

Experimentelle Untersuchungen mit gereinigten und ungereinigten Rotlauf-Adsorbatimpfstoffe

Autor(en): **Bergmann, J. / Schenker, E.**

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): **96 (1954)**

Heft 3

PDF erstellt am: **11.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-590486>

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 Literaturverzeichnis

Augustinsson, K.-B. (1948), *Acta physiol. Scand.*, 15, Suppl. 52. – Fühner, H. (1918), *Arch. exp. Path.*, 82, 44. – Koelle, G. B. und Friedenwald, J. S. (1949), *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 70, 617. – Lienert, E. (1950), *W. T. M.*, 37, 634. – Meyer, A. (1952), unveröffentlicht. – Minz, O. (1932), *Arch. exp. Path.*, 167, 85. – Whittaker, V. P. (1951), *Physiol. Rev.*, 31, 312.

Aus der Veterinaria AG, Zürich

Experimentelle Untersuchungen mit gereinigten und ungereinigten Rotlauf-Adsorbatimpfstoffen

Von J. Bergmann und E. Schenker

Bei der Zuführung von Antigen zum Zwecke der aktiven Immunisierung darf nicht nur das Bestreben vorherrschen, ein hochwertiges Antigen anzuwenden, sondern ebenso wichtig ist es auch, dieses in möglichst reiner Form zu verabreichen, so daß das Reaktionsvermögen des Impflings ausschließlich für das spezifische Antigen zur Verfügung steht. Hierfür aber ist eine wesentliche Voraussetzung, daß der zur Anwendung gelangende Impfstoff möglichst wenig andere Stoffe enthält, die den Organismus anregen, auch noch weitere, jedoch zur Prophylaxe der Infektion überflüssige Antikörper zu bilden. Nahezu alle Eiweißkörper aber, soweit sie artfremd sind, besitzen antigene Eigenschaften, wie auch die meisten Antigene aus mehr oder weniger komplex zusammengesetzten Eiweißkörpern bestehen.

Ob es sich nun um die Herstellung von bakteriellen oder von Virusimpfstoffen handelt, immer wird dazu die Massenzüchtung der Erreger in Nährböden erforderlich sein, die neben den für die Vermehrung und Antigenbildung obligaten Nährsubstanzen auch noch eine Vielzahl anderer, vor allem eiweißhaltiger Stoffe enthalten, welche für den gedachten Zweck überflüssig sind, bei ihrer Injektion aber ebenfalls antigen wirken. Denkt man nur an Bouillon-Rohtoxoide, abgetötete Bouillonkulturen (sogenannte Anakulturen) oder gar an die Virus- und Rickettsienimpfstoffe, von denen die meisten aus zerkleinerten, infizierten Hühnerembryonen oder Organen bestehen; nur ein verschwindend kleiner Teil all der antigen wirkenden Substanzen in solchen Impfstoffen ist für die Ausbildung der Seuchenimmunität erforderlich. Alles andere sind Ballast-Stoffe oder im engeren Sinne Ballast-Antigene. Diese können den Impfling nicht nur in unangenehmer und störender Weise sensibilisieren, sondern, wenn sie in zu großer Menge vorhanden sind und auf einen irgendwie geschwächten Organismus stoßen, können sie auch eine sogenannte proteinogene Kachexie bewirken. Die Folge hiervon kann sein, daß die gewünschte Immunität in ungenügender Weise ausgebildet wird und mitunter auch latente andere Infektionen aufflackern.

Michalka [3] hat z. B. in eindrucksvoller Weise zeigen können, daß Schweine, die nach der Simultan-Methode gegen Rotlauf schutzgeimpft worden sind, sowohl gegen Pferdeserum (Immunsorum) als auch gegen das Eiweiß der Fleischbouillon (Impfkultur) allergische Antikörper erzeugt haben. Die Bildung aller Antikörper aber, die nicht der Seuchenabwehr dienen, beansprucht vom Organismus einen zusätzlichen Arbeitsaufwand, der zwar meistens ohne Schwierigkeiten bewältigt werden kann, von welchem man ihn aber dennoch soweit als möglich befreien sollte. – Andererseits darf nicht übersehen werden, daß dem einen oder anderen Ballast-Antigen auch ein günstiger Einfluß auf die Entwicklung der Seuchenimmunität zugeschrieben werden muß, indem es nämlich als Stimulans im Sinne Ramons wirken kann. Man wird also jedem Einzelfalle genaue Prüfungen darüber zugrunde legen müssen, ob Ballast-Stoffe im Impfstoff schädlich, indifferent oder gar nützlich sind. Dem Rotlauf-Adsorbatimpfstoff wird jedoch bei seiner Herstellung ein in seiner stimulierenden Wirkung bisher unübertroffenes Adjuvans, nämlich das Aluminiumhydroxyd, beigegeben, so daß darauf die Ballast-Stoffe dieser Vakzine bedenkenlos entfernt werden können.

Im Falle des Rotlauf-Adsorbatimpfstoffes stellten wir uns deshalb die Aufgabe, eine Vakzine zu entwickeln, die möglichst arm an Ballast-Antigenen ist, wie dies schon vor Jahren bei der Herstellung von Tetanus- und Diphtherie-Impfstoffen zur aktiven Immunisierung erreicht werden konnte. Der verhältnismäßig einfachste Teil des hierzu erforderlichen Reinigungsprozesses besteht bei Adsorbatimpfstoffen im Ersatz der Suspensionsflüssigkeit des Adsorbates durch eine antigenfreie Lösung. Daß dies beim Rotlauf-Adsorbatimpfstoff möglich und vorteilhaft ist, haben kürzlich Dräger und Fiege [1] nachgewiesen. Die Tatsache aber, daß beim Adsorptionsprozeß während der Herstellung des Impfstoffes nicht nur die spezifischen Antigene, sondern auch der größte Teil der Ballast-Antigene aus dem Nährboden vom Aluminiumhydroxyd mitadsorbiert werden und somit in der Suspensionsflüssigkeit gar nicht mehr vorhanden sind, macht es erforderlich, eine Teilreinigung schon vor der Adsorption einsetzen zu lassen.

Ein geeignetes Angriffsziel hierfür sahen wir vor allem in der Zusammensetzung des Produktionsnährbodens und in der Auswahl der Rotlaufstämme. Umfangreiche Versuche zeigten, daß es ohne Einbuße an immunisierender Wirksamkeit und auf rationelle Weise bisher nicht gelungen ist, auf den üblichen Zusatz von Normalserum oder Blutextrakt zum Nährmedium zu verzichten. Immerhin aber konnten wir ohne jeglichen Nachteil das für die Nährbodenbereitung üblicherweise verwandte Pferdefleischwasser durch eine eiweißarme Nährlösung (EA-Nährlösung) ersetzen und daraus einen vollwirksamen eiweißarmen Impfstoff (EA-Impfstoff) herstellen. Wie die weiter unten aufgeführten chemischen Untersuchungen zeigen, besitzt diese EA-Nährlösung nur etwa $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{3}$ des Stickstoffgehaltes von Fleischwasser und ist Esbach-negativ.

Bei der Suche nach geeigneten Rotlaufstämmen wurde danach getrachtet, nur solche Stämme für die Produktion zu verwenden, die keine allergisierenden Antigene während des Wachstums bilden. Zur Auswahl dieser Stämme bedienten wir uns u. a. der Untersuchungsmethodik von Richter [7] und von Mayer [2].

Als abschließende Etappe der Reinigung wurde der Ersatz der Suspensionsflüssigkeit des Adsorbates durch eine antigenfreie Lösung vorgenommen. Um das pH-Milieu des Adsorbates hierbei möglichst wenig zu stören, bedienten wir uns anfangs verschiedener Pufferlösungen, mußten im Tierexperiment dann aber eine schlechtere Verträglichkeit derartig gereinigter Impfstoffe feststellen. Im weiteren Verlauf verwandten wir dann mit gutem Erfolg physiologische Kochsalzlösung. Hierbei interessierte uns vor allem auch, wie weit diese Reinigung getrieben werden darf, ohne einen Verlust an immunisierenden Eigenschaften zur Folge zu haben. Deshalb stellten wir aus einem ungereinigten EA-Impfstoff sowohl einen einfach gereinigten als auch einen hochgereinigten Impfstoff her. Für die nachfolgenden Untersuchungen standen demnach folgende Impfstoffproben zur Verfügung:

1. Gewöhnlicher Rotlauf-Adsorbatimpfstoff, hergestellt mit Pferdefleischbouillon, nicht weiter gereinigt. Im folgenden mit „ungereinigter, gewöhnlicher RAI“ bezeichnet.
2. Gewöhnlicher Rotlauf-Adsorbatimpfstoff, ein Teil der gleichen HerstellungschARGE wie Nr. 1, jedoch nach der Adsorption an Aluminiumhydroxyd gereinigt durch Auszentrifugieren des Adsorbates und Ersatz der überstehenden Suspensionsflüssigkeit durch physiologische Kochsalzlösung im ursprünglichen Volumen. Im folgenden mit „gereinigter gewöhnlicher RAI“ bezeichnet.
3. Impfstoff, hergestellt unter den gleichen Bedingungen wie Nr. 1, jedoch mit EA-Nährlösung anstatt Pferdefleischwasser. Nicht weiter gereinigt. Im folgenden mit „ungereinigter EA-Impfstoff“ bezeichnet.
4. Impfstoff, ein Teil der gleichen HerstellungschARGE wie Nr. 3, jedoch nach der Adsorption gereinigt durch Auszentrifugieren des Adsorbates und Ersatz der überstehenden Suspensionsflüssigkeit durch physiologische Kochsalzlösung im ursprünglichen Volumen. Im folgenden mit „gereinigter EA-Impfstoff“ bezeichnet.
5. Impfstoff, ein Teil der gleichen HerstellungschARGE wie Nr. 3, jedoch nach der Adsorption gereinigt durch dreimaliges Auszentrifugieren und Waschen mit Intervallen von je 2 Tagen und Ersatz der überstehenden Suspensionsflüssigkeit durch physiologische Kochsalzlösung im ursprünglichen Volumen. Im folgenden mit „hochgereinigter EA-Impfstoff“ bezeichnet.

An diesen Impfstoffen wurden im Rahmen der vorliegenden Mitteilung folgende Untersuchungen ausgeführt:

- a) Prüfung auf das Vorhandensein von sensibilisierenden Antigenen in der Suspensionsflüssigkeit.
- b) Prüfung der Verträglichkeit (örtliche und allgemeine Reaktionen nach subkutaner Injektion).
- c) Vergleichende Prüfung der immunisierenden Wirksamkeit.
- d) Ermittlung des frühesten Zeitpunktes, zu welchem bei Mäusen und Schweinen eine wirksame Immunität nachzuweisen ist.
- e) Prüfung der immunisierenden Wirksamkeit des gereinigten und des hochgereinigten EA-Impfstoffes in gefriergetrocknetem (lyophilisiertem) Zustand.
- f) Chemische Untersuchungen über den Eiweißgehalt der Suspensionsflüssigkeiten der verschiedenen Impfstoffe.

Die einzelnen Untersuchungen mit den verschiedenen Impfstoffen wurden zur gleichen Zeit und an gleichen Tierkollektiven durchgeführt, damit auch vergleichende Betrachtungen möglich waren.

a) *Prüfung auf das Vorhandensein von sensibilisierenden Antigenen in der Suspensionsflüssigkeit:*

Aus einem gleichmäßigen Meerschweinchenkollektiv wurden jedem der untersuchten Impfstoffe 5 Tiere zugeteilt. Diese erhielten als 1. Injektion 0,25 ccm der Suspensionsflüssigkeit ihres Impfstoffes intravenös und dann in Abständen von 4 Tagen 4 weitere subkutane Injektionen von je 0,5 ccm. Eine Woche nach der letzten Injektion wurden allen 25 Meerschweinchen je 2 ccm einer Lösung intravenös injiziert, die sich folgendermaßen zusammensetzte: Je 25% Produktionsnährboden aus Pferdefleischwasser, Produktionsnährboden aus EA-Nährlösung und 50% Suspensionsflüssigkeit des Impfstoffes, der für die Sensibilisierung der betreffenden Meerschweinchen gedient hatte. Die Ergebnisse können der Tabelle 1 entnommen werden.

Tabelle 1

Ergebnisse der Sensibilisierungsversuche

Art des Impfstoffes	Befund nach der intravenösen Testinjektion				
Ungereinigter gewönl. RAI	+	+	(+)	—	—
Gereinigter gewönl. RAI	(+)	(—)	—	—	—
Ungereinigter EA-Impfstoff	+	(+)	(+)	(—)	—
Gereinigter EA-Impfstoff	(+)	—	—	—	—
Hochgereinigter EA-Impfstoff	(—)	—	—	—	—

Zeichenerklärung: Jedes Zeichen bedeutet 1 Meerschweinchen, und zwar:

- + tödl. anaphylakt. Schock nach iv. Testinjektion
- (+) starke allg. Reaktion nach iv. Testinjektion, dann Erholung
- (—) schwache allg. Reaktion nach iv. Testinjektion, dann Erholung
- ohne klinische Symptome nach iv. Testinjektion.

Es geht aus der Tabelle 1 hervor, daß die sensibilisierenden Eigenschaften der Suspensionsflüssigkeiten, die wohl im wesentlichen auf ihren Gehalt an Normalserum zurückzuführen sind, erheblich nachlassen, je weiter die Reinigung getrieben wird. Dadurch wird deutlich, daß durch die Reinigung der wichtigste Teil der Ballast-Antigene, nämlich die sensibilisierenden Antigene, weitgehend entfernt werden können.

b) *Prüfung der Verträglichkeit (örtliche und allgemeine Reaktionen nach subkutaner Injektion):*

Jedem Impfstoff wurden 20 Mäuse aus dem gleichen Kollektiv im Gewicht von 15–16 g zugeteilt. Jede Maus erhielt 0,2 ccm ihres unverdünnten Impfstoffes unter die Rückenhaut injiziert. Unter genau den gleichen Bedingungen hielten wir 20 wei-

tere Mäuse als Kontrollen ohne jede Vorbehandlung. 3 Wochen später infizierten wir alle Tiere mit einem virulenten Rotlaufstamm. Bei diesem Versuch kam es uns darauf an, festzustellen, wie die Maus auf die für sie relativ hohe Dosis von 0,2 ccm des unverdünnten Impfstoffes örtlich und allgemein reagiert. Und zwar sollte die Zahl der während der 3wöchigen Immunisierungsperiode interkurrent gestorbenen Mäuse einen Anhaltspunkt für die Verträglichkeit der Impfstoffe vermitteln. Die abschließende Infektion der Tiere sollte zeigen, in welchem Maße eine Immunität ausgebildet worden ist. Denn es ist ja auch bei Rotlauf-Adsorbatimpfstoffen durchaus nicht so, daß die höchste Antigendosis auch den besten Schutz verleiht. Wird das Optimum der Antigenmenge überschritten, so wird die Immunität nicht höher, im Gegenteil, sie kann dann sogar schlechter werden; ein Umstand, den kürzlich auch Miller, Clark und Dierkhisling [4] bei der Anwendung von Typhus-Paratyphus-Impfstoffen angedeutet haben. Hier spielt u. E. neben der für die Maus relativ großen Menge Aluminiumhydroxyds die eingangs erwähnte proteinogene Kachexie eine besondere Rolle. Gelingt es aber, derartig hohe Dosen wenigstens von den Ballast-Antigenen zu befreien, so müßte man theoretisch eine solidere Seuchenimmunität erzielen können. Wie Tabelle 2 zeigt, wurden unsere Vermutungen in dieser Richtung bestätigt.

Zwar sind Mäuseversuche mit Rotlauf-Impfstoffen immer einigen Schwankungen unterworfen und die Ergebnisse der Immunitätsprüfungen können nicht exakt rekonstruiert werden. Immerhin bietet aber Tabelle 2 einen Anhaltspunkt dafür, daß größere Mengen von Ballast-Antigenen die Ausbildung einer optimalen Rotlauf-Immunität teilweise zu hemmen vermögen, und daß weiterhin die gereinigten Impfstoffe eine bessere Verträglichkeit aufweisen.

Tabelle 2

Prüfung der Verträglichkeit an Mäusen

Art des Impfstoffes	Zahl der Versuchsmäuse			
	immunisiert	interkurrent gestorben	infiziert	überlebt
Ungereinigter gewönl. RAI .	20	6	14	10 = 71%
Gereinigter gewönl. RAI . .	20	4	16	13 = 80%
Ungereinigter EA-Impfstoff .	20	7	13	11 = 84%
Gereinigter EA-Impfstoff . .	20	3	17	15 = 87%
Hochgereinigter EA-Impfstoff	20	2	18	17 = 93%
20 Kontrollmäuse	—	3	17	0 = 0%

Bei der Beobachtung der örtlichen Reaktionen stand zunächst die Reizwirkung des Aluminiumhydroxyds im Vordergrund, und zwar war ein Unterschied zwischen den gereinigten und ungereinigten Impfstoffen dabei nicht zu erkennen. Im Verlaufe der letzten Immunisierungswoche, also etwa 14 Tage nach der Injektion, klangen die Reizungen bei einigen Tieren der gereinigten Impfstoffe ab. Auffallend deutlich war dieser Unterschied zu den Tierkollektiven der ungereinigten Impfstoffe jedoch nicht. Die Zeit-

spanne, die bis zur völligen Resorption der Antigendepots verstrich, betrug etwa 4 Wochen und war ebenfalls bei allen Kollektiven annähernd gleich. Einen Unterschied zwischen gereinigten und ungereinigten Impfstoffen haben wir hierbei auch weder erwartet noch gewünscht; denn eine möglichst langsame Resorption ist ja einer der wichtigsten Vorzüge von Adsorbatimpfstoffen, der ausschließlich durch die Anwesenheit von Aluminiumhydroxyd bewirkt wird. Dieses aber ist bei den gereinigten und ungereinigten Impfstoffen in gleicher Menge und gleicher Qualität vorhanden und wird durch den Reinigungsprozeß in keiner Weise geändert. Abgeändert ist lediglich die Suspensionsflüssigkeit. Daß es dennoch gelingt, die Zeitspanne zwischen Impfung und Eintritt einer wirksamen Immunität nach Verwendung von gereinigten Impfstoffen zu verkürzen, wird weiter unten gezeigt werden und ist u. E. darauf zurückzuführen, daß dem Organismus das Antigen in reinerer Form dargeboten wird und er nicht gleichzeitig auch eine Menge von Ballast-Antigenen verarbeiten muß.

Gleichartige Beobachtungen der örtlichen Reaktionen machten wir bei den in Abschnitt d) beschriebenen 16 Versuchsschweinen. Auch hier war ein auffallender Unterschied zwischen gereinigten und ungereinigten Impfstoffen im Hinblick auf örtliche Reizwirkungen und Resorptionsdauer der Antigendepots nicht zu erkennen.

c) *Vergleichende Prüfung auf immunisierende Wirksamkeit:*

In der Tabelle 3 sind die Ergebnisse der mehrmaligen Wirksamkeitsprüfungen zusammenfassend dargestellt. Und zwar handelt es sich bei diesen Angaben um die Ergebnisse mehrerer, zeitlich getrennt und teilweise mit verschiedenen Herstellungschargen durchgeführter Untersuchungen. Immer aber wurden die Einzeluntersuchungen mit allen Impfstoffen zur gleichen Zeit und am gleichen Mäusekollektiv durchgeführt, so daß auch eine vergleichende Betrachtung möglich ist. Auch hat sich bei allen Einzeluntersuchungen an der Versuchstechnik nichts geändert, d. h. die Impfstoffdosis je Maus betrug stets 0,05 ccm subkutan, die Infektion erfolgte 3 Wochen nach der Immunisierung mit 0,01 ccm des gleichen virulenten Rotlaufstammes, und schließlich stammten alle Versuchsmäuse aus der gleichen Zucht und hatten zu Versuchsbeginn ein Körpergewicht von 14–15 g. Die nicht immunisierten Kontrollmäuse sind in der Tabelle 3 nicht aufgeführt, sie sind alle am 3. bis 6. Tag nach der Infektion gestorben.

Als wichtigstes Ergebnis sagt uns die Tabelle 3 zunächst, daß die EA-Nährlösung als vollwertiger Ersatz für Pferdefleischwasser angesprochen werden darf, da die mit ihr hergestellten Adsorbatimpfstoffe eine gleich gute immunisierende Wirkung entfalten. Weiterhin liegen die durchschnittlichen Prozentzahlen der überlebenden Mäuse bei den verschiedenen Impfstoffen alle in den Grenzen der normalen Streuung solcher Versuche, so daß daraus geschlossen werden kann, daß eine Reinigung mit physiologischer Kochsalzlösung keine antigene Wertminderung der Impfstoffe zur Folge hat. Am ehesten könnte eine solche Wertminderung beim hochgereinigten EA-Impfstoff angedeutet sein, dessen Ergebnisse – im Gegensatz zu den beiden

Tabelle 3

Ergebnisse der Immunitätsprüfungen an Mäusen

Art des Impfstoffes	Zahl der immunisierten Versuchsmäuse	
	infiziert	überlebt
Ungereinigter gewöhnlicher RAI	23	20 = 86%
	30	20 = 67%
	14	9 = 64%
	20	16 = 80%
	zusammen	87
Gereinigter gewöhnlicher RAI	21	16 = 76%
	19	15 = 78%
	10	8 = 80%
	zusammen	50
Ungereinigter EA-Impfstoff	17	12 = 70%
	16	13 = 81%
	18	16 = 88%
	17	13 = 76%
	16	12 = 75%
	zusammen	84
Gereinigter EA-Impfstoff . . .	14	10 = 71%
	16	13 = 81%
	19	17 = 89%
	38	31 = 81%
	17	12 = 70%
	zusammen	104
Hochgereinigter EA-Impfstoff	17	13 = 76%
	21	16 = 76%
	40	30 = 75%
	34	24 = 70%
	zusammen	112

einfach gereinigten Impfstoffen – eine absteigende Tendenz zeigen. Wir würden eine solche Vermutung nicht aussprechen, wenn nicht auch der im folgenden Abschnitt d) in Tabelle 5 beschriebene Schweineversuch einen leichten Verdacht in dieser Richtung aufkommen ließe.

In Tabelle 3 ist weiterhin auffallend, daß der hochgereinigte EA-Impfstoff in den einzelnen Prüfungen recht einheitliche Ergebnisse mit Streuungen von nur 6% geliefert hat, während die anderen Impfstoffe – ausgenommen der gereinigte gewöhnliche RAI – eine Streuungsbreite bis zu 22% aufweisen.

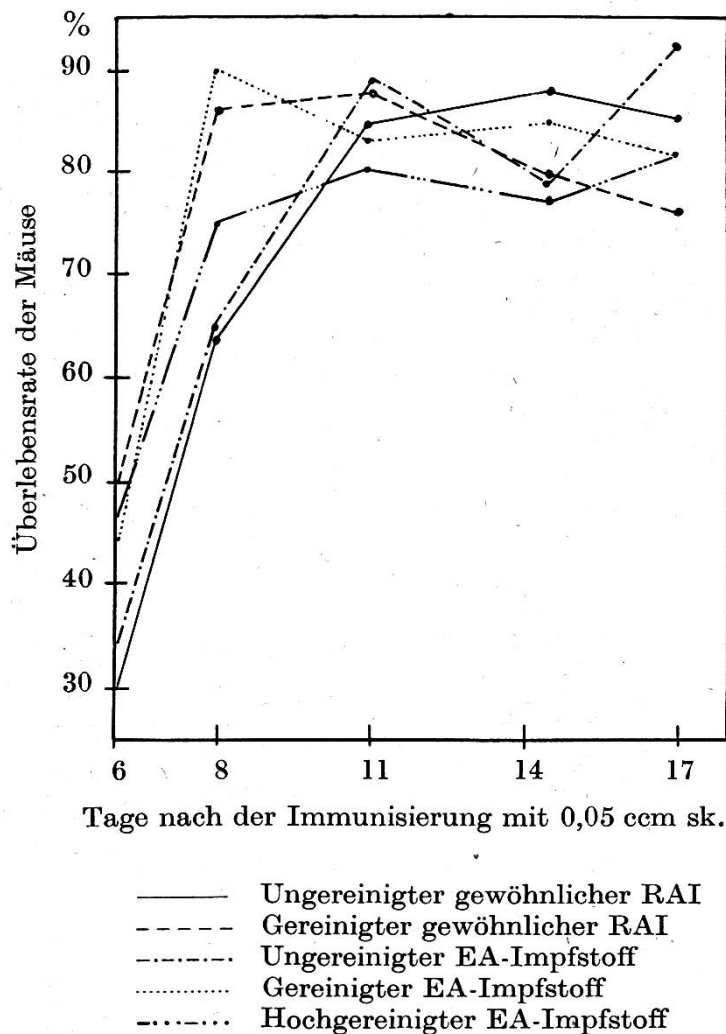
Ausgedehntere Prüfungen müssen erst zeigen, ob dieser einheitliche Ausfall der Tierversuche als ein weiterer, durch die Reinigung erzielter Vorteil des Impfstoffes anzusprechen ist, oder ob es sich um einen Zufall handelt.

d) *Ermittlung des frühesten Zeitpunktes, zu welchem bei Mäusen und Schweinen eine wirksame Immunität nachzuweisen ist:*

Mit jedem Impfstoff wurden 100 Mäuse immunisiert, und zwar erhielt jede Maus 0,05 ccm subkutan. Am 6., 8., 11., 14. und 17. Tag nach dieser Immunisierung wurden von jedem Impfstoff je 20 Mäuse infiziert und als Ergebnis die Überlebensrate dieser Kollektive notiert. Tabelle 4 gibt als graphische Darstellung den Verlauf der Immunitätsentwicklung durch die einzelnen Impfstoffe wieder. Aus dieser Darstellung kann deutlich ersehen werden, daß alle gereinigten Impfstoffe das Maximum an Immunität bereits 8 Tage nach der Immunisierung voll bewirkt haben, während die beiden ungereinigten Impfstoffe dies Ziel erst am 11. Tag erreichen konnten. Wiederum fällt außerdem auf, daß die Kurve des hochgereinigten EA-Impfstoffes sich an der unteren Grenze der Streubreite des einfach gereinigten und des ungereinigten Ausgangsproduktes bewegt.

Tabelle 4

Verlauf der Immunitätsentwicklung bei Mäusen



In analoger Weise wurde der Schweineversuch durchgeführt. Als wichtigste Voraussetzung für einen exakt ablaufenden Versuch mit verlässlichen Ergebnissen galt die Verwendung von züchterisch und haltungsmäßig ganz einheitlichen Schweinen. Leider standen uns nur 20 Tiere, die diese Bedingung erfüllten, zur Verfügung. Wir mußten uns deshalb auf die Prüfung des ungereinigten und des hochgereinigten EA-Impfstoffes beschränken. Das Körpergewicht dieser Versuchstiere schwankte zwischen 45 und 60 kg.

Je 8 Schweine wurden mit den beiden Impfstoffen immunisiert mit der üblichen Dosis von 5 ccm subkutan. 4 Tiere dienten als Infektionskontrollen und wurden deshalb von der Immunisierung ausgeschlossen. Am 5., 8., 11. und 14. Tag nach dieser Impfung wurden von jedem Impfstoff je 2 Tiere und 1 Kontrolle durch Skarifikation in der üblichen Weise infiziert. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in Tabelle 5 dargestellt.

Hieraus ist zu ersehen, daß am 5. Tage nach der Immunisierung bei keinem Tier eine wirksame Immunität nachgewiesen werden konnte. Der Grad der Erkrankung machte bei allen Tieren eine Heilimpfung mit Rotlaufserum und Penicillin erforderlich. Die ersten Anzeichen einer Immunität stellten sich bei den Versuchsschweinen ein, die 8 Tage nach der Immunisierung infiziert worden waren. Zwar entwickelten sich bei allen Tieren auch hier noch kleinere Impfblattern bei erhöhten Körpertemperaturen, die dann aber von selbst ausheilten und einer Heilimpfung nicht bedurften. Der Grad der Erkrankung war bei den Schweinen des hochgereinigten Impfstoffes leichter und bildete sich auch früher zurück als bei denen des ungereinigten Impfstoffes. So deutlich wie im Mäuseversuch (Tabelle 4) war der Unterschied jedoch nicht, was vielleicht mit der wesentlich kleineren Zahl der Tiere zusammenhängt.

Das Maximum ihrer Wirksamkeit haben beide Impfstoffe am 11. Tag nach der Immunisierung erreicht. Daß hier und auch am 14. Tag je 1 Tier des hochgereinigten Impfstoffes noch sehr kleine, von selbst wieder verschwindende Blattern zeigte, mag entweder auf individuelle Unterschiede des Tiermaterials hinweisen, oder es hängt, wie schon bei den Mäuseversuchen angedeutet wurde, damit zusammen, daß zur Erreichung eines hohen Reinigungsgrades ein Teil der antigenen Wirksamkeit geopfert werden muß.

e) *Prüfung der immunisierenden Wirksamkeit des gereinigten und hochgereinigten EA-Impfstoffes in gefriergetrocknetem (lyophilisiertem) Zustand :*

Auch diese Frage schien uns von besonderer Bedeutung zu sein, denn es ist bekannt, daß die Gelteilchen des Aluminiumhydroxyds sich durch eine hohe Empfindlichkeit gegenüber dem Gefriertrocknungsprozeß auszeichnen. Wenn es auch gelungen ist, diese Schwierigkeiten beim ungereinigten Impfstoff weitgehend zu überwinden, so blieb doch die Frage offen, ob sich durch Verwendung der gereinigten Suspensionsflüssigkeit des Adsorbates bei der Lyophilisation neue Schwierigkeiten einstellen. Hierüber gaben uns einige Mäuseversuche, die in der Tabelle 6 wiedergegeben sind, sehr schnell Aufschluß.

Tabelle 5

Entwicklung der Immunität bei Schweinen

Infektion		Art des Impfstoffes	Grad der Erkrankung, Körpertemperatur und sonstige Bemerkungen post infectionem						
Tage post vacc.	bei Schw. Nr.		1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag
5	74	Ungereinigter EA-Impfstoff	++ 41,7	++(+) 40,0	+++ 40,0	Heilimpfung			
	76	Ungereinigter EA-Impfstoff	++ 41,0	++(+) 40,5	++++ 40,5	Heilimpfung			
	62	Hochgereinigter EA-Impfstoff	++ 41,3	++(+) 40,0	++++ 40,5	Heilimpfung			
	66	Hochgereinigter EA-Impfstoff	++ 41,0	++(+) 40,6	+++ 42,0	Heilimpfung			
	71	Kontrolle	++ 41,5	+++ 41,5	++++ 41,2	Heilimpfung			
8	79	Ungereinigter EA-Impfstoff	+ 42,0	++ 40,5	++ 40,8	++ 40,2	+ 40,2	— 39,9	— 39,4
	78	Ungereinigter EA-Impfstoff	+ 41,5	+ 39,5	++ 40,5	+ 39,5	(+) 39,6	— 39,5	— 39,6
	69	Hochgereinigter EA-Impfstoff	+ 40,6	+ 40,0	+ 39,8	(+) 39,2	— 39,5	— 39,4	— 39,3
	65	Hochgereinigter EA-Impfstoff	+ 40,5	+ 41,0	+ 39,5	— 39,6	— 39,4	— 39,5	— 39,3
	63	Kontrolle	++ 41,7	+++ 40,5	++++ 40,7	Heilimpfung			
11	80	Ungereinigter EA-Impfstoff	— 39,6	— 39,8	— 39,7	— 39,6	—	—	—
	73	Ungereinigter EA-Impfstoff	— 39,8	— 39,8	— 39,5	— 39,5	—	—	—
	64	Hochgereinigter EA-Impfstoff	— 39,5	(+) 40,4	(+) 39,8	— 39,5	— 39,2	— 39,6	— 39,5
	67	Hochgereinigter EA-Impfstoff	— 39,5	— 39,2	— 39,2	— 39,5	—	—	—
	72	Kontrolle	+++ 41,8	+++ 42,0	Heilimpfung				
14	81	Ungereinigter EA-Impfstoff	— 40,0	— 39,8	— 39,8	— 39,5	— 39,6	—	—
	77	Ungereinigter EA-Impfstoff	— 39,7	— 39,9	— 39,8	— 39,7	— 39,7	—	—
	68	Hochgereinigter EA-Impfstoff	— 39,5	— 39,3	(+) 39,5	— 39,5	— 39,3	— 39,2	— 39,6
	70	Hochgereinigter EA-Impfstoff	(+) 40,0	(+) 39,3	(+) 39,8	(+) 40,0	— 39,9	— 39,4	— 39,5
	75	Kontrolle	+ 41,2	+++ 41,5	++++ 41,0	Heilimpfung			

Zeichenerklärung:

- keine Impfbakterien (immun)
- (+) kaum erkennbare Impfbakterien
- + einzelne kleine Impfbakterien
- ++ deutliche Impfbakterien
- +++ stark ausgebildete Impfbakterien ohne Generalisation
- ++++ stark ausgebildete Impfbakterien mit Generalisation

Tabelle 6

Antigene Wirksamkeit der gefriergetrockneten gereinigten Impfstoffe

Art des Impfstoffes	Anzahl der immunisierten und 3 Wochen später infizierten Mäuse	davon überlebt
lyophilisierter, <i>ungereinigter</i> EA-Impfstoff	52	48%
nicht lyophilisierter ungereinigter Ausgangs-impfstoff (Kontrolle)	54	52%
lyophilisierter, <i>gereinigter</i> EA-Impfstoff	36	14%
nicht lyophilisierter, gereinigter Ausgangs-impfstoff (Kontrolle)	40	50%
lyophilisierter, <i>hochgereinigter</i> EA-Impfstoff . .	76	1,5%
nicht lyophilisierter, hochgereinigter Ausgangs-impfstoff (Kontrolle)	35	57%

Diese Ergebnisse lassen keinen Zweifel darüber, daß ein in der beschriebenen Weise gereinigter Rotlauf-Adsorbatimpfstoff für die Gefriertrocknung völlig ungeeignet ist. Und zwar verlieren die Impfstoffe um so mehr an antigener Wirksamkeit, je intensiver die Reinigung durchgeführt worden ist. Beim hochgereinigten gefriergetrockneten Impfstoff ist praktisch gar keine immunisierende Wirksamkeit mehr nachzuweisen. Diese Tatsache ist für aluminiumhydroxydhaltige Impfstoffe nicht neu und wurde bereits von Pyl und Hobohm [5] für Maul-und-Klauenseuche-Vakzine beschrieben. Der Schaden wird dabei nicht etwa durch den Trocknungsprozeß, sondern vielmehr durch den Gefrierprozeß verursacht, und zwar genügt bereits eine geringe Frosttemperatur, um eine irreversible Entquellung und Zusammenballung der Gelteilchen des Aluminiumhydroxyds herbeizuführen. Schon makroskopisch gibt sich dieser Vorgang durch grobe Flockung und eine sehr rasche Sedimentation des Adsorbates zu erkennen. Bei dieser Zusammenballung wird das adsorbierte Antigen in den Poren der Gelteilchen fest eingeschlossen und nach seiner Verimpfung dem Körper nicht mehr freigegeben.

Pyl und Möhlmann [6] haben gezeigt, daß das Adsorbat durch einen Zusatz von Glycerin vor diesem Frostschaden bewahrt werden kann. Zwar gefrieren derartig vorbehandelte Impfstoffe trotzdem, aber ihre antigene Wirksamkeit bleibt erhalten. Es versteht sich von selbst, daß ein glyzerinhaltiger Impfstoff für die Gefriertrocknung ungeeignet ist, und man wird sich deshalb nach anderen, trocknungsfähigen Zusätzen umsehen müssen.

Daß es möglich ist, derartige Stoffe zu finden, die selbst bei langsamem Einfrieren des Adsorbates in dicker Schicht eine schützende Wirkung auf das Aluminiumhydroxyd ausüben, haben wir bereits in einigen Vorversuchen ermitteln können. Auch scheinen bestimmte antigenfreie Substanzen eine solche Schutzwirkung zu entfalten. Deshalb wird es sicher möglich sein, auch den gefriergetrockneten Rotlauf-Adsorbatimpfstoff von Ballast-Antigenen weitgehend zu befreien und ihm dadurch ebenfalls einen optimalen Reinigungsgrad zu verleihen. Immerhin verfügen wir zur Zeit noch nicht über genügend umfangreiche Experimente, um hierüber an dieser Stelle schon Einzelheiten aussagen zu können.

f) *Chemische Untersuchungen über den Eiweißgehalt der Suspensionsflüssigkeiten der verschiedenen Impfstoffe:*

Der exakte quantitative Nachweis ausschließlich von Eiweißkörpern in einer Lösung bereitet insofern einige Schwierigkeiten, als die Ergebnisse der verschiedenen Nachweismethoden mehr oder weniger unterschiedlich voneinander ausfallen. So gibt z. B. die technisch am einfachsten auszuführende Reaktion nach Esbach nur einen Teil der vorhandenen Eiweißkörper an, während andere wieder neben Eiweiß auch noch teilweise Aminosäuren, Peptide und Peptone anzeigen.

Im Rahmen unserer Untersuchungen ist es aber praktisch belanglos, den Eiweißgehalt der Suspensionsflüssigkeiten genau zu bestimmen; es kam uns mehr darauf an, ein Verhältnis zwischen den verschiedenen Reinigungsstufen festzustellen und dies dann in Beziehung zu den biologischen Untersuchungsergebnissen zu setzen.

Zur Anwendung kamen die folgenden Eiweiß-Reaktionen:

1. *Methode nach Kjeldahl:* Die Ausführungstechnik ist allgemein bekannt und bedarf hier keiner Erörterung. Nachgewiesen wird der Gesamtstickstoff, der dann auf Eiweiß umgerechnet wird. Darin ist sämtlicher Stickstoff, der sich in der Untersuchungssubstanz in Ammoniak verwandeln läßt, enthalten.
2. *Kolorimetrische Methode nach Greenberg:* Die zu untersuchende Eiweißlösung wird mit Natronlauge und Phenolreagens versetzt und der Gehalt an Proteinen kolorimetrisch gemessen.
3. *Alkohol-Methode:* Der zu untersuchenden Eiweißlösung wird soviel reiner Alkohol beigegeben, daß die Alkoholkonzentration 80% beträgt. Der Eiweiß-Niederschlag wird abfiltriert, bei 103 bis 105°C getrocknet und gewogen. Ein großer Teil der Aminosäuren bleibt bei dieser Methode in Lösung und kann anschließend mit Schwermetallsalzen noch ausgefällt werden.
4. *Schwermetallsalz-Methode:* Die zu untersuchende Flüssigkeit wird mit soviel 1,5%iger Uranylazetatlösung versetzt, bis keine Ausfällung mehr stattfindet. Der Niederschlag wird getrocknet, gewogen und alsdann verascht. Darauf zieht man das Uran in der Asche vom Gewicht des Niederschlages ab. Bei dieser Methode wird ein großer Teil der Aminosäuren mit erfaßt.
5. *Methode nach Esbach:* Diese vorwiegend bei klinisch-chemischen Untersuchungen zur Anwendung kommende Methode ist ebenfalls allgemein bekannt. Die mit ihr erzielten Ergebnisse sind nur dann einigermaßen genau, wenn das Untersuchungs-

material niedrige Eiweißkonzentrationen aufweist. Es werden nicht alle Eiweißarten nachgewiesen.

6. *Biuret-Reaktion*: Diese qualitativ und nicht quantitativ anzeigende, sehr empfindliche Reaktion wandten wir nur bei solchen Proben an, wo Eiweißfreiheit erwartet werden konnte. Sie dient zum Nachweis von Tripeptiden an aufwärts.

Tabelle 7

Ergebnisse der Eiweißuntersuchungen

Untersuchte Flüssigkeit	Kjeldahl	Greenberg	Alkohol	Schwermetall	Esbach
Produktionsnährboden mit Fleischwasser	2,00%	1,92%	1,11%	1,68%	—
Produktionsnährboden mit EA-Nährlösung	1,70%	1,66%	1,02%	1,66%	—
Fleischwasser ohne weitere Zusätze	0,54%	0,48%	0,20%	0,29%	ca. 200 mg% (ungenau)
EA-Nährlösung ohne weitere Zusätze	0,23%	0,16%	0,13%	0,21%	negativ
Suspensionsflüssigkeit von ungereinigtem, gewöhl. RAI .	1,18%	1,18%	0,30%	0,62%	—
Suspensionsflüssigkeit von gereinigtem, gewöhl. RAI . .	0,31%	0,35%	0,08%	0,30%	25 mg%
Suspensionsflüssigkeit von ungereinigtem EA-Impfstoff .	0,90%	0,80%	0,29%	0,50%	—
Suspensionsflüssigkeit von gereinigtem EA-Impfstoff . .	0,25%	0,21%	0,11%	0,19%	25 mg%
Suspensionsflüssigkeit von hochgereinigtem EA-Impfstoff	0,03%	0,03%	0,0%	0,02%	5 mg%

Anmerkung: Nach Ausfällung mit Uranylacetat war das Filtrat der Suspensionsflüssigkeit des hochgereinigten EA-Impfstoffes Biuret-negativ und das der EA-Nährlösung schwach positiv.

In Tabelle 7 sind die Durchschnittsergebnisse mehrerer Untersuchungen auch mit verschiedenen Herstellungschargen wiedergegeben. Es geht daraus hervor, daß der Unterschied im Eiweißgehalt zwischen Pferdefleischwasser und EA-Nährlösung ein beträchtlicher ist, und zwar beträgt er beim Fleischwasser etwa doppelt (Kjeldahl) bis 3fach (Greenberg) soviel. Mit der Esbach-Reaktion kann in der EA-Nährlösung überhaupt kein Eiweiß nachgewiesen werden. Die Tatsache, daß die Rotlaufbakterien im EA-Nährboden aber dennoch ein unvermindertes Wachstum mit maximaler Antigenbildung

zeigen, beweist, daß Fleischwasser zu einem großen Teil Ballast-Stoffe enthält. Die Ausschaltung dieser Ballast-Stoffe durch die Anfertigung des EA-Impfstoffes halten wir für vorteilhaft.

Dieser Unterschied im Eiweißgehalt der Grundsubstanzen des Nährmediums kommt dann, wie Tabelle 7 weiter zeigt, auch in den fertigen Produktionsnährböden sowie in den Suspensionsflüssigkeiten der ungereinigten und gereinigten Adsorbatimpfstoffe zum Ausdruck.

Wesentlich scheint uns noch zu sein, daß die Esbach-Reaktionen etwa 10mal kleinere Werte liefern, als nach Kjeldahl oder Greenberg ermittelt wird. Dies hängt offenbar damit zusammen, daß einerseits nach Esbach nur ein Teil der Eiweißkörper erfaßt wird und andererseits die Bestimmung des Eiweißstickstoffes sich auch auf die Aminosäuren und Peptidverbindungen erstreckt. Wir glauben deshalb, daß die Alkohol-Methode für unsere Zwecke die brauchbarsten Werte vermittelt. Jedoch wird man der technischen Einfachheit wegen der Esbach-Methode dann den Vorzug geben können, wenn es sich um routinemäßige Untersuchungen bei der Reinigung im großen handelt und man keine Änderungen am Nährboden vorgenommen hat.

Der einfache Reinigungsprozeß, wie er weiter oben beschrieben wurde, reduziert also den Gehalt an Eiweißstickstoff der Suspensionsflüssigkeiten der beiden ungereinigten Impfstoffe auf etwa $\frac{1}{4}$ bis $\frac{1}{3}$, und die Suspensionsflüssigkeit des hochgereinigten Impfstoffes enthält nach Tabelle 7 nur etwa $\frac{1}{30}$ Eiweißstickstoff ihres ungereinigten Ausgangsproduktes. Weiterhin zeigt Tabelle 7, daß nicht ganz die Hälfte des in den Produktionsnährböden enthaltenen Eiweißstickstoffes vom Aluminiumhydroxyd adsorbiert wird.

Beurteilung der Versuchsergebnisse

Das gesteckte Ziel, den Rotlauf-Adsorbatimpfstoff von Ballast-Substanzen zu reinigen, ist, wie die vorstehenden Versuche ergeben haben, erreicht worden. Diese Reinigung hat zwei wesentliche Vorteile für die praktische Anwendung des Impfstoffes mit sich gebracht, nämlich:

1. Der flüssige Anteil des Impfstoffes (Suspensionsflüssigkeit) ist je nach Intensität der durchgeführten Reinigung mehr oder weniger frei von sensibilisierenden Eigenschaften (Tabelle 1).

2. Dadurch, daß der Körper des Impflings nach Injektion von gereinigtem Impfstoff keine Ballast-Antigene oder nur unwesentliche Mengen davon verarbeiten muß, wird es ihm möglich, sich sofort voll und ganz der Ausbildung der spezifischen Rotlauf-Immunität zu widmen. Die Folge davon ist, daß die Tiere nach Injektion von gereinigten Impfstoffen um einige Tage früher immun sind als jene, denen ungereinigter Impfstoff verabreicht worden ist.

Sehr deutlich ließ sich dieser Unterschied im Mäuseversuch (Tabelle 4) demonstrieren, weil wir dort mit zahlenmäßig großen Tierkollektiven arbei-

ten konnten (20 Tiere pro Infektionstag und Impfstoff), während die biologischen Fehlermöglichkeiten im Schweineversuch (Tabelle 5) infolge der wenigen Versuchsschweine (2 Tiere pro Infektionstag und Impfstoff) größer waren. Auch prüften wir an Schweinen nur den hochgereinigten EA-Impfstoff im Vergleich zu seinem ungereinigten Ausgangsprodukt und nicht gleichzeitig auch den einfach gereinigten EA-Impfstoff. Dieses hochgereinigte Produkt hat aber offenbar durch den sehr intensiv durchgeführten Reinigungsprozeß eine antigene Wertminderung erfahren, so daß auch dadurch der Unterschied im Beginn der Immunität bei den Schweinen etwas verwischt wurde. Schließlich ist noch zu bedenken, daß der von uns an Schweinen geprüfte ungereinigte EA-Impfstoff infolge des Fehlens von Fleischwasser auch schon einen gewissen Reinigungsgrad gegenüber dem üblichen, aus Fleischbouillon hergestellten RAI besitzt.

Es ist nun nicht schwer, die antigene Wertminderung des hochgereinigten Impfstoffes durch eine höhere Konzentration, d. h. durch Verringerung der Suspensionsflüssigkeit zu kompensieren. Dadurch enthält der so konzentrierte Impfstoff anteilmäßig mehr Adsorbat und damit auch wieder mehr Antigen. Wir messen einer solchen Maßnahme jedoch nur eine theoretische Bedeutung bei, denn unsere Untersuchungen haben eindeutig genug ergeben, daß ein einfach gereinigter Impfstoff die Vorzüge der Reinigung vollauf besitzt und eine weitere Reinigung ihn nicht verbessern würde. Unter Reinigung in diesem Falle verstehen wir die Befreiung der Suspensionsflüssigkeit des fertigen Impfstoffes von den restlichen Ballast-Antigenen.

Dagegen sollten die Bestrebungen, die Zusammensetzung des Produktionsnährbodens zu verbessern, weitergehen und zwar in der Richtung, daß alle antigen wirkenden Substanzen, vorwiegend also Eiweißkörper, die nicht unbedingt für das Wachstum und die Antigenbildung der Keime erforderlich sind, ausgeschaltet werden. Damit würde vor allem eine Reinigung des Adsorbates selbst und nicht nur der Suspensionsflüssigkeit erreicht werden. Der erste Schritt auf diesem Wege ist mit dem Ersatz des Fleischwassers durch eine eiweißarme Nährlösung im EA-Impfstoff bereits getan.

Aus den geschilderten Versuchsergebnissen möchten wir die Schlußfolgerung ziehen, daß bei Schweinen nach Anwendung des gereinigten EA-Impfstoffes eine wirksame Immunität etwa 10 Tage nach der Impfung erwartet werden kann, während man beim ungereinigten RAI, welcher üblicherweise mit Pferdefleischwasser hergestellt wird, mindestens 14 Tage und mehr rechnen muß. Selbstverständlich wird es hier keine starre Regel geben, denn die Immunisierbarkeit hängt ja nicht nur vom Impfstoff, sondern ebenso auch vom Tier, dessen Ernährungs- und Gesundheitszustand sowie von den jahreszeitlichen Schwankungen ab. – Gestützt auf unsere Untersuchungsergebnisse an Schweinen und Mäusen sind wir aber dennoch der Überzeugung, daß die in den Prüfungsbestimmungen vorgeschriebene Immunisierungsperiode von 3 Wochen bei Schweinen und Mäusen nach Anwendung gereinigter Impfstoffe auf 2 Wochen reduziert werden kann.

Résumé

L'élimination des substances formant ballast dans le vaccin adsorbé contre le rouget du porc a été menée de 3 côtés à la fois. 1. Remplacement de l'extrait aqueux brut de la viande dans le milieu de culture par une solution pauvre en albumine. 2. Emploi exclusif de souches de rouget ne possédant pas de propriétés allergiques. 3. Remplacement de l'émulsion colloïdale du vaccin terminé par une solution ne contenant pas d'antigène. Par ce procédé, on a fait d'un vaccin non nettoyé un produit simplement nettoyé et un produit nettoyé à 100%. Le vaccin à nettoyage simple contenant environ 0,1 à 0,2% d'albumine dans la suspension colloïdale a pour effet d'activer l'immunité et sa suspension colloïdale est pratiquement libérée d'antigènes sensibilisants. Le vaccin à nettoyage complet présente les mêmes avantages mais a quelque peu perdu de son pouvoir immunisant en raison même du nettoyage intensif (0,01–0,03% d'albumine). Les vaccins ainsi nettoyés ne conviennent pas au séchage par congélation.

Riassunto

La purificazione del vaccino adsorbito del malrossino dalle scorie fu effettuata contemporaneamente con 3 mezzi: 1. Sostituzione del brodo nel terreno colturale di produzione con una soluzione povera di albumina. 2. Per la preparazione del vaccino uso di soli ceppi di malrossino che non hanno proprietà allergizzanti. 3. Sostituzione del liquido di sospensione, del vaccino pronto, con una soluzione libera da antigeni. In questa maniera da un vaccino non purificato fu preparato un prodotto purificato al massimo ed in modo semplice. Il vaccino purificato semplicemente con circa 0,1–0,2% di albumina nel liquido di sospensione, favorisce una produzione più rapida dell'immunità e il suo liquido di sospensione, in confronto del prodotto non purificato, è praticamente libero da antigeni-sensibilizzanti. Il vaccino purificato al massimo presenta gli stessi vantaggi, ma in seguito alla purificazione molto intensa (fino a 0,01–0,03% di albumina nel liquido di sospensione) esso ha perduto un po' della sua efficacia immunizzante. I vaccini preparati nel modo anzidetto non sono adatti ad essere essiccati mediante congelamento.

Summary

Purification of the erysipelas adsorbat vaccine was undertaken in 3 directions: 1. Using a solution with very little albumin instead of broth, 2. Choosing erysipelas strains which do not produce allergy, 3. Suspension of the vaccine in a non antigenous liquid. Thus a simply and a highly purified vaccine were produced. The former contains 0.1–0.2% proteins in the suspension fluid. It produces immunity within a shorter time than the unpurified material, and the suspension liquid contains no sensibilizing antigens. The highly purified vaccine has a similar effect, but somewhat less immunizing power on account of the high degree of purification (only 0.01–0.03% proteins in the suspension liquid). The purified vaccines cannot be dried in freezing.

Literatur

[1] Dräger, K. u. H. Fiege: *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 1953, 125. – [2] Mayer, G.: *Vet. med. Diss. Gießen* 1950. – [3] Michalka, J.: *Wien. tierärztl. Mschr.* 1939, 449. – [4] Miller, S. Clark, D. L. u. O. C. Dierkhising: *Amer. J. trop. Med.* 31, 535 (1951). – [5] Pyl, G. u. K. O. Hobohm: *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* 1944, 56. – [6] Pyl, G. u. H. Möhlmann: *Exp. Vet. Med.* 4, 41 (1951). – [7] Richter, W.: *Mh. Vet. Med.* 1951, 475.