Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten
in Bern. (Direktor: Prof. Tavel.)

Ueber die Agglutination des Milzbrand- bacillus.

Von Dr. A. Carini, Chef der Vaccine-Abteilung.

In No. 26 und 27 d. J. dieser Wochenschrift veröffentlicht Prof. Sobernheim, dessen vorzügliche Studien über Milzbrand wohl bekannt sind, eine interessante Zusammenfassung unserer Kenntnisse „über das Milzbrandserum und seine praktische An-

wendung“. Bei Besprechung der Agglutinationskraft des Milzbrandserums erwähnt er:

„Ebensowenig habe ich mich überzeugen können, daß die von mancher Seite dem Milzbrandserum zugeschriebene Agglutinationskraft dem Immunserum als solchem zukommt oder etwa gar dem Schutzwerte des Serums parallel geht. Wenn auch Milzbrandbakterien, sowohl virulente wie abgeschwächte, durch ein Milzbrandserum gelegentlich agglutiniert werden können, so stellt sich diese Wirkung nach meinen Beobachtungen keineswegs regelmäßig ein, ist im allgemeinen nur in stärkeren Serumkonzentrationen (1:10, höchstens 1:20) vorhanden und wird vor allen Dingen oft genug in gleicher Weise durch nichtspezifisches Serum hervorgerufen.“

Diese Angabe befindet sich in Einklang mit der vielfach herrschenden Meinung, daß dem Milzbrandserum nur ein geringes Agglutinationsvermögen zukommt. Anlässlich einiger Untersuchungen über die Eigenschaften und die Wirksamkeit des Milzbrandserums haben wir auch Gelegenheit genommen, die Agglutinabilität des Milzbrandbacillus zu prüfen. Obgleich wir nun den Wunsch hatten, unsere bezüglichen Versuche noch weiter auszudehnen, so sind doch die bereits gewonnenen Resultate von so klarer und unzweideutiger Natur, daß wir glauben, schon jetzt die Berechtigung zu besitzen, unsere Ergebnisse den erwähnten Angaben Sobernheims entgegenzustellen und damit eine Ansicht zu berichtigen, die von einem Autor vertreten wird, der auf dem Gebiete der Milzbrandforschung als eine Autorität zu betrachten ist.

Der Milzbrandbacillus gehört zu den Bakterien, die für Agglutinationsstudium nicht gut geeignet sind. Wie bekannt, bildet der Milzbrandbacillus in den Kulturen lange Fäden, die so ineinander verwirrt und verschlungen sind, daß ihre Trennung auf mechanischem Wege sehr erschwert ist, ein Umstand, der die Herstellung gleichmäßiger Aufschwemmungen fast unmöglich macht. Dazu kommt noch, daß verschiedene Milzbrandstämme auch ohne Zusatz von Serum eine spontane Agglutination zeigen. Alle diese Schwierigkeiten können bei Anwendung gewisser Maßnahmen und bei der Wahl eines geeigneten Milzbrandstammes überwunden werden.

Unter den verschiedenen Milzbrandkulturen, welche mir im Laboratorium zur Verfügung standen, befindet sich ein Stamm, der neben einer hohen Virulenz die Eigenschaft besitzt, daß seine Agarkulturen sich leicht in physiologischer Kochsalzlösung aufschwemmen lassen; die Aufschwemmung wird vollständig homogen, wenn man die Flüssigkeit etwas schüttelt und dann mittels einer Pipette Luft hineinbläst. Mit einer solchen Aufschwemmung, die ziemlich lange (einige Stunden) homogen bleibt, wurde die Agglutinationskraft verschiedener Milzbrandsera geprüft, und zwar habe ich meine Versuche mit Serum Slavo-Siena, Sobernheim (von Merk bezogen), Deutsch-Budapest und schließlich mit dem in unserm Institut von mir dargestellten Serum vorgenommen.

Unser Serum stammt von einem Esel, der mit steigenden Dosen von Milzbrandstämmen verschiedener Provenienz mittels endovenöser Injektionen immunisiert worden war, wobei aber hauptsächlich der oben erwähnte virulente Stamm benutzt wurde.

Mit den genannten Sera wurden auch noch andere Milzbrandstämme — virulente sowohl wie abgeschwächte — und ebenso die Pasteurschen Vaccins in bezug auf ihre Agglutinierbarkeit geprüft.

Die oben näher bezeichneten Sera, die im Tierversuch einen annähernd gleichen Schutzwert besaßen, zeigten keine erheblichen Verschiedenheiten in ihrer Agglutinationskraft. Schon nach $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde läßt sich selbst bei Verwendung starker Verdünnungen (1:1000 bis 1:10 000) eine deutliche Agglutination erreichen; nach einigen Stunden zeigt sich die Reaktion auch in den Röhrchen mit noch höheren Verdünnungen (1:50 000 bis 1:150 000); ja, wir haben unter günstigen Bedingungen eine Agglutination sogar bei einer Konzentration von 1:500 000 eintreten sehen.

Die Vaccins Pasteurs und andere abgeschwächte Milzbrandstämme zeigen eine viel geringere Agglutinierbarkeit, und sie kann bisweilen sogar fast gänzlich fehlen.

Mit Vaccin I haben wir bei einer Verdünnung von 1:50 bis 1:200 eine Agglutination nach $\frac{1}{2}$ Stunde eintreten sehen. Vaccin II scheint eine etwas stärkere Agglutinierbarkeit zu besitzen. Bei Vaccin Merk haben wir bei einem einmaligen Versuch das Fehlen jeglicher Agglutination konstatieren können, selbst bei Verwendung des Serums Merk.

Erwähnt sei noch, daß wir einige Male ein paradoxes Verhalten, respektive eine Agglutinationshemmung in stärkeren Konzentrationen, wie dies schon bei andern Bakterien und Sera bekannt ist, beobachten konnten. So war zum Beispiel bei einer Konzentration von 1:20 noch keine Agglutination zu bemerken, während eine solche in einer Konzentration von 1:100 schon deutlich sichtbar war.

Wie man sieht, sind unsere Resultate bezüglich der Agglutinierbarkeit des Milzbrandbacillus vollkommen verschieden von

den Angaben Sobernheims. Es ist nicht recht ersichtlich wie Sobernheim einen Agglutinationsvorgang nicht bemerkt hat, der bei zweckmäßiger Technik in Konzentrationen von 1:20 bis 1:200 makroskopisch in so prompter und ausgesprochener Weise zu beobachten ist, wenn man nicht annimmt, daß Sobernheim mit einem Stamm experimentiert hat, der ausnahmsweise geringgradig agglutinierbar war.

Die Technik, die ich angewandt habe, war folgende: man bereitet Serumlösungen 1:10, 1:100, 1:1000 etc. und gleichzeitig in der oben angegebenen Weise eine Aufschwemmung der Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung. In Reagenzgläser von zirka 5 mm Durchmesser füllt man zum Serum die Kultur mit zwei verschiedenen, graduierten Pipetten, in folgenden Verhältnissen:

0,2 ccm	Serum	+	1,8 ccm	Kultur	=	1: 10
0,1 "	"	+	1,9 "	"	=	1: 20
0,4 "	$\frac{1}{10}$ "	+	1,6 "	"	=	1: 50
0,2 "	$\frac{1}{10}$ "	+	1,8 "	"	=	1: 100
0,1 "	$\frac{1}{10}$ "	+	1,9 "	"	=	1: 200
0,4 "	$\frac{1}{100}$ "	+	1,6 "	"	=	1: 500
0,2 "	$\frac{1}{100}$ "	+	1,8 "	"	=	1:1000
0,1 "	$\frac{1}{100}$ "	+	1,9 "	"	=	1:2000

etc. 1:5000, 1:10 000, 1:20 000

Außerdem ist es angebracht, bei jeder neuen Serumverdünnung die Pipette zu wechseln oder wenigstens mit warmem Wasser auszuspülen.