu töten. Als minimale tödliche Dosis (1 dlm) wurde in diesem Falle 0,015 g Trovac. 914 bestimmt. Als untertödliche Dosen wurden Bruchteile dieser Trovac. Menge verwendet und



zwar wird z. B. der 15. Teil der dlm als  $\frac{1}{15}$  dlm, der 30. Teil als  $\frac{1}{30}$  dlm bezeichnet. Eine  $\frac{1}{15}$  dlm wurde jeweilen so hergestellt, dass 0,015 g Trockenvakzine, vermitteltst eines kleinen Löffels, in 15 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit aufgeschwemmt und davon 1 ccm genommen wurde.

## Tierversuch No. 1.

Meerschweinchen Nr.	Intramuskuläre Impfung mit einem Gemisch von				Reaktion			
	Filtrat 732		+	Trovac. 914	1.	2.	3.	4.
					Tag			
72 A	1 cc Filtr.	0,5% Phenol	+	Trovac. 914 $\frac{1}{15}$ dlm	∅	±	36 St.	
73 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{30}$ „	∅	±	„	
74 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{60}$ „	÷	±	„	
75 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{100}$ „	×	±	„	
96 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{150}$ „	÷	±	48 St.	
97 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{200}$ „	÷	÷	—	—
78 A	1 cc Filtr.	0,5% Formd.	+	Trovac. 914 $\frac{1}{15}$ dlm	∅	±	36 St.	
79 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{30}$ „	∅	±	„	
80 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{60}$ „	×	±	„	
81 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{100}$ „	÷	±	„	
98 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{150}$ „	÷	±	48 St.	
99 A	1 „ „	0,5% „	+	„ 914 $\frac{1}{200}$ „	÷	±	„	
Kontrollen:								
76 A	1 cc Bouillon		+	Trovac. 914 $\frac{1}{10}$ dlm	÷	—	—	—
84 A	1 „ „		+	„ 914 $\frac{1}{15}$ „	—	—	—	—

## Zeichenerklärung:

- bedeutet gesund; gar keine Krankheitssymptome.  
 ÷ „ ganz leichte lokale Krankheitssymptome, wie leichte Schwellung usw.  
 × „ deutlich ausgebildete Krankheitssymptome, wie starke Schwellung usw.  
 ∅ „ schwere Krankheitssymptome mit Allgemeinstörungen: schwer krank.  
 ± „ tot. Die Zahl nach dem Zeichen gibt die Zeit seit der Infektion an.

Der erste Versuch galt der Feststellung der Aggressivität des Rauschbrandfiltrates an und für sich. Zugleich sollte geprüft werden, ob das formalinisierte Filtrat aggressiver wirke als das phenolisierte. Zu diesem Zwecke wurden eine Anzahl Meerschweinchen dem Aggressinversuch mit je 1 ccm Filtrat und fallenden, untertödliche Dosen von Rauschbrand Trovac. 914 unterzogen. Die untertödlichen Dosen wurden variiert von  $\frac{1}{15}$

dlm bis zu  $\frac{1}{200}$  dlm. Die Mischungen wurden den Meerschweinchen intramuskulär am hintern rechten Schenkel injiziert. Als Kontrollen dienten 2 Meerschweinchen, die mit einer Mischung von 1 ccm gewöhnlicher Bouillon und  $\frac{1}{10}$  resp.  $\frac{1}{15}$  dlm der Trovac. intramuskulär geimpft wurden.

Vide Tierversuch Nr. 1.

Aus der Tabelle des Tierversuches Nr. 1 ergibt sich, dass das Rauschbrandfiltrat 732 einen hohen Aggressingehalt aufweist. Das formalinisierte Filtrat hat tatsächlich eine höhere infektionsbefördernde Wirkung, als das phenolisierte Filtrat, indem durch das erstere noch eine 200fach untertödliche Dosis Rauschbrandsporen zur tödlichen Infektion erhoben wurde, während die Mischung von phenolisiertem Filtrat mit der 150fach untertödlichen Dosis Trockenvakzine das Meerschweinchen mit Verzögerung tötete und die Mischung mit  $\frac{1}{200}$  dlm Trovac. 914 eine nur leicht krankmachende, lokale Reaktion bewirkte.

Von den Kontrollen mit Bouillon und Trovac. 914 zeigte das Tierchen mit  $\frac{1}{10}$  dlm in Bouillonaufschwemmung geimpft, nur eine vorübergehende, leichte Schwellung an der Impfstelle und das mit  $\frac{1}{15}$  dlm geimpfte Tier wies überhaupt keine Erkrankungserscheinungen auf.

Zu erwähnen wäre noch, dass die Versuchsmeerschweinchen, die mit formalinhaltigem Filtrat geimpft wurden, unmittelbar nach der Impfung durch Unruhigsein, Aufspringen, Abheben des geimpften Schenkels und Schreien usw., auch bei allen späteren Versuchen, eindeutige Äusserungen von Schmerz zeigten, während die nicht formalinisierten Substrate gar keine Reaktionen auslösten. Diese schmerzhaften Reaktionen sind nicht ohne Bedeutung für die praktischen Impfungen und könnten dort zu Unannehmlichkeiten führen.

Die Vermutung, dass das Formalin allein für sich schon eine infektionsbefördernde Wirkung auslöse, wie die übrigens von andern Substanzen wie Milchsäure usw. bekannt ist, lag nahe. Zur Lösung dieser Frage wurde ein neuer Tierversuch angesetzt und zwar wie folgt. Es wurde ein Teil der nicht beimpften Bouillon, die zur Herstellung des Filtrates 732 benutzt wurde, mit 0,5% Formaldehyd versetzt. Mit dieser formalinisierten Bouillon wurden dann weitere Aggressinversuche mit fallenden Dosen von Infektionsmaterial durchgeführt. Als Kontrolle diente ein Aggressinversuch mit nicht formalinisierten Bouillon.

Vide Tierversuch Nr. 2.

## Tierversuch No. 2.

Meer- schwein- chen Nr.	Intramuskuläre Impfung mit einem Gemisch von 0,5% form. Bouill. + Trovac. 914 $\frac{1}{x}$ dlm	1.   2.   3.   4.   5.				
		Tag				
77 A	1 cc 0,5% form. Bouill. + Trovac. 914 $\frac{1}{15}$ dlm	÷	± 36 Stunden			
82 A	1 „ 0,5% „ „ + „ 914 $\frac{1}{30}$ „	×	± „ „			
83 A	1 „ 0,5% „ „ + „ 914 $\frac{1}{60}$ „	÷	×	×	÷	÷
Kontrolle:						
76 A	1 cc gewöhnl. Bouillon + Trovac. 914 $\frac{1}{10}$ dlm	—	—	—	—	—

Der Versuch beweist, dass eine 5% Formaldehyd-Bouillon-Lösung in der Tat eine ganz respektable infektionsbefördernde Wirkung bei der Verimpfung mit Rauschbrandmaterial zusammen aufweist. Selbst der 30. Teil einer untötlichen Dosis wird durch dieses Gemisch zur tödlichen Infektion und  $\frac{1}{60}$  dlm Rauschbrandsporen ruft eine ziemlich intensive örtliche Erkrankung hervor. Das Gemisch von gewöhnlicher, nicht formalisierter Bouillon mit nur  $\frac{1}{10}$  dlm Rauschbrandsporen, intramuskulär verimpft, bewirkte bei der Kontrolle wiederum gar keine sichtbare Reaktion.

Da es aber immerhin möglich gewesen wäre, dass sich in der formalisierten Bouillon eine Eiweiss-Formalin-Verbindung gebildet hätte, die die infektionsbefördernde Wirkung auszulösen vermochte, oder dass die verwendete Bouillon als infektionsbefördernder, günstiger Nährboden gewirkt hätte, wurde der Versuch wiederholt, wobei aber statt der formalisierten Bouillon, formalisierte physiologische Kochsalzlösung verwendet wurde.

Vide Tierversuch Nr. 3.

## Tierversuch No. 3.

Meer- schwein- chen Nr.	Intramuskuläre Impfung von einem Gemisch von formald. Kochsalzlösung + Trovac. 914 $\frac{1}{x}$ dlm	1.   2.   3.   4.   5.				
		Tag				
90 A	1 cc 0,5% fm. NaCl-Lös. + Trovac. 914 $\frac{1}{15}$ dlm	×	±	36 St.		
91 A	1 „ 0,5% „ „ „ + „ 914 $\frac{1}{30}$ „	÷	±	„		
Kontrolle:						
89 A	1 cc gew. NaCl-Lösung + Trovac. 914 $\frac{1}{10}$ dlm	—	—	—	—	—

Nach dem Ausfall der Reaktionen dieses Tierversuches scheint es eindeutig erwiesen, dass das Formaldehyd an und für sich gegenüber Rauschbrand aggressive Eigenschaften aufweist. Auch hier wird die  $\frac{1}{30}$  dlm zur tödlichen Dosis, während die Kontrolle mit nur  $\frac{1}{10}$  dlm Rauschbrandsporen gar keine Reaktion hervorruft.

Um über die Frage Aufschluss zu erhalten, ob die Wirkung des Formalins eine allgemeine oder Örtliche sei, wurde ein 4. Tierversuch durchgeführt. Zu diesem Zwecke wurde einem Meerschweinchen 1 ccm 0,5% formalinisierte physiologische Kochsalzlösung in den rechten Hinterschenkel und  $\frac{1}{10}$  dlm Trovac. 914, in gewöhnlicher physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, örtlich getrennt, intramuskulär in den linken Hinterschenkel injiziert.

Vide Tierversuch Nr. 4.

Tierversuch No. 4.

Meerschweinchen Nr.	Örtlich getrennte Impfung von	1.   2.   3.   4.   5.				
		Tag				
92 A	$\frac{1}{10}$ dlm Trovac. 914 in NaCl-Lösung in linken Hinterschenkel intramuskulär .....	—	—	—	—	—
	1 cc 0,5% formald. NaCl-Lösung in rechten Hinterschenkel intramuskulär .....	—	—	—	—	—

Der Versuch zeigt, dass das Formalin eine rein lokale Wirkung ausübt. Vermutlich besteht sie darin, dass es im injizierten Gewebe zu einer Koagulation des Gewebseiweisses kommt, dass dadurch einerseits eine Reizwirkung eintritt und andererseits die Abwehrfunktionen des Gewebes und insbesondere die Phagozytose gehemmt wird.

Da es sich aber auch bei der echten Aggressinwirkung um eine teilweise lokale Reaktion und eine Verhinderung der Phagozytose handelt, musste durch weitere Tierversuche geprüft werden, ob sich die aggressive Wirkung des Formalins an Hand der Bestimmung von Spezifität, Antigencharakter usw., von der Wirkung der echten Rauschbrandaggressine unterscheiden lasse.

Zur Prüfung der Spezifität der aggressiven Wirkung des Formalins wurde nachfolgender Tierversuch durchgeführt. Es wurden Meerschweinchen dem Aggressinversuch unterzogen und zwar mit je 1 ccm formaldehyd. NaCl-Lösung und untertödlichen Dosen eines Stammes von malignem Oedem, wovon 0,1 ccm einer 24stündigen Gehirnbreikultur gerade noch in 3 Tagen tötete. Als Dosis letalis minima (1 dlm) wurde 0,1 ccm der Kultur von malignem Oedem festgestellt. Als Kontrollen wurden 2 Meerschweinchen verwendet. Ein Meerschweinchen wurde mit einer Mischung von gewöhnlicher physiologischer Kochsalzlösung und  $\frac{1}{10}$  dlm malignes Oedem geimpft, das andere Versuchstier

mit dem Gemisch von 1 ccm phenolisiertem Rauschbrandfiltrat 732 und  $\frac{1}{15}$  dlm malignem Oedem gespritzt.

Vide Tierversuch Nr. 5.

Tierversuch No. 5.

Meer- schwein- chen Nr.	Intramuskuläre Impfung mit einem Gemisch von 0,5% formald. NaCl-Lösung + $\frac{1}{x}$ dlm malignes Oedem	1.   2.   3.   4.   5. Tag				
		76 A.	1 cc 0,5% formald. NaCl.-Lös. + $\frac{1}{15}$ dlm malignes Oedem .....	±	26 Stunden	
84 A	1 „ 0,5% formald. NaCl.-Lös. + $\frac{1}{30}$ dlm malignes Oedem .....	×	±	36 Stund.		
Kontrollen:						
89 A	1 cc Filtrat 732 0,5% Phenol + $\frac{1}{15}$ dlm malignes Oedem .....	—	—	—	—	—
92 A	1 cc physiol. NaCl-Lösung + $\frac{1}{10}$ dlm malignes Oedem .....	—	—	—	—	—

Der Ausfall des Versuches zeigt vor allem, dass die aggressive Wirkung des Formalins unspezifisch ist und sich auch auf Bazillen des malignen Oedems erstreckt, indem beide Tiere mit  $\frac{1}{15}$  und  $\frac{1}{30}$  dlm Bazillen des malignen Oedems prompt an der Infektion zugrunde gingen. Im Gegensatz dazu zeigt die 2. Kontrolle, dass die Aggressine des Rauschbrandfiltrates 732 spezifisch sind und bei malignem Oedem keine aggressive Wirkung auszulösen vermögen. Die erste Kontrolle beweist die Unschädlichkeit der verwendeten Bazillenmenge von malignem Oedem.

Die letzten Versuche galten der Prüfung der antigenen Eigenschaften von phenolisiertem und formalinisiertem Filtrat, sowie von formalinierter Kochsalzlösung. Zu diesem Zwecke wurden eine Anzahl Meerschweinchen mit je 3 ccm der verschiedenen Substrate, zwecks Immunisierung, subkutan geimpft.

Während die mit phenolisiertem Filtrat geimpften Versuchstiere gar keine lokale oder allgemeine Impfreaktionen zeigten, bewirkten die mit Formalin versetzten Impfstoffe alle mehr oder weniger heftige Reaktionen. Die Versuchstiere zeigten unmittelbar nach der Impfung die schon beschriebenen Schmerzsymptome. Am 1. Tag nach der Impfung waren die Impfstellen angeschwollen, die Tiere aber sonst munter. Im Laufe der nächsten Tage gingen die Schwellungen zwar zurück, die Haut wurde aber immer breittiger und nach 8—10 Tagen wurde die unterdessen nekrotisch gewordene Hautpartie, in der Grösse eines 20 Cts. Stückes, abgestossen. Dabei magerten die Tiere zusehends ab und zwei davon gingen an Autointoxikation am 6. resp. 7. Tag zu-

grunde. Auch das Meerschweinchen Nr. 92, das mit nur 1 ccm formalisierter Kochsalzlösung intramuskulär geimpft worden war, ging am 11. Tag unter starker Abmagerung an Autointoxikation ein. Die Sektion ergab eine ausgedehnte Nekrose der geimpften Muskulatur. Die Impfung mit so hoch konzentrierten Formalinimpfstoffen scheint also auch für die Praxis nicht unbedenklich zu sein und könnte recht unangenehme Impffolgen nach sich ziehen.

Die so vorbehandelten Versuchstiere wurden dann 14 Tage nach der Impfung verschiedenen Immunitätsprüfungen unterzogen. Vorerst wurde je ein Immuntier durch die Infektion mit der einfachen minimal tödlichen Dosis Rauschbrand-Trockenvakzine 914 auf Immunität hin geprüft. Da nach unsern Erfahrungen Meerschweinchen, die mit 3 cc keimfreiem Rauschbrandimpfstoff vorimmunisiert waren, nach 10 Tagen wohl gegen eine einfache, nicht aber gegen eine Infektion mit der doppelt tödlichen Dosis Rauschbrandkeime immun sind, so wurde auch noch je ein mit phenolisiertem und formalisiertem Filtrat immunisiertes Meerschweinchen mit der doppelten tödlichen Dosis Rauschbrandsporen auf Immunität geprüft. Diese Prüfung sollte vor allem zeigen, ob das formalisierte Filtrat bessere immunisierende Eigenschaften aufweise, als phenolisierte Filtrate. Mit der Kontrolle sollte die tödliche Wirkung einer einfachen dlm Trovac. 914 dokumentiert werden.

Vide Tierversuch Nr. 6.

Tierversuch No. 6.

Meerschweinchen Nr.	Immunist mit	Immunitätsprüfung mit	Reaktion							
			1.   2.   3.   4.   5.   6.   7.	Tag						
85 A	3 cc Filtrat 732 0,5% Phenol	1 dlm Trovac.914	—	—	—	—	—	—	—	—
86 A	3 cc „	2 dlm Trovac.914	—	×	×	÷	÷	—	—	—
87 A	3 cc Filtrat 732 0,5% Formald.	1 dlm Trovac.914	÷	÷	—	—	—	—	—	—
88 A	3 cc „	2 dlm Trovac.914	÷	×	± 3 Tage					
93 A	3 cc NaCl-Lös. 0,5% Formald.	1 dlm Trovac.914	×	∅	± 3 Tage					
100 A	—	Kontrolle: 1 dlm Trovac.914	×	∅	± 3 Tage					

Der Versuch beweist die immunisierenden Eigenschaften der Rauschbrandkulturfiltrate. Gegen die einfach tödliche Dosis Rauschbrandkeime sind die mit 3. ccm Filtrat schutzgeimpften

Versuchs-Meerschweinchen sicher immun, während die doppelt tödliche Dosis noch mehr oder weniger heftige Krankheitserscheinungen oder gar den Tod bewirkt. Dass das Versuchstier, das mit 3 ccm des formalinisierten Filtrates immunisiert war, nach 3 Tagen an der Infektion mit 2 Dlm Rauschbrandkeimen einging, ist jedenfalls darauf zurückzuführen, dass das Tierchen durch die recht erhebliche Hautnekrose geschwächt war und spricht nicht absolut für eine Abnahme der Aggressine im Kulturfiltrat.

Die formalinisierte Kochsalzlösung weist erwartungsgemäss gar keine immunisierende Wirkung auf und das Versuchstier geht am 3. Tag post infectionem mit der Kontrolle ein.

Die allgemein geringere Immunität, der mit formalinisiertem Filtrat geimpften Tiere, spricht für die Schwäche derselben, infolge der krankmachenden Wirkung des Formalins an und für sich.

Tierversuch No. 7.

Meerschweinchen Nr.	Immunisiert mit	Immunitätsprüfung mit Aggressinversuch	Reaktion						
			1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
101 A	3 cc Filtrat 732 0,5% Phenol	1 cc Filtrat 732 0,5% Phenol + $\frac{1}{15}$ dlm Trovac. 914	—	—	—	—	—	—	—
102 A	3 cc Filtrat 732 0,5% Formald.	1 cc Filtrat 732 0,5 % Phenol + $\frac{1}{15}$ dlm Trovac. 914	—	—	—	—	—	—	—
103 A	3 cc NaCl-Lös. 0,5% Formald.	1 cc Filtrat 732 0,5 % Phenol + $\frac{1}{15}$ dlm Trovac. 914	×	±	36 Stunden				
104 A	—	Kontrollen: 1 cc Filtrat 732 0,5% Phenol + $\frac{1}{15}$ dlm Trovac. 914	÷	±	36 Stunden				
105 A	—	$\frac{1}{10}$ dlm Trovac. 914	—	—	—	—	—	—	—

Der letzte Tierversuch galt dem Nachweis der spezifischen, antiaggressiven Immunität von mit Rauschbrandfiltraten vorbehandelten Versuchstieren. Zu diesem Zwecke wurden Meerschweinchen, die 14 Tage vorher mit je 3 ccm der verschiedenen

Substrate subkutan geimpft worden waren, dem Aggressinversuch mit 1 ccm phenolisiertem Rauschbrandfiltrat 732 und  $\frac{1}{15}$  dlm Trovac. 914 unterzogen. Bei Vorhandensein einer antiaggressiven Immunität sollte die infektiionsbefördernde Wirkung der Filtrat-Trovac.-Mischung nicht zur Geltung kommen, d. h. die Tiere bleiben am Leben.

Als Kontrolle wird bei einem Meerschweinchen die aggressive Wirkung des Filtrates mit  $\frac{1}{15}$  dlm Rauschbrandkeimen einerseits und die Unschädlichkeit von  $\frac{1}{10}$  dlm Trovac. 914 andererseits bewiesen.

Vide Tierversuch Nr. 7.

Dass der formalinisierten Kochsalzlösung gar keine aggressiven, antigenen Eigenschaften zukommen, beweist der letzte Tierversuch, indem auch hier das mit 3 ccm formalinisierte physiologischer Kochsalzlösung vorgeimpfte Meerschweinchen, mit der Kontrolle dem Aggressinversuch erlag. Es bestund also keine antiaggressive Immunität. Demgegenüber stehen die beiden mit Kulturfiltrat geimpften Tiere, die eine feste antiaggressive Immunität dokumentieren und die Aggressin-Rauschbrandsporengemische reaktionslos vertrugen. Die aggressive Wirkung von 1 ccm Filtrat gegenüber  $\frac{1}{15}$  dlm Rauschbrandsporen, die immerhin einer mehrfach tödlichen Dosis entspricht, wird also durch das spezifische Antiaggressin neutralisiert.

### Schlussfolgerungen.

Keimfreie Rauschbrand Kulturfiltrate erweisen sich nach Zusatz von 0,5% Formaldehyd von höherer infektiionsbefördernder Wirkung als 0,5% phenolisierte Filtrate. Die Steigerung der Aggressivität beruht aber nicht auf einer Vermehrung der Rauschbrandaggressine, sondern auf einer Summierung der Wirkung der Rauschbrandaggressine mit der infektiionsbefördernden Wirkung des Formaldehyds an und für sich.

Formaldehyd wirkt in der Konzentration von 0,5% für sich allein schon infektiionsbefördernd bei Rauschbrandinfektionen, wie bei Infektionen mit Bazillen des malignen Oedems.

Die aggressive Wirkung des Formalins ist nicht spezifisch, indem sie bei Infektionen mit verschiedenartigen Bakterien auftritt (Rauschbrand, malignes Oedem).

Die infektiionsbefördernde Wirkung der Formalinimpfstoffe beruht nicht auf der Wirkung einer antigenen Substanz. Durch Formalinimpfungen kann keine Immunität, insbesondere keine antiaggressive Immunität erzielt werden gegen die Aggressine



derjenigen Bazillenarten, bei denen Formalin aggressive Wirkungen auslöst.

Die aggressive Wirkung des Formalins beruht auf einer lokalen Schädigung des injizierten Gewebes. Es handelt sich dabei nicht um eine echte Aggressinwirkung, wobei antigene und spezifische Reaktionen auftreten.

Eine Vermehrung der spezifischen, antigenen Aggressine in Rauschbrandkulturfiltraten durch Zusatz von 0,5% Formaldehyd konnte nicht nachgewiesen werden.

Formaldehydlösungen von 0,5% Konzentration, seien es Rauschbrand Kulturfiltrate oder physiologische Kochsalzlösung bewirken bei der subkutanen oder intramuskulären Verimpfung bei Meerschweinchen heftige Schmerzen. Das unmittelbar im Bereich der Impfstelle gelegene Gewebe wird nach solchen Impfungen innert wenigen Tagen nekrotisch abgestossen und resorbiert. Durch Resorption des nekrotischen Gewebes kann es bei Meerschweinchen zu Todesfällen kommen.

#### Literaturverzeichnis.

Bail, O. Zentr. Bl. f. Bakt., Bd. 36, 1904, Bd. 37, 1904. — Bail und Weil, Zentr. Bl. f. Bakt., Bd. 41, 1906. — Gräub, E., Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde, 1921, Bd. 63, pag. 106; 1924, Bd. 66, pag. 33; 1926, Bd. 68, pag. 388. — Gräub u. Zschokke, Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde, 1920, Bd. 62, H. 2 und 3. — Nishiura, Zentr. Bl. f. Bakt., Abt. I, 1924, pag. 401. — Nitta, Bul. of the Veterinary Association Tokyo, 1918. — Scott, J. P., Journ. of Bacteriol., Vol. XXII, Nr. 5, 1931. Journ. of Infec. Diseases, Vol. 43, 128, pag. 90. Vol. 46 1930. pag. 460, Vol. 80. 1932, pag. 848. — Veterinärämt eidg. Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde, Bd. 64, 1922, pag. 576, Bd. 65, 1923, pag. 609. — Weissenrieder, X., Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde, Bd. 63, 1921, pag. 524. — Zschokke, W., Schweiz. Arch. f. Tierheilkunde, Bd. 64, 1922, pag. 97, Bd. 69, 1927, pag. 357.

#### Referate.

**Vitamine und innere Sekretion.** Von Prof. F. Verzàr, Basel. Schweiz. med. Wschr. 62, 57, 1932.

Als Vitamine bezeichnet man verschiedene Substanzen, die in sehr kleinen Dosen stark wirksame Faktoren unserer Nahrung sind. Nicht bekannt ist bisher, ob sie Bausteine gewisser Substanzen im Körper sind oder ob ihnen Reiz- oder Milieuwirkung zukommt. Untersuchungen an Teilprozessen des Stoffwechsels bezweckten, diese Frage einer Lösung näher zu bringen.

Der O<sub>2</sub>-Stoffwechsel wird durch die Thyreoidea wesentlich beeinflusst und zwar senkt Thyreoidektomie den Sauerstoffverbrauch. Zufuhr von Thyreoideainkret erhöht denselben. Analog wirkt die Nebennierenrinde. Auch bei Mangel an B-Vitamin sinkt der Sauer-