

Serologische Untersuchungen an Pferden mit latenter und chronischer infektiöser Anämie

Autor(en): **Steck, 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): **108 (1966)**

Heft 3

PDF erstellt am: **11.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589466>

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.

Serologische Untersuchungen an Pferden mit latenter und chronischer infektiöser Anämie¹

Von W. Steck

Einleitung

Der Nachweis der latenten infektiösen Anämie ist für alle epidemiologischen Erwägungen von grundlegender Bedeutung. Um nur ein Beispiel zu nennen: Das Auftreten eines klinischen Falles von I.A. in einer Population, in der latente Infektionen häufig sind, muß ganz anders beurteilt werden als sein Auftreten in einer Population, die praktisch frei ist von I.A.-Infektion. Der Entscheid über den Patienten, ob zu eliminieren oder nicht, hängt häufig in erster Linie von der epidemiologischen Situation ab.

Das Symptom der typischen (vgl. 51–53) sublingualen Punktblutungen hat sich in zahlreichen Beobachtungsreihen, wie in der täglichen Routine als charakteristisch für die I.A. herausgestellt und leistet darum unentbehrliche Dienste (das soll seiner Zeit an anderer Stelle eingehender dargelegt werden). In unseren Untersuchungen ergab sich immer deutlicher die Bedeutung auch geringer Zahlen (< 10) derartiger Blutungen. Weil aber *gelegentlich* auch bei unverdächtigen Pferden 1 bis 2 typische Blutungen auftreten können, bleibt die untere Grenze des pathologischen Befundes ohne andere Hilfsmittel unbestimmbar.

Ausgehend von der Nachprüfung serologischer Verfahren anderer Autoren, die leider alle negativ verliefen und gerade in Formen der Krankheit versagten, wo sie am dringendsten benötigt wurden, sind wir vor mehr als zehn Jahren selber dazu übergegangen, Mittel und Wege für den Nachweis von Antikörpern zu suchen. Diese Untersuchungen sind auch heute noch nicht abgeschlossen. Weil sie aber einige interessante Erscheinungen zutage gefördert haben und es aus äußern Gründen notwendig geworden ist, einen Zwischenbericht zu erstatten, sollen einige vorliegende Ergebnisse hier mitgeteilt werden.

¹ Die Untersuchungen wurden in der veterinär-medizinischen Klinik der Universität Bern durchgeführt. Sie haben Unterstützung erhalten durch den Alfred Guillebeau-Fonds, das Office International des Epizooties, das Eidgenössische Veterinäramt, den Verband Bernischer Pferdeversicherungsgenossenschaften und durch zahlreiche Fachkollegen des In- und Auslandes. Ihnen allen und besonders auch den technischen Mitarbeitern des Institutes sei hier mein wärmster Dank ausgesprochen.

Es erscheint uns zweckmäßig, vorerst kurz die Möglichkeiten des experimentellen Nachweises der I.A.-Infektion zu diskutieren.

Das Problem des experimentellen Nachweises der I.A.-Infektion

Die Übertragung auf das Pferd ist dann brauchbar, wenn es gelingt, beim Empfänger das klinische Bild der infektiösen Anämie hervorzurufen, nicht etwa nur einen Fieberanfall. Eine fortlaufende Untersuchung der Zungenunterfläche auf typische Punktblutungen, schon vor der Infektion, während der Inkubation und besonders auch noch einige Tage nach einem Fieberanfall, ist angezeigt.

Für einen Übertragungsversuch sollte der Empfänger virusfrei sein. Wo latente Infektionen häufig sind, müssen die Empfänger aus entfernten I.A.-freien Gegenden bezogen werden (vgl. 55). Superinfektionen sind zwar nicht selten (Balozet [4]), Andrejewski [3], Beller und Traub [5], Möhlmann [40], eigene Beobachtungen). Doch ist im allgemeinen damit zu rechnen, daß ein latenter Virusträger der Superinfektion Widerstand entgegensetzt. Aber dieser Widerstand ist recht ungleich wirksam. Die klinische Erkrankung kann ganz ausbleiben, sie kann gemildert verlaufen oder es kann, wie Möhlmann [40] gezeigt hat, nur die Inkubationszeit verlängert sein.

Der Effekt der Übertragung ist natürlich außer von der Resistenz des Empfängers auch von der Virulenz und Menge des übertragenen Virusmaterials abhängig. Wir wissen namentlich seit den Untersuchungen von de Kock [3], der japanischen I.A.-Kommission 1916 [23] und von Stein, Mott and Gates [58], daß bei infizierten Pferden nicht immer genügend Virus im Blute zirkuliert, um einen positiven Übertragungsversuch zu ermöglichen, selbst bei Verwendung großer Blutmengen.

Der Esel ist im allgemeinen etwas weniger empfänglich. Die Übertragung der Krankheit auf kleine Versuchstiere ist bisher nicht überzeugend gelungen, und darauf gegründete diagnostische Verfahren haben sich als unzuverlässig erwiesen.

Die Agglutination von Hühnerblutzellen wird auch bei Seren von gesunden Pferden beobachtet (Dregus und Lombard [11], [12]).

Neutralisierende Antikörper wurden von Stein und Gates [57] nachgewiesen, die zeigten, daß durch den Zusatz der zehnfachen Menge von Serum abgeheilter Virusträger, die Virulenz eines Krankenserums deutlich herabgesetzt wurde. Tanaka und Sakai [59] konnten diese Beobachtungen, aber nicht regelmäßig, bestätigen.

Die *Präzipitation* hat bis jetzt keine brauchbaren Ergebnisse gezeitigt (Wirth [65], Lührs [37], Negishi et al. [41]. Die Agargeldiffusion nach dem Verfahren von Ouchterlony wurde von Saxer und Fuentes [46] und Saxer [47], herangezogen. In der erstgenannten Arbeit ist eine Korrelation zwischen Positivität der Seren und Ausfall der Präzipitation nicht deutlich, während in der zweiten die Unsicherheit bezüglich Natur des Antigens und der verwendeten Prüfsera kein Urteil erlaubt.

Die *Immunglobulinbindung* (Coombs) ergab in den Versuchen von Sryssak und Krauss [50] keine schlüssigen Resultate.

Über die Anwendung der *Komplementablenkung* existiert schon eine umfangreiche Literatur. Die meisten Autoren (Hempel [21], Wirth [65], Reinhardt [45], Lührs [37] und die japanische I.A.-Kommission 1916 [23]) unter anderen fanden sie unbrauchbar. Lührs [37], Otto [42] und Mohler [39] verzeichneten einige positive Ergebnisse. Aber die Herstellung brauchbarer Antigenpräparate gelang häufig nicht, und infizierte Pferde zeigten nur zeitweise ein positives Verhalten. Es gelang zwar Traub, Walbrecht und Schäfer [60] durch wiederholte Verimpfung von formolisiertem Antigenmaterial bei zwei Versuchspferden komplementbindende Antikörper zu erzeugen; aber von 83 Seren von 25 einmal künstlich infizierten Pferden ergab ein einziges eine positive Reaktion.

Die von Schuljomowa [48] mit Hilfe der Konglutinationshemmung erzielten Resultate konnten von Fasciati [11] nicht bestätigt werden.

Die Forschungen über die Komplementbindungsreaktion wurden aktiviert, als Altara, Serra und Guarini eine Methode ausarbeiteten, bei der ein alkoholischer Antigenauszug verwendet wurde. (Vgl. die Publikationen [1, 2, 6, 7, 17, 18, 19, 20, 22, 25, 26, 27, 28, 29, 33, 34, 35, 38, 43, 49, 61, 62, 66]. Während die meisten Autoren für den Komplementnachweis die Hämolyse benutzten, verwendeten Saxer und Fuentes [46] die Konglutination. Heute geht die Auffassung allgemein dahin, daß es sich um eine Lipoidbindungsreaktion handelt, die bei negativen Pferden positiv und bei positiven Pferden negativ ausfallen kann, wobei sich die beiden Gruppen nichtinfizierter und infizierter Pferde nicht deutlich unterscheiden [62].

Obschon die Kultivierung des I.A.-Virus in der Gewebeskultur gelungen ist (Watanabe 1960, [64]) Kobayashi 1961 [30] und von diesem Autor auch ein zytopathogener Effekt nachgewiesen werden konnte, ist die Frage, ob auf dieser Grundlage bei der latenten Infektion Antikörper (zum Beispiel neutralisierende) regelmäßig nachgewiesen werden können, noch offen (vgl. Ishii 1963, [24]).

Erste Ergebnisse bei der Verwendung der Komplementablenkungsmethode in eigenen Untersuchungen

Wir gingen aus von der Technik der üblichen Komplementablenkungsmethode, wobei Einzelheiten nach Ermessen oder Erfahrung modifiziert wurden (niedere Temperaturen, lange Zeiten, Pufferung, Vorbehandlung der Sera, Messen des Hämolysegrades mit dem Photometer usw.).

Das Ergebnis war zunächst insofern negativ, als eine eigentliche Komplementablenkung nur selten beobachtet wurde. Dagegen stellte sich wiederholt ein eigenartiges Phänomen ein, das für die untersuchten Sera latent und chronisch kranker Pferde charakteristisch (aber nicht regelmäßig auftretend) schien. Eine der ersten derartigen Beobachtungen ist in der Abb. 1 wiedergegeben.

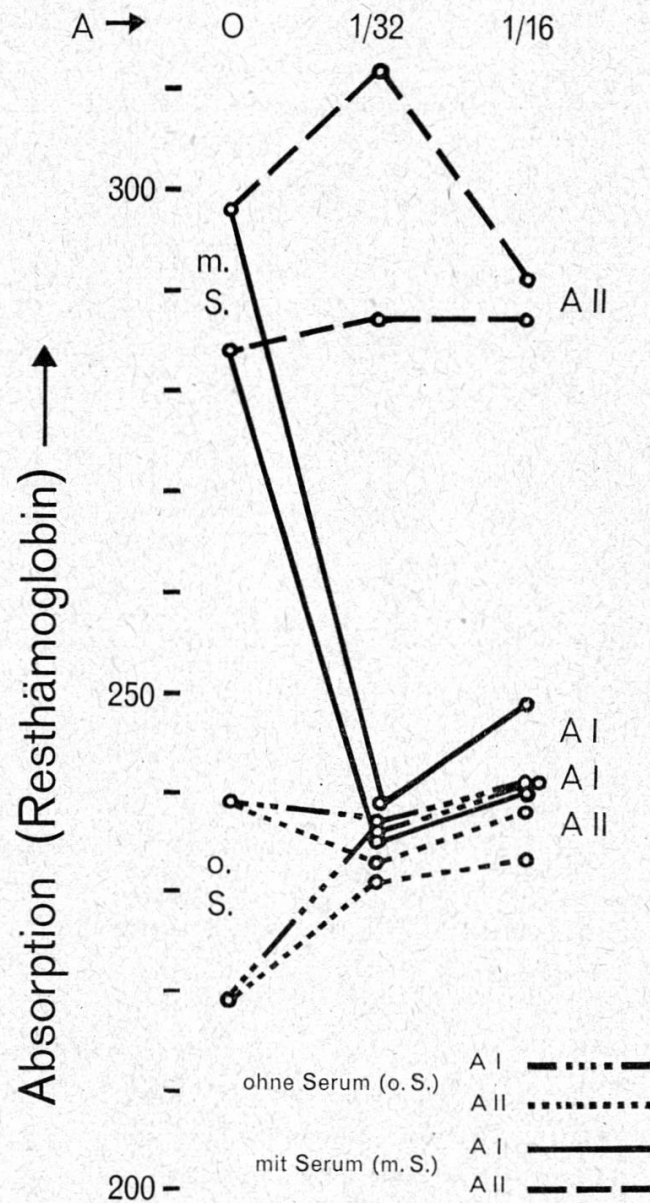


Abb. 1 (Versuchsanlage und Einzelheiten in Tabelle 1)

Die verwendeten Komponenten sind die folgenden:

S bedeutet Serum des künstlich infizierten Pferdes Rex (Blut vom 4. Juni 1954, im Versuch verwendet am 29. Juli 1954, nach Aufbewahrung im Eisschrank, verdünnt mit der gleichen Menge Puffer pH 7,4. AI/4 bedeutet Lungenparenchymbrei eines an schwerer I.A. eingegangenen Pferdes (aufbewahrt bei etwa -20°), verdünnt mit der 16fachen Menge gepufferter NaCl-Lösung, AI/8 das gleiche Ausgangsmaterial verdünnt mit der 32fachen Menge Lösung. AII/4 und AII/8 bedeutet Lungenparenchym eines gesunden Pferdes, in gleicher Weise verarbeitet und verdünnt wie AI. P bedeutet Pufferlösung (Zusammensetzung siehe S. 111). Anlage und Durchführung des Versuches sind in der Tabelle 1 dargestellt.

Das Resultat ist dem einer üblichen Komplementablenkung entgegengesetzt. Die Hämolyse ist bei gleichzeitiger Anwesenheit von Antigen und positivem Serum größer. Wir wollen diese Erscheinung als *paradoxe Hämolyse* bezeichnen.

Tabelle I Anlage und Durchführung von Versuch Abb. I.

| | A | B | C | D | E | F | G | H | I | K | L | M | N | O | P | Q | R | S | T | U | V | W | X | Y |
|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| S | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | - | - | - | - | 0,3 | 0,3 | - | - | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | - | - | - | - | 0,3 | - | - | - |
| AI/16 | 0,2 | 0,2 | - | - | 0,2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,2 | - | - | - | - | 0,2 | - | - |
| AI/32 | - | - | - | - | - | - | 0,2 | 0,2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| ‡ AII/16 | - | - | 0,2 | 0,2 | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 0,2 | 0,2 | - | - | - | - | - | - | 0,2 | - |
| AII/32 | - | - | - | - | - | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 | 0,5 | 0,5 | - | - | - | - | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,7 | 0,8 | 0,8 | - |
| P | - | - | - | - | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | - | - | - |
| ‡ K/250 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | 0,5 | - | - | 1,0 |

Alle Proben, durch Rollen gemischt, zu Eisschranktemperatur (4 °C) um 17.35 Uhr, am folgenden Tage um 11.50 Uhr zu Zimmertemperatur.

Kaninchen-Amboceptor (Titer 1/4000 verdünnt mit der gleichen Menge Glycerin bei etwa 4 °C aufbewahrt) verdünnt mit Pufferlösung 1/25.

Schafblut (frisch gewaschen) 2% Suspension in Pufferlösung (pH 7,4).

Mischung Amboceptor-Schafblut zu gleichen Teilen, zugesetzt je 0,5 ml um 12.30 Uhr.

Wasserbad siebenundzwanzig °C 1 1/2 Std. von 12.32 bis 14.02 Uhr, dann zentrifugiert 20 Min. bei etwa 3300 rpm. Sedimente mit je zwei Tropfen Aqua dest. und dann mit 1,7 ml Aqua dest. gelöst. Lösungen colorimetriert im Spekter-Absorptometer (Blaugrün- und Grünfilter). Je vier Messungen. Geben Menge des im Hämolyseversuch ungelöst gebliebenen Hämoglobins.

Abkürzungen: S = Serum, AI = positives Antigen, AII = «negatives Antigen» (gesunde Lunge), P = Pufferlösung, K = Komplement.

Wenn auch diese Erscheinung auf positive Sera beschränkt schien, war sie lange nicht bei allen positiven Seren zu beobachten. Viele Sera, die sie zeigten, wiesen besondere Eigenschaften auf. Meist hatte bei ihnen der Zusatz von Lungenbrei (ob I.A.-krank oder gesund) eine erhebliche Verminderung der Hämolyse zur Folge, andere besaßen schon ohne Antigenzusatz eine starke Eigenhemmung (wie im Versuch der Abb. 1).

Die erstgenannte unspezifische Serumeigenschaft gestattete einen Vergleich zwischen positiven und negativen Seren.

Bei positiven und negativen Seren, die nach Zusatz von 0,2 ml der Verdünnung 1/16 von gesundem Lungenparenchymbrei («neg. Antigen») eine Verminderung der Hämolyse um $\geq 0,15$ Blendenmasseneinheiten im Spekker Absorptiometer oder, in späteren Versuchen, $\geq 50\%$ Absorption von λ 558 im Beckman Spektrophotometer aufwiesen, war der Quotient:

| | | |
|---|------------------|---|
| ungelöstes Hämoglobin bei Zusatz von negativem Antigen | weniger durch | ungelöstes Hämoglobin bei Zusatz von positivem Antigen |
| ungelöstes Hämoglobin bei Zusatz von negativem Antigen | weniger | ungelöstes Hämoglobin ohne Antigenzusatz |

bei allen von sieben negativen Pferden $< 0,4$
bei sieben von acht positiven Pferden $> 0,4$

Da es sich bei den positiven Pferden vorwiegend um klinisch gesunde Virusträger handelte, bei denen besondere unspezifische Serumveränderungen nicht zu erwarten waren, schien dieses Verhalten bemerkenswert. Trotzdem war damit zunächst nicht viel anzufangen, weil die geschilderten notwendigen Vorbedingungen bei mehr als der Hälfte aller Sera (ob positiv oder negativ) fehlten.

Gelegentliche Beobachtungen bei konservierenden Zusätzen von Toluol legten es nahe zu versuchen, die notwendigen Serumeigenschaften durch Zusatz verschiedener Stoffe (Toluol, Phenol, Kresole usw.) zu bewirken. Versucht wurden auch variierte Inaktivierungstemperaturen, ferner die Vorbehandlung der Sera statt durch Hitze mit Hilfe der Absorption mit sensibilisierten Schafblutkörperchen. Alle diese Bemühungen waren erfolglos.

Wir gingen dann dazu über zu versuchen, die für das Auftreten der erwähnten paradoxen Hämolyse notwendigen Serumeigenschaften durch Zusatz eines geeigneten negativen Serums einzuführen. Die weiteren Versuche wurden mit derartigen Hilfsseren durchgeführt.

Untersuchungen über das Auftreten der paradoxen Hämolyse bei Verwendung eines Hilfsserums

In zahlreichen Tastversuchen wurde eine möglichst zweckmäßige Versuchsanlage erarbeitet, die nun beschrieben werden soll:

Die Serumspender wurden besonders sorgfältig ausgelesen. Die *positiven Sera* wurden hauptsächlich von künstlich infizierten oder künstlich superinfizierten Pferden gewonnen, nachdem diese ins latente Stadium eingetreten waren. Es handelt sich namentlich um fünf derartige Pferde, die auch verschiedenartigen andern I.A.-Studien dienten. Das Ausgangsmaterial für die künstliche Infektion stammte von einem Halbblutpferd, «Pilatus», das spontan an schwerer, sehr häufig rezidivierender infektiöser Anämie erkrankt war und nach zweiundzwanzig (!) jeweils 4 bis 5 Tage dauernden Fieberanfällen mit Temperaturmaxima von 40 bis 41°C geschlachtet wurde. Makroskopischer und mikroskopischer Befund am Kadaver waren stark positiv.

Das Pferd «Rex» erhielt am 5. September 1951 den Mageninhalt von 25 *Anopheles plumbeus*-Weibchen, die an «Pilatus» gesogen hatten, i. v. am 7. September 1951 weitere 45 Mageninhalt i. v. und am 9. September 1951 noch einmal 27 Mageninhalt (Technik nach Lührs). Es stellte sich 14 Tage nach der letzten Übertragung ein Fieberanfall (bis 39,6°C) ein, der sechs Tage dauerte; 10 Tage später stieg die Temperatur wieder leicht an (bis 38,6) und schwankte während vierzehn Tagen um 38,3.

Am 18. Januar 1952 erhielt es 20cc Blut von «Pilatus» i. v., blieb aber fieberlos mit Ausnahme eines fieberhaften Respirationskatarrhs vom 24. bis 31. Mai 1952. Schon vor der ersten künstlichen Infektion zeigte das Pferd typische sublinguale Punktblutungen in geringer, aber nach unseren Erfahrungen schon dignostisch bedeutsamer Zahl (1, 4, 10, 5, 11, 4, 8, 7), war also offenbar schon infiziert. Nach dem ersten Fieberanfall waren die typischen sublingualen Punktblutungen in größerer Zahl zugegen (10, 60, 90, 110, 45, später während Jahren wieder in geringerer Zahl, zum Beispiel drei Jahre später 15, 8, 4, 33, 5, 0, 14, 3, 9, 10, 15, 14, 9, 5, 24.

Es sei hier bemerkt, daß I.A.-infektionsfreie Tiere nur selten 1 bis 2, meist aber gar keine typischen sublingualen Punktblutungen aufweisen. Es müssen aber Traumen und Stomatitis sorgfältig ausgeschlossen werden (vgl. die Angaben bei [51–53], die noch ergänzt werden sollen).

Das Pferd «Gazelle» kam aus einem i.A.-Bestand mit der Anamnese, daß es 1947 und 1948 je einen schweren Fieberanfall durchgemacht habe. Wir beobachteten einen typischen Fieberanfall vom 24. bis 29. April 1948, mit Temperaturen bis zu 41°C und bis zu 900 typischen sublingualen Punktblutungen. In der Folge trat zuerst etwa jeden Monat eine kleine Temperaturerhöhung auf (38,5, 38,7), später noch weniger häufig. Der sublinguale Befund blieb mäßig positiv. So wurden am 21. September 1956 und folgenden Tagen je 110, 70, 60, 120 und in der Zeit vom 30. Mai 1963 bis Ende 1964 je 5, 29, 14, 23, 9, 3, 1, 19, 0, 3, 3 typische sublinguale Punktblutungen festgestellt.

«Stichelfuß» und «Groß» kamen gleichzeitig aus einem Bestand, in dem I.A. gelegentlich evident war. Sie wurden am 11. August 1952 der kreuzweisen Blutübertragung unterworfen (je 20 ml i. v.) mit negativem Ergebnis. (Kreuzübertragungsversuch nach Fortner [13].)

«Groß» erhielt am 1. Oktober 1952 50 ml Blut von «Gazelle» i. v. mit geringen Spätfolgen, je ein Zweitagefieber, beide Male bis 39,1° am 18./19. Januar 1953, und am 9./10. Februar 1953. Am 20. Februar 1953 erhielt er i. v. 50 ml Blut von Pferd «Rex», worauf am 12. und 13. März 1953 ein Fieberschub bis 39,2 beobachtet wurde. Der sublinguale Befund war seit Beginn der Beobachtung (14. Juni 1952) sowohl vor wie nach den Injektionen unverändert mäßig positiv (um 10 bis 20 herum). 1953 wurde eine Pharyngitis festgestellt. Erst im Januar 1954 trat ein I.A.-verdächtiger Fieberanfall auf (Temperatur bis 40,7 und Anstieg des sublingualen Befundes auf 64,60, ebenso am 20. bis 22. März 1954 wiederum bis 40,7 und bis 160 sublingualen Punktblutungen, ein weiterer typischer Fieberanfall am 20. bis 23. Mai 1954 mit Zunahme der Punktblutungen auf 1000, 1100, dann blieb die Temperatur meist normal und die Punktblutungen sanken in einem Jahr auf etwa 10; nur selten stieg die Temperatur auf 38,5°, einmal (28. bis 30. Oktober 1956) auf 39°, aber ohne Anstieg des Sublingualbefundes. Weitere symptomlose Fieberzacken am 18. bis 24. November 1957 und

1. bis 4. November 1963 (je bis 39,4 bzw. 40,0). Vom 29. Juni bis 3. Juli 1964 machte das Pferd eine staupeartige Erkrankung mit Ödemen, aber ohne deutliche Schleimhautveränderungen durch.

«Stichelfuß» machte während der Vorbeobachtung eine Druse durch. Die schon erwähnte Injektion von 20 ml Blut von «Groß» am 11. August 1952 blieb ohne Effekt. Er erhielt am 1. Oktober 1952 50 ml Blut von «Gazelle» i.v. Vorher wie nachher stieg die Temperatur gelegentlich bis 38,5. Die Zahl der sublingualen Punktblutungen schwankte schon vor der ersten Injektion um 10 herum. Vier Monate nach der letzten Injektion stieg sie auf 100, 100, 200, 220, 90, und am 19. Februar 1953 wurden immer noch 110 gezählt. Am 20. Februar 1953 erhielt er 50 ml Blut von «Rex» i.v. Die Temperatur blieb aber andauernd normal. Erst am 28. Januar 1955 wurde ein Zweitagesfieber bis 40° beobachtet, aber ohne Anstieg der Punktblutungen. In der Folge wurden Temperatursteigerungen, bis 40°, selten beobachtet. Am 9. bis 12. September 1964 trat ein staupeartiges Fieber (bis 39,8°) auf, mit großem Schlauchödem, aber ohne deutliche Schleimhautveränderungen an Auge und Maul. Der sublinguale Befund sinkt 1953 allmählich von 60 auf 10 bis 20, liegt 1954 und 1955 um 10 herum, später, noch vor dem staupeartigen Fieberanfall, war er leicht aber deutlich positiv (3, 1, 5, 14, 3, 4, 4, 8, 5), nach jenem Fieberanfall andauernd negativ (0, 0, 0, 0, fraglich 1, 0, 0, 0, 1, 0, 0, 0, 0) und ist bisher so geblieben.

«Eudora», Halbblutstute mit unsicherer Anamnese und gering positivem Sublingualbefund, erhielt am 19. Juli 1954 140 ml unverdünntes Serum von «Groß» i.v., am 6. September 1956 50 ml Serum von «Stichelfuß» i.v. Die Körpertemperatur war nur selten leicht erhöht, einmal bis 38,7 am 19. und 20. September 1956. Vom 13. bis 17. Juli 1962 wurde ein Fieberanfall bis 40° mit staupeartigen Ödemen ohne Vermehrung der sublingualen Punktblutungen beobachtet. Eine ähnliche Erkrankung zwischen 22. und 29. Juni 1964 hatte wiederum keinen Anstieg des Sublingualbefundes zur Folge. Die Zahl typischer sublingualer Punktblutungen schwankt in ziemlich engen Grenzen um 10 herum, selten bis 45. Anfangs 1965 schwankte sie um 3 bis 4 herum (1, 8, 3, 4, 4, 3, 0, 2, 13, 4).

Neben diesen latenten Spendern wurden vereinzelt auch ausgesprochen chronische klinische Fälle verwendet, bei denen die klinische und auch die pathologisch anatomische und histologische Diagnose gesichert schien.

Bei der Beschaffung der negativen Seren stellten wir auf drei Hauptkriterien ab:

1. Haltung in der südlichen Nicht-Anämiezone (Berner- und Waadtländer Oberland, vgl. [55]), wo selbst zur Zeit der stärksten Verseuchung des Landes nur selten, wohl eingeschleppte, Fälle registriert wurden. Die Pferde mußten dort geboren sein von Stuten, die schon dort geboren waren.

2. Negativer Sublingualbefund.

3. Unverdächtige Anamnese.

Die Versuchskomponenten

1. «Antigen». Lungenparenchym (das «positive» von schweren subakuten Fällen mit massiven histologischen Lungenveränderungen, das «negative» von gesunden Pferden) wird möglichst unter Weglassen des Bindegewebes des Interstitiums zerschnitten und mit einer elektrischen Fräse zu Brei verarbeitet, der tiefgefroren bei etwa -20° aufbewahrt wird. 15 ml Brei werden mit der gleichen Menge 0,85% Kochsalzlösung verdünnt, dann 30 Minuten einer Temperatur von 58° im Wasserbad ausgesetzt. Nach Zugabe von weitem 30 ml NaCl-Lösung wird die Aufschwemmung mit

einem Glasschliffmörser nach Weigl (konisch unten, bauchig oben, eingeschliffener Stöpsel) in kleinen Portionen verrieben und das sich zusammenballende Bindegewebe entfernt. Die Aufschwemmung wird mit 0,5% Toluol versetzt und tiefgefroren aufbewahrt (etwa -20°). Nach dem Auftauen wird sie in einem elektrisch getriebenen Glashomogenisator (rasch rotierender geschliffener Zylinder in einem Glasrohr) behandelt, dann die zu verwendende Portion bei kleinem Luftraum in einem Wechselstromschüttler (Mickle) mit kleinen Glasperlen geschüttelt. Diese Suspension wird während einigen Tagen wiederholt tiefgefroren und aufgetaut und unmittelbar vor der Verwendung im Versuch noch einmal 15' im «Mickle» geschüttelt. Kurz gesagt wird also das Antigen möglichst feindispers, aber ganz, dem Serum zugesetzt.

In Tastversuchen wird bei gegebenem Hilfsserum und andern konstanten Bedingungen die erforderliche Antigenmenge (in der Regel 0,15 bis 0,2 ml der Parenchymverdünnung 1/4) ermittelt.

2. Pufferlösung (Brooksby [7]). Stocklösung: 5,74 g 5,5 Diäthylbarbitursäure werden in 500 ml heißem, glasdestilliertem Wasser gelöst und dann zugefügt: 3,75 g diäthylbarbitursaures Na, 1,68 MgCl₂, 6H₂O, 0,28 CaCl₂, 85,0 NaCl, das Ganze auf 2000 ml ergänzt, 20 Min. bei 1 Atm. sterilisiert. Pufferversuchslösung: 200 ml Stocklösung werden auf 1000 ml verdünnt, wie angegeben sterilisiert und ebenfalls im Eisschrank aufbewahrt.

3. Schafblut steril entn. zum Beispiel 50 ml mit 60 ml 3,8% Natriumzitratlösung vermischt, zu je 10 ml abgefüllt bis 14 Tage im Eisschrank aufbewahrt. Unmittelbar vor Gebrauch viermaliges Waschen mit 0,85% NaCl.

4. Komplement. Käufliches¹ lyophilisiertes Meerschweinchenserum wird gelöst und unter CO₂ tiefgefroren aufbewahrt.

5. Amboceptor. Käufliches Antischafblutkaninchen Serum, Titer 1/4000 mit der gleichen Menge Glycerin vermischt, im Eisschrank aufbewahrt.

6. Pferdesera. Aseptische Blutentnahme. Gutes Koagulierenlassen (30 bis 60 Min. bei Zimmertemperatur vor jedem Bewegen und Transport). Serum durch Zentrifugieren klären, in 2-ml-Ampullen abgefüllt in Eisschrank (etwa 4°). Ein bis wenige Tage nach der Gewinnung 30 Min. in 60° Wasserbad «inaktivieren», im Eisschrank aufbewahren.

Die Sera sind erst nach einer Lagerung von drei Monaten prüfbar. Die meisten positiven Seren haben erst nach einer gewissen Alterung eine Δ AII-AI von charakteristischer Größe, vorher kann sie klein sein wie bei negativen Seren. Die künstliche Beschleunigung dieser Alterung ist noch nicht gelungen.

7. Glaswaren werden chemisch rein und steril verwendet.

8. Pipettieren mit größtmöglicher Genauigkeit.

Die Versuchsanlagen

Tabelle 2 Komplementtitration

| 50 ml Erlenmeier | a | b | c | d |
|---|------|------|------|---|
| Prüfserum ml | 0,53 | 0,53 | 0,53 | — |
| Puffer ml | 0,15 | 0,15 | 0,15 | — |
| Hilfsserum oder Puffer ml | 0,45 | 0,45 | 0,45 | — |
| 25 Minuten bei Zimmertemperatur | | | | |
| Puffer ml | 2,0 | 2,0 | 2,0 | — |
| in Eisbad über Nacht. Fortsetzung wie in Tabelle 5. | | | | |

¹ Schweiz. Serum und Impfinstitut Bern und Behringwerke Marburg.

1. Titration des Komplements. Vor jeder Verwendung einer neuen Komponente muß mit Serum, aber ohne Antigen, die Komplementmenge ermittelt werden, die etwa 30 bis 60% Hämolyse ergibt (Tab. 2).

2. Prüfung eines Serumpaars ohne Hilfsserum (Tab. 3).

Tabelle 3 Prüfung eines Serumpaars ohne Hilfsserum

| 50 ml Erlenmeier | a | b | c | d | e-h ¹ | i |
|---|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|---|
| positives Serum | 0,53 | 0,53 | — | — | | — |
| negatives Serum | — | — | 0,53 | 0,53 | | — |
| positive «Antigen- suspension | 0,2 ² | — | 0,2 ² | — | | — |
| negative «Antigen- suspension» | — | 0,2 ² | — | 0,2 ² | | — |
| 30 Minuten bei Zimmertemperatur | | | | | | |
| Puffer ml | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,45 | | |
| Puffer ml | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | | |
| in Eisbad über Nacht. Fortsetzung wie in Tabelle 5. | | | | | | |

¹ e-h wie a-d.

² oder auch 0,15, vgl. Bemerkung S. 111.

3. Prüfung eines Serums auf Brauchbarkeit als Hilfsserum (Tab. 4).

Tabelle 4 Hilfsserumsuche

| 50 ml Erlenmeier | a | b | c | d | e-h ¹ | i |
|--|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------|
| positives Serum | 0,53 | 0,53 | — | — | | — |
| negatives Serum | — | — | 0,53 | 0,53 | | — |
| positive «Antigen- suspension» | 0,2 ² | — | 0,2 ² | — | | — |
| negative «Antigen- suspension» | — | 0,2 ² | — | 0,2 ² | | — |
| 30 Minuten bei Zimmertemperatur | | | | | | |
| mögliches Hilfsserum | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,45 | | — |
| 25 Minuten bei Zimmertemperatur | | | | | | |
| Puffer ml | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | | 6,18 |
| im Eisbad über Nacht (etwa 14 Stunden). Fortsetzung wie in Tabelle 5. | | | | | | |

¹ e-h wie a-d, jedoch mit anderem möglichem Hilfsserum oder auch mit variierter Antigenmenge.

² oder auch 0,15, vgl. Bemerkung S. 111.

4. Versuche mit einem brauchbaren Hilfsserum (Prüfung des Systems) Tab. 5.

Tabelle 5 Prüfung des Systems

| 50 ml Erlenmeier | a | b | c | d | e | f | g-k ¹ | l-m ¹ | n-q ¹ | r |
|-----------------------------------|------|------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----|
| Positives Serum | 0,53 | — | 0,53 | 0,53 | — | — | | | | — |
| Negatives Serum | — | 0,53 | — | — | 0,53 | 0,53 | | | | — |
| Positives «Antigen» | — | — | 0,2 ² | — | 0,2 ² | — | | | | — |
| Negatives «Antigen» | — | — | — | 0,2 ² | — | 0,2 ² | | | | — |
| Pufferlösung | 0,2 | 0,2 | — | — | — | — | | | | 6,2 |
| 30 Minuten bei Zimmertemperatur | | | | | | | | | | |
| Hilfsserum | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,45 | 0,45 | | | | — |
| 25 Minuten bei Zimmertemperatur | | | | | | | | | | |
| Puffer ml | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | 2,0 | | | | — |
| Eisbad über Nacht etwa 14 Stunden | | | | | | | | | | |
| Komplementverdünnung ml | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | 3,0 | | | | — |

¹ g-k wie c-f l-m wie a-b n-q wie c-f ² oder 0,15

30 Minuten später 0,05 Ambozeptor mit 25 ml Puffer mischen. Dieser Mischung dürfen als Schutz gegen störende Bakterienvermehrung 0,125 mg Terramycin zugesetzt werden.

Die Ambozeptorlösung wird nun mit der gleichen Menge Schafblutaufschwemmung vermischt. Vor dem Zusatz wird die Schafblutaufschwemmung (0,5 ml Schafblutsediment in 25 ml Puffer) kolorimetriert und so verdünnt, daß sie im Beckman Spektrophotometer 510% Absorption bei λ 558 ergibt.

Ambozeptor-Schafblutmischung werden 15 Min. bei Zimmertemperatur und dann 10 Min. im Eisbad gelassen.

Zusatz von 3 ml Mischung zu jedem Kölbchen (alles im Eisbad), dann Wasserbad 32°C während 1½ Stunden, dann alle Kölbchen gleichzeitig ins Eisbad.

Von jedem Kölbchen zwei Zentrifugengläser mit je 4 ml beschicken (alles im Eisbad). Zentrifugieren aller Gläser 30 Minuten mit etwas mehr als 3000 rpm. Überstehende Lösung weggießen.

Sedimente mit je 3,6 ml aqua bidest. lösen (Glasstäbe, Schüttler). Nach guter Lösung 30 Min. bei etwas über 3000 rpm zentrifugieren.

Überstehende Hämoglobininlösung im Spektrophotometer (Beckman bei λ 558) kolorimetrieren (je zwei, eventuell bis fünf Bestimmungen bis zur Gleichförmigkeit der Werte). Graphische Aufzeichnung.

Variante: Dieser Versuchsplan ergibt sechs Parallelproben mit und 4 Parallelproben ohne Antigen. Wenn mit der gleichen Zahl von Behältern 8 Parallelproben erhalten werden sollen, werden die Proben ohne Antigen weggelassen und an Stelle von a-b und l-m je eine weitere Reihe wie c-f eingeschaltet.

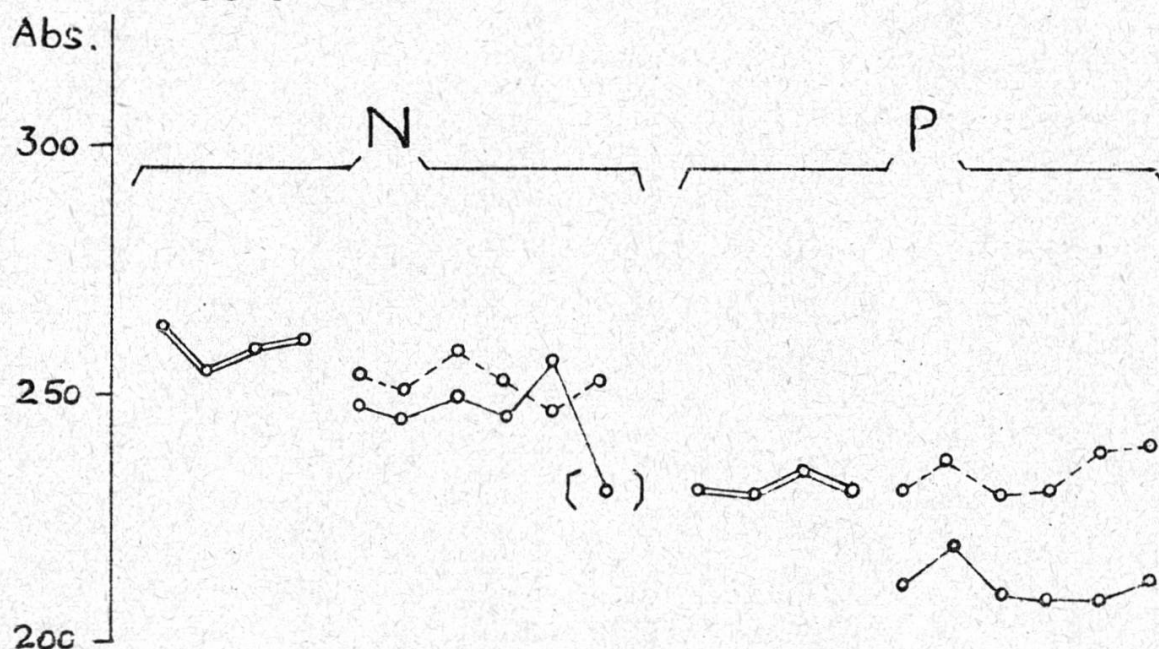
Die Auswertung der Prüfungsergebnisse

Sind die Absorptionswerte der Parallelproben (= identischen Proben) im Vergleich zu der zu ermittelnden Abweichung von Vergleichsproben wenig verschieden, dann kann ein arithmetischer Mittelwert verwendet werden. Liegen nur vereinzelte grobe Abweichungen vor, die als solche ohne

weiteres aus der graphischen Darstellung erhellen oder rechnerisch zu ermitteln sind, dann können diese bei Berechnung des Durchschnittes weggelassen werden (Prinzip von Chauvenet, Documenta Geigy [8]). Liegen aber mehrere Abweichungen vor, dann ist das Prüfungsergebnis unbrauchbar. (In Tabelle 6 ist auch die Signifikanz der beobachteten Differenzen angegeben, was aber natürlich über die Ursachen der Differenz noch nichts aussagt.)

Die im Spektrophotometer gemessenen Absorptionswerte sind das Maß für die vom Komplement nicht gelösten roten Blutkörperchen. Wir erhalten mit einem 3 bis 6 (bis 10) Monate alten Serum und zwei verschiedenen Antigenpräparaten, einem positiven AI und einem negativen AII zwei verschiedene Absorptionswerte. Die Differenz dieser Werte (Absorption AII

Abb. 2 Prüfungsgang 780



Legende:

N = Serum 11074 eines infekitionsunverdächtigen Pferdes.

P = Serum 11100 des künstlich infizierten, seit Jahren latenten Pferdes «Gross».

— Serum ohne Antigen.

--- Serum mit negativem Organmaterial 8876 (AII).

— Serum mit positivem Organmaterial von schwerem I.A.-Fall 9755 (AI).

Hilfsserum für alle Proben das negative Serum 10926.

Abs. Absorptionswerte ‰ des Spektrophometers. Wird der offensichtlich irrige eingeklammerte Wert weggelassen, so ergibt sich für das negative Serum eine Differenz AII/AI von 4, für das positive Serum von $22\frac{1}{2}$.

Für den offensichtlich irrigen Wert beträgt $\frac{x-\bar{x}}{s}$ 1,76. Nach Chauvenet [8] kann hier bei

6 Parallelproben ein Wert $\frac{x-\bar{x}}{s}$ über 1,73 weggelassen werden. Für alle andern Parallelproben

liegt dagegen $\frac{x-\bar{x}}{s}$ bedeutend unter 1,73.

Die Differenzen von Probenpaaren AII/AI betragen beim negativen Serum 6, 6, 9, 7, -9 und beim positiven Serum 18, 17, 20, 22, 30, 30.

minus Absorption AI) bezeichnen wir als Δ AII-AI. Dieser Wert ist für ein bestimmtes, auch genügend gealtertes Serum nicht konstant, sondern hängt von Art und Zustand der andern Komponenten (Antigene, Hilfsserum usw.) ab. Einen für ein bestimmtes Serum charakteristischen Wert erhält man erst, wenn man die Δ AII-AI des zu prüfenden Serums im selben Versuch mit der Δ AII-AI eines negativen oder positiven Serums vergleicht. Die Differenz Δ AII-AI ist dann beim positiven Serum deutlich größer als beim negativen Serum (vgl. Abb. 2 und Tab. 6).

Tabelle 6 Ergebnisse

| Protokoll | Serumspender | Differenz der Absorptionswerte des ungelöst gebliebenen Hämoglobins bei negativem Antigen – bei posit. Antigen ¹ | p D | Hilfs-serum |
|---|--|---|-------------------|-------------|
| 780 | latentinfiz. «Groß I» unverdächtig E. 30 | 22,3 3,8 | < 0,001 | 10926 |
| 834 | latent infiz. «Groß II» unverdächtig «Käthi» Knu. | 17,0 -7,2 | < 0,001 | 11892 |
| 838 | latent infiz. «Eudora I» unverdächtig «Käthi» Zjö | 34,6 15,0 | < 0,01 > 0,001 | idem |
| 844 | latent infiz. «Eudora I» unverdächtig «Arlette» Bü | 31,2 15,0 | < 0,001 | idem |
| 845 | latent infiz. «Eudora I» unverdächtig «Dori» Hä | 50,6 37,2 | < 0,02 > 0,01 | idem |
| 847 | latent infiz. «Eudora I» unverdächtig «Nera» Re | 49,6 29,9 | < 0,001 | idem |
| 848 | latent infiz. «Eudora I» unverdächtig «Nera» Re | 51,5 32,3 | < 0,001 | idem |
| 854 | latent infiz. «Eudora I» unverdächtig «Nera» Re | 35,8 14,6 | < 0,001 | idem |
| 856 | latent infiz. «Eudora I» latent infiz. «Gazelle I» | 72,7 57,3 | < 0,01 > 0,001 | idem |
| 859 | latent infiz. «Gazelle I» unverdächtig «Nera» Re | 43,3 27,4 | < 0,001 | idem |
| 871 | latent infiz. «Gazelle I» unverdächtig «Dori» Hä | 49,4 20,9 | < 0,001 | 11894 |
| 872 | früher infiz. «Stichelfuß» unverdächtig «Dori» Hä | 21,5 30,3 | < 0,7 > 0,6 | idem |
| «Stichelfuß» war früher infiziert, dann latent mit positivem Sublingualbefund und serologisch positiv, seit Herbst 1964 aber andauernd negativer Sublingualbefund, wie andern Orts näher ausgeführt, und serologisch negativ. | | | | |
| 888/890 | latent. infiz. «Gazelle II» «Stichelfuß» (siehe oben) | 26,9 -5,3 | < 0,001 | 11395 |

¹ Unter Weglassung von Einzeldaten, die sich aus der Berechnung nach Chauvenet [8] als atypisch erwiesen, wurden die arithmetischen Mittel berechnet. pD gibt die Signifikanz der Differenz der zwei Reihen (je von einem Serum) der ermittelten Differenzen AII-AI von Einzelprobenpaaren (vgl. Abb. 2).

¹ Seren verschiedener Entnahmen vom gleichen Spender sind durch römische Ziffern gekennzeichnet.

Ergebnisse

Im Laufe der Jahre sind bei ständig variiertem Technik, namentlich in bezug auf Vorbehandlung und Aufbewahrung der Seren und Organpräparate, der Mengenverhältnisse, Zeiten und Temperaturen immer wieder deutliche gleichsinnige Ergebnisse erhalten worden.

Wir geben aber im folgenden nur einige Ergebnisse aus letzter Zeit wieder, als die Reproduzierbarkeit sich derart verbessert hatte, daß es ratsam schien, bei praktisch unveränderter Technik zunächst die Frage der grundsätzlichen Bedeutung der beobachteten Erscheinung für das Studium der infektiösen Anämie weiter zu klären.

In der Abb. 2 ist ein Versuch mit 6 Parallelproben dargestellt. In der Tab. 6 sind die Ergebnisse einer Reihe von Serumpaaren wiedergegeben.

Diskussion

Die Natur der beschriebenen Erscheinung ist uns nicht bekannt. Wenn es auch wahrscheinlich ist, daß es sich um eine spezifische Reaktion handelt – man könnte an eine Hemmstoffbindung an den Antigen-Antikörperkomplex denken), so ist doch die Spezifität im Sinn einer Virusantigen-Antikörperreaktion noch nicht sicher erwiesen. Der Einfluß der Herkunft des verwendeten Lungenpräparates als «Antigen», ob von einem schweren I.A.-Fall oder einem gesunden Pferd, ist kein genügender Beweis, weil sich das positive Lungenmaterial auch durch seinen großen Gehalt an mononukleären Zellen stark vom negativen Material unterscheidet.

Für die Spezifität spricht das Fehlen einer Beziehung zur Senkungsgeschwindigkeit. Unter den negativen Seren befinden sich einige, die von Blut mit deutlich erhöhter Senkungsgeschwindigkeit stammen, unter den positiven stammen die meisten von Blut mit normaler Senkungsgeschwindigkeit.

Es wurde im Laufe der Untersuchungen auch immer deutlicher, daß Pferde mit andauernd negativem Sublingualbefund auch serologisch negativ waren, dagegen Pferde mit wiederholt positivem Sublingualbefund auch serologisch positiv.

Unsere künstlich infizierten Hauptspender (vgl. S.109 f.) befanden sich in sehr gutem Ernährungszustand und hatten, als sie benützt wurden, meist normale Senkungsgeschwindigkeit und gute Blutwerte. Wir haben in Blutproben, die sich serologisch positiv verhielten, folgende Senkungsgeschwindigkeiten (mm/15 Min. in 35 cm langen Pferdeblutsenkungsröhren) registriert; wobei nach dem Zustand der Spender Exsikkose ausgeschlossen werden kann: 2, 2, 3, 3, 5, 6, 8, 9, 12, 13, 16, 21, 25, 25 bei latenten Spendern und 64 bei einem chronisch kranken Pferd. Blutproben, die serologisch negative Sera lieferten, wiesen folgende Senkungsgeschwindigkeiten auf: 3, 7, 7, 7, 8, 8, 9, 10, 11, 11, 12, 16, 17, 17, 17, 20, 31, 31.

Das hier geschilderte Verfahren ist noch in der Entwicklung begriffen.

Als Routinemethode kann es aus verschiedenen Gründen in der heutigen Form nicht verwendet werden:

Die Seren sind erst nach dreimonatiger Aufbewahrung im Eisschrank prüfbar. Künstliche Beschleunigung des Alterns ist uns bisher nicht gelungen.

Das Verfahren ist recht zeitraubend. Schon die Ermittlung eines brauchbaren Hilfsserums und der zweckmäßigen Antigenmenge kann 2 bis 3 Wochen beanspruchen. Ist diese Grundlage einmal geschaffen, so braucht die Prüfung eines Serums etwa drei Stunden Arbeit, verteilt auf zwei Halbtage (für die Einstellung der Komplementkonzentration) und den größten Teil eines Nachmittages und des folgenden Tages für die Prüfung selber.

Wegen der Kleinheit der gemessenen Differenzen ist das Verfahren störungsempfindlich und verlangt darum größte Sorgfalt und eine genügende Zahl von Parallelbestimmungen, wie schon ausgeführt.

Trotz dieser Nachteile erscheint die weitere Bearbeitung angezeigt:

Es handelt sich um eine wohl noch unbekannte serologische Erscheinung, deren biochemische Klärung grundsätzliches Interesse beansprucht. Nach den vorliegenden Erfahrungen erscheint das Verfahren für den Nachweis latenter Infektionen empfindlicher als die sonst dafür verwendeten. Es ist wahrscheinlich, daß die weitere Bearbeitung Beobachtungen liefern wird, die gestatten, es auch einfacher zu gestalten.

Als Forschungsinstrument hat das Verfahren schon wertvolle Hilfe geleistet.

Zusammenfassung

Es wird ein Zwischenbericht über serologische Studien bei latenter und chronischer infektiöser Anämie gegeben. Bei Verwendung einer Technik der Komplementablenkung wurde eine eigenartige charakteristische Erscheinung festgestellt. Die Differenz zwischen Hämolysegrad in Anwesenheit von negativem Antigen (gesunde Lunge) und Hämolysegrad in Anwesenheit von positivem Antigen (Lunge mit schweren Inf.-anämieveränderungen) war bei positiven Seren deutlich größer als bei negativen. Im Gegensatz zur Komplementablenkungsmethode war die Hämolyse bei Anwesenheit von positivem Serum und positivem Antigen verstärkt.

Für das Zustandekommen der Erscheinung ist ein besonderer Serumbestandteil notwendig, der in Form eines geeigneten negativen Hilfsserums zugesetzt wird.

Die Methode ist in der vorliegenden Form als Routinemethode nicht geeignet, weil zu umständlich und nur mit gealterten Seren ausführbar. Als Forschungsinstrument kann sie schon jetzt Dienste leisten.

Résumé

Un rapport intérimaire est donné sur des recherches sérologiques dans l'anémie infectieuse équine latente ou chronique. L'application de la méthode de déviation du complément a permis de constater un phénomène caractéristique.

La différence du degré d'hémolyse en présence de tissu pulmonaire normal (antigène négatif) et du degré d'hémolyse en présence de tissu pulmonaire de cas graves de I. A. (antigène positif) est nettement plus grande dans les séra positifs que dans les séra négatifs.

Contrairement au résultat d'une déviation de complément ordinaire l'hémolyse est plus forte en présence de séra positifs et antigènes positifs.

Le phénomène dépend d'un facteur présent dans certains séra et il est nécessaire qu'il soit ajouté au système sous forme d'un sérum négatif pourvu de cette propriété.

Dans sa forme actuelle la technique décrite n'est pas utilisable comme méthode de routine, étant trop compliquée et applicable seulement aux séra conservés pendant quelque temps. Elle s'est montrée utile comme instrument de recherche.

Riassunto

Si dà un rapporto provvisorio sulle ricerche sierologiche nell'anemia infettiva latente o cronica degli equini. L'applicazione del metodo di deviazione del complemento ha permesso di accertare un fenomeno caratteristico.

La differenza del grado di emolisi in presenza di tessuto polmonare normale (antigene negativo) e del grado di emolisi in presenza di tessuto polmonare di casi gravi (antigene positivo) è nettamente più grande nei sieri positivi che in quelli negativi.

Contrariamente al risultato di una deviazione di complemento, l'emolisi è più forte in presenza di sieri positivi e antigeni positivi. Il fenomeno dipende da un fattore presente in alcuni sieri ed è necessario che sia aggiunto al sistema sotto forma di un siero negativo, provvisto di questa proprietà.

Nella forma attuale la tecnica descritta non è sfruttabile nella pratica: è troppo complicata ed è applicabile solamente ai sieri conservati da qualche tempo. Si è rivelata utile come strumento di ricerca.

Summary

An interim report is given on serological studies in latent and chronic infectious anemia of horses.

The application of a complementfixation technique has led to the discovery of a peculiar characteristic phenomenon.

The difference between degree of hemolysis in the presence of negative antigen (healthy lung tissue) and the degree of hemolysis in the presence of positive antigen (lung tissue from a severe case of infectious anemia) is distinctly greater in positive than in negative sera.

Contrary to the result of an ordinary complementfixation hemolysis is stronger in the presence of positive serum and positive antigen.

A special serumfactor being necessary this has to be added in the form of a suitable negative, "adjuvant serum".

The method in its present form is not suitable for routine work being too laborious and only applicable to sera after a period of ageing. It has proved useful in research.

Literatur

- [1] Altara, Serra und Guarini: Die Anwendung der Komplementablenkungsmethode in der Diagnostik der infektiösen Anämie der Einhufer. Monatshefte für Tierheilkunde 5, 397 (1953). – [2] Ambrosino, Liberatori et Guarini: Fractionnement par relargage des sérums de chevaux atteints d'anémie infectieuse et caractérisation des fractions ayant un pouvoir antigène et anticorps. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 200 (1956). – [3] Andrejevskij: Einige Angaben über die Immunität bei infektiöser Anämie der Pferde. Sov. Vet. 16 (1939). 25 zit. n. Jahr. ber. f. Vetmed. 67, 612 (1940). – [4] Balozet: Effet de réinoculations chez l'âne du virus de l'anémie infectieuse. C. R. Soc. Biol. Paris 119, 160 (1935). – [5] Beller K. und Traub E: Untersuchungen über die ansteckende Blutarmut der Pferde (Immunitätsversuche) Monatsh. f. prakt. Tierhklde 193, 1951. – [6] Böhm O.: Apréciation de la méthode de diagnostic sérologique de l'anémie infectieuse des équidés d'après Altara, Serra,

- Guarini. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 279 (1956). – [7] Brill J.: Diagnostic de l'anémie infectieuse des solipedes. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 234 (1956). – [8] Brooksby J.B.: The technique of complementfixation in foot and mouth disease research. London. H.M. Stationn. Office 1952. – [9] Documenta Geigy. Scientific tables. 5th Ed., Basel 1956. – [10] Dreguss M.: Hämagglutination of chicken cells by serum of horses infected with the virus of infectious anemia. Vet. Ext. Quarterly Univ. of Pennsylvania nr 116, 3 (1949). – [11] Dreguss and Lombard. Experim. Studies in equine infectious anemia University of Pennsylvania Press 1954. – [12] Fasciati A.: Untersuchungen über die Brauchbarkeit der Konglutinationsprobe in der Diagnostik der infektiösen Anämie der Pferde. Diss. Bern 1953. – [13] Fortner J.: Der Stand der Erkenntnisse über die infektiöse Anämie der Einhufer. Deutsch. tier. Woch. 49, 1939. – [14] di Giuseppe e Restani: La precipitazione in gel di Agar per il virus della hepatite infettiva del cane. Vet. Ital. 10, 70 (1959). – [15] Goldie H.: Recherches sur l'alexine et les substances alexiques du sérum du cheval. C.R. Soc. Biol. 121, 1282 (1936). – Goldie H.: Les substances antialéxiques du sérum chauffé (hémolytique) et du sérum frais (alexique) C.R. Soc. Biol. 128, 364 (1938). – [17] Gratzl E.: Vergleichende Untersuchungen zwischen der serologischen Diagnostik der infektiösen Anämie der Equiden mittels der Komplementablenkungsreaktion nach Altara-Serra-Guarini und den klinischen Untersuchungsverfahren. Wien. Tier. Monatsschr. 159 (1956). – [18] Gratzl E.: Expériences sur le diagnostic sérologique de l'anémie infectieuse des équidés au moyen de la technique de déviation du complément de Serra et Guarini. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 231 (1956). – [19] Guarini G.: Sur la préparation de l'antigène de l'anémie infectieuse des équidés à partir de la rate infectée. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 190 (1956). – [20] Guarini, Ambrosino e Liberatori: Conservation du pouvoir antigène des sérums lyophilisés de chevaux atteints d'anémie infectieuse. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 194 (1956). – [21] Hempel J.: Beitrag zur Kenntnis der ansteckenden Blutarmut der Pferde. Zeitschr. f. Infekt.krankheiten der Haustiere 5, 361 (1909). – [22] Hirato K., Shinitzu K. and I., Kato Z., Miura S.: Studies on the serological diagnosis of equine infectious anemia. Report on Equine infectious anemia. Hokkaido Govt. 244, 1955. – [23] The Horse Adm. Bureau Tokyo 1914. Bericht über die Resultate einer Spezialkommission für Untersuchungen über die infektiöse Anämie in Japan. Ref. in Berl. Tier. Wochschr. 91, 136 (1916). – [24] Ishii S.: Equine infectious anemia. Advance in Vet. Med. 8, 283 (1963). – [25] Ishii, Tanaka et Sonoda: Diagnostic de l'anémie infectieuse des équidés. Résultats d'expériences effectuées en 1954–1955 Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 257 (1956). – [26] Ishii, Tanaka and Sonoda: Retest on the complement-fixation test of equine infectious anemia reported by Guarini et al. Exp. Rept. on Equine infectious Anemia Hokkaido Govt 43, 1955. – [27] Itikawa O.: Etude de la réaction de fixation du complément selon Altara-Serra-Guarini comme moyen de diagnostic de l'anémie infectieuse des équidés au Japon. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 239 (1956). – [28] Itikawa, Takanami et Shibata: Propriétés physicochimiques de l'antigène préparé selon la méthode d'Altara-Serra-Guarini pour la réaction de fixation du complément dans l'anémie infectieuse des équidés. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 243 (1956). – [29] Itikawa, Takanami et Shibata: Propriétés physicochimiques et d'Altara extrait par l'alcool. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 250 (1956). – [30] Kobayashi: Studies on the cultivation of equine infectious anemia virus in vitro. Virus Osaka 11, 177, 189, 249, zit. nach Ishii [22] (1961). – [31] de Kock G.: Further observations on the disease equine pernicious anemia 7th and 8th rept. Director of Veterinary Research Union of South Africa 38, 1920. – [32] Koljakoff I.E.: die infektiöse Anämie der Pferde (Übersetzung aus dem Russischen) 1940. – [33] Lehnert E.: Remarques sur la méthode de fixation du complément modifiée par Altara-Serra-Guarini, destinée au diagnostic sérologique de l'anémie infectieuse des équidés. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 214 (1956). – [34] Lehnert E. und Viriden P.: Kritische Bemerkungen zu der von Altara, Serra und Guarini zur Diagnose der infektiösen Pferdehaemie empfohlenen Komplementbindungsmethode. Nord. Vet. Mediz. 707, 1954. – [35] Likar: Sur la réaction de fixation du complément selon la technique d'Altara-Serra-Guarini. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 296 (1956). – [36] Ludford C.: A viral disease complex of horses in Central Queensland Serological Investigations. Austral Vet. J. 35, 181 (1959). – [37] Lührs E.: Beiträge zur Frage des Pferdewechselfiebers. Z. f. Vet.kde 33, 66 (1921). – [38] Mitev, Bontschev et Christov: Contribution à l'étude de la réaction de fixation du complément modifiée selon la méthode de Altara et de ses collaborateurs, appliquée au diagnostic de l'anémie infectieuse des équidés. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 285 (1956). – [39] Mohler W. M.: Observations on complement fixation with distilled water-spleen antigen in infectious anemia. J. Am. Vet. med. Ass. 88, 624 (1936). – [40] Möhlmann E.: Eine Auswertung von Tier-

versuchen in Hinblick auf die Möglichkeit des Vorkommens stummer Infektionen bei der infektiösen Anämie der Pferde. Arch. f. exp. Vetmed. 8, 217 (1954). – [41] Negishi, Fujino und Nishi: Studies on the serodiagnosis of equine infectious anemia I. On the precipitation reactions with phosphatide antigens prepared from organs of anemia infected horses, Exp. Rept on Eq. Inf. Anemia. Hokkaido province 301, 1955. – [42] Otto W.: Beiträge zur Diagnose der infektiösen Anämie der Pferde. Zeitschr. f. Vetkde 129, 1921. – [43] Ozsoy A.: Resultats obtenus dans les recherches sur l'anémie infectieuse des équidés par la déviation du complément selon la méthode de Serra et Guarini. Bull. Office Internat. Epizoot 45, 237 (1956). – [44] Radominski: Immune serum from laboratory animals for the c.f. test in equine infectious anemia I Separation of sera by Castellani method. Med. Vet. Varsovie 14, 450 (1958). – [45] Reinhardt: Klinische und pathologisch-anatomische Beobachtungen bei der infektiösen Anämie der Pferde. Monatshefte für Tierheilkde 526, 1918. – [46] Saxer E. und Fuentes M.: Neuere Aspekte der Serologie bei der infektiösen Anämie der Einhufer. Schweiz. Archiv Tierheilkde 102, 232 (1960). – [47] Saxer E.: Weitere Untersuchungen über die Anwendungsmöglichkeit der Präzipitation durch Agargeldiffusion bei der infektiösen Anämie der Einhufer. Pathol. et Mikrobiol. 23, 722 (1960). – [48] Schuljomowa E.: Die Diagnose der ansteckenden Blutarmut der Pferde mit Hilfe des Konglutinationsverfahrens. Zit. nach Koljakoffs Monographie [32] 1940. – [49] Serra A.: Rapport de l'institut de Zooprophyllaxie expérimentale du Piémont et de la Ligurie. Bull. Office Internat. Epizoot 45, 186 (1956). – [50] Sryssak und Krauss: Der Coombstest bei der infektiösen Anämie der Pferde. Med. Vet. Varsovie. Zit. n. Vet. Bull. 621, 1956. – [51] Steck W.: Die klinische Diagnose der Anaemia infectiosa equorum. Schweiz. Arch. Tierheilkde 85, 431 (1943). – [52] Steck W.: Studien über die infektiöse Anämie der Pferde III Auftreten von Zungenblutungen und Ausbreitung der Infektion l.c. 88, 61 (1946). – [53] Steck W.: Weitere Untersuchungen über Zungenpunktblutungen und Ausbreitung der Infektion l.c. 88, 389 (1946). – [54] Steck W.: Studien über die infektiöse Anämie der Pferde V. Verlauf der Einzelerkrankung und der Enzootie l.c. 89, 51 (1947). – [55] Steck W.: Untersuchungen über die Ursachen des regionalen Auftretens der Valléeschen Krankheit (infektiösen Anämie) der Pferde l.c. 43, 313 (1951). – [56] Steck W.: VIII. Beobachtungen über den Ablauf einer Enzootie l.c. 95, 1 (1953). – [57] Stein C. D. and Gates D. W.: The neutralizing effect of antiserum from recovered carriers of equine infectious anemia on the virus of the disease. Veterinary Medicine 45, Nr. 4 (1950). – [58] Stein C. D., Mott L. O. and Gates D. W.: Some observations on carriers of equine infectious anemia. J. Amer. Vet. Med. Ass. 126, 277 (1955). – [59] Tanaka and Sakaki K. K.: Neutralisation test on horse serum from horses infected with the virus of equine infectious anemia Nat. Instit. of Animal Health Tokyo 2, 128 (1962). – [60] Traub, Walbrecht und Schäfer: Komplementablenkungsversuche bei der ansteckenden Blutarmut der Pferde. Berl. Münch. Tier. Woch. 134 1941. – [61] Trautwein: Essais d'application de la réaction de fixation du complément au diagnostic de l'anémie infectieuse selon Guarini et Serra Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 292 (1956). – [62] Ulbrich F.: Untersuchungen über die von Altara, Serra und Guarini modifizierte Komplementbindungsreaktion zur Diagnose der infektiösen Anämie der Einhufer. Zbl. f. Vet. med. 5, 245 (1958). – [63] Vorländer K. O.: Das Komplement in Großtiserseren. Z. f. Immun. forschg 107, 278 (1950). – [64] Watanabe S.: Studies on equine infectious anemia virus in tissue cultures derived from the horse and reversion test to the horse. Japan. J. of Vet. Sciè 22, 79 (1961). – [65] Wirth D.: Beiträge zur Kenntnis der infektiösen Anämie der Pferde. Monatshefte f. Tierheilkde 29, 97 (1918). – [66] Zaharija: Les résultats de la réaction f.c. d'après la méthode Altara-Serra-Guarini dans le diagnostic de l'anémie infectieuse du cheval. Bull. Office Internat. Epizoot. 45, 266 (1956). – [67] Zebrowski et al.: Der Titer der Kältehämagglutinine im Verlauf der infektiösen Anämie der Pferde. Med. Vet. Varsovie II 239 (1955). – [68] Zeller H.: Klinische, pathologisch-anatomische und serologische Befunde bei 50 chronischen Fällen von ansteckender Blutarmut des Pferdes. Z. f. Vet.kde 24, 67 (1924).