

Aus dem Institut für gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität zu Berlin  
(Direktor: Prof. Dr. O. PROKOP)

## Über die Herstellung von Anti-Gc-Seren an der Ziege

Von

CH. KERDE, D. SCHLESINGER\*, O. PROKOP und A. VOGT

Mit 2 Textabbildungen

(Eingegangen am 6. Oktober 1962)

Im Gegensatz zu anderen Haustieren sind die Blutgruppen von Ziegen und insbesondere die auch bei ihnen zu vermutenden Beziehungen zu den menschlichen Blut- und Serumeigenschaften bisher nur relativ wenig untersucht worden.

WINTER (1930) und KAYSER (1929) fanden bei Ziegen weder makroskopisch noch mikroskopisch Isoagglutinationen. THOMSEN (in STEFFAN 1932) teilt die Säugetiere in drei Gruppen, wobei er Ziegen der zweiten Gruppe zurechnet, bei der Isoantikörper im allgemeinen nicht vorkommen, wohingegen die Blutkörperchen jedoch mit gruppenspezifischen Rezeptoren ausgestattet sind. Dadurch besteht bei der Immunisierung innerhalb der Art mit Erythrocyten, die gruppenspezifisch von denen des immunisierten Tieres abweichen, die Möglichkeit der Produktion von spezifischen Antikörpern gegen die zur Immunisierung benutzten Erythrocyten. Diese Feststellung wurde bereits von EHRLICH und MORGENBOTH (1900) an Ziegen und von v. DUNGERN und HIRSZFELD (1909) an Hunden getroffen. Es ist weiterhin bekannt, daß normale und immunisatorisch hergestellte heterologe Antikörper von Ziege, Schaf, Rind, Maus und Kaninchen, Menschen- und Affenblut nahezu gleichartig hämolysieren, und auch daß weder bei Ziege, Schaf, Pferd, Taube, Huhn, Ente und Gans B-ähnliche Gruppensubstanz vorhanden ist (STEFFAN). Während sich STEINMETZ (1955) mit der Isohämagglutination bei Ziegen beschäftigt und ausschließlich mit Normalseren zehn verschiedene Gruppeneigenschaften nachweist, beschrieben EYQUEM, PODLIACHOUK und MELLOT (1956) bei Ziegen — ausschließlich mit Immuseren arbeitend — zehn Erythrocyteneigenschaften, von denen sie sechs als ziegenspezifische und vier als schafspezifische Antigene ansehen. STEINMETZ nimmt zusätzlich die Existenz eines Anti-X an, wobei nicht ersichtlich ist, ob es sich hierbei um das sog. Anti-X vom Schaf-Ziegentyp handelt, das KONDO (1959) im menschlichen Serum beschreibt und das nach seiner Meinung ein Partialantigen der sog. menschlichen Anti-Schaf-Agglutinine darstellen soll. KONDO will festgestellt haben, daß in den meisten menschlichen Normalseren niedrigtitrige Anti-Schaf-Agglutinine und -Hämolysine vorhanden sind, die sich durch Absorption mit Ziegenblut in den meisten Fällen entfernen lassen. Er glaubt, bei diesen Agglutininen folgende Partialagglutinine unterscheiden zu können:

Anti-A, Anti-B, Anti-C und Anti-X vom Kaninchentyp,

Anti-X vom Schaf-Ziegentyp,

Anti-A (schafspezifisch) sowie schafspezifische Kälte-Anti-X-Agglutinine.

Besonders hohe Titer des menschlichen Anti-Schaf-Agglutinins hat er naturgemäß bei der infektiösen Mononucleose gefunden und glaubt, diese Tatsache haupt-

\* Vom Ludwik Hirszfild-Institut Wroclaw.

sächlich auf einen Anstieg des Anti-X-Agglutinins vom Schaf-Ziegentyp zurückführen zu können. Es erscheint demnach zumindest zweifelsfrei, daß eine Reihe von blutgruppenserologischen Beziehungen zwischen der Ziege, dem weitaus in dieser Beziehung besser untersuchten Schaf [s. auch bei JOYSEY (1959) und bei SUZUKI u. a. (1958)] und dem Menschen bestehen. Die engen Relationen Schaf und Ziege gehen auch aus den Versuchen zur experimentellen Erzeugung von hämolytischen Anämien hervor, bei denen es leicht gelungen ist, durch gegenseitige Immunisierung Antikörper gegen Schaf- bzw. Ziegenerythrocyten zu erhalten. Sie werden durch das Vorhandensein gemeinsamer erythrocytärer Partialantigene erklärt (MIESCHER und VORLÄNDER 1957).

Wir haben in früheren Untersuchungen nachgewiesen, daß die Ziege als Mittlertier zur Herstellung von Antiseren gegen menschliche Blutgruppenantigene hervorragend geeignet ist. Die Möglichkeit der Herstellung von Antiglobulinseren bei Ziegen wurde schon von DUNSFORD und BOWLEY 1957 veröffentlicht und nach unseren eigenen Erfahrungen sind die Ergebnisse wirklich gut. 1960 teilten KERDE, FÜNFAUSEN, BRUNK und BRUNK aus unserer Arbeitsgruppe mit, daß durch Immunisierung von Ziegen mit Echinokokkencystenflüssigkeit vom Schwein hochwertige Anti-P-Seren gewonnen werden können. Nach den bisherigen Erfahrungen mit Anti-P ist dieses Verfahren zur Zeit das Verfahren der Wahl (vgl. dazu RACE-SANGER 1962). Von RÜCKERT und BRUNK wurde 1962 mitgeteilt, daß möglicherweise Spuren von Schweineserum in der Echinokokkencystenflüssigkeit an der antigenen Wirkung derselben beteiligt sein könnten, da auch Schweineserum bei der Immunisierung von Ziegen die Entstehung von Anti-P stimulieren konnte. Auch Anti-Le<sup>a</sup> läßt sich von der Ziege durch Immunisierung mit menschlichem Nonsekretorspeichel gewinnen (KERDE, FÜNFAUSEN, BRUNK und PROKOP 1960), ebenso durch Immunisierung mit Ovarialcystenflüssigkeit vom Menschen (HUNGER und FEDERWISCH 1960). Nachdem durch PROKOP, BRUNK und DIRK (1962) festgestellt worden war, daß sich bei Verwendung von Blutkörperchen vom Frosch (*Rana temporaria*) an der Ziege auch präcipitierende Anti-B-Körper herstellen lassen, waren wir optimistisch genug zu prüfen, ob präcipitierende Anti-Mensch-Seren von der Ziege auch eine Komponente gegen die Gc-Gruppen des Menschen (HIRSCHFELD 1960) enthalten.

Untersucht wurden bisher zwölf Ziegen, von denen insgesamt fünf Tiere mit menschlichem O-Mischserum und  $\gamma$ -Globulin im Wechsel zur Herstellung von Anti-Humanglobulin-Serum immunisiert werden, sechs Tiere, die mit Echinokokkencystenflüssigkeit vom Schwein zur Produktion von Anti-P-Serum behandelt werden und ein nicht-immunisiertes Tier. Während vier Tiere aus der Coombs-Immunisierungsreihe (vgl. Tabelle) nur für Anti-Gc unspezifische Präcipitationslinien aufwiesen, konnten wir bei einer Ziege ein in der Immunoelktrophorese einwandfrei reagierendes, präcipitierendes Anti-Gc feststellen, das keine

Tabelle. *Immunisierungsschema von vier Ziegen, die Anti-Gc bisher nicht gebildet haben (Prüfung der Seren 5. September 1962)*

	Immunisierungszeit	Antigengabe	Ergebnis
Tier 1	24. 7. bis 10. 8. 62	6 Injektionen alternierend 0-Mischserum 5 ml und Humangammaglobulin 1 Ampulle	kein brauchbares Coombs-Serum
Tier 2	24. 7. bis 10. 8. 62	gleich wie bei Tier 1	ebenfalls unbrauchbar
Tier 3	30. 4. bis 12. 6. 62	14 Injektionen alternierend 5 ml 0-Mischserum und Humangammaglobulin 1 Ampulle	unbrauchbar
	zweite Serie		
	31. 7. bis 24. 8. 62	6 Injektionen alternierend	unbrauchbar
Tier 4	2. 2. bis 5. 4. 62	8 Injektionen alternierend wie oben. 1 Woche nach letzter Injektion Entnahme	gutes Coombs-Serum
	Zweitimmunisierung		
	30. 4. 62	1 Injektion 5 ml 0-Mischserum plus 1 Ampulle Humangammaglobulin. 1 Woche danach Entnahme	gutes Coombs-Serum
	Drittimmunisierung		
	31. 7. bis 13. 8. 62	3 Injektionen: alternierend zweimal Gamma-globulin und einmal 0-Serum	gutes Coombs-Serum
	Vierte Serie		
	17. 8. bis 3. 9. 62	6 Injektionen alternierend wie oben	gutes Coombs-Serum

Schwierigkeiten bei der Erkennung der bisher bekannten Gc-Typen bereitet.

Es handelt sich dabei um ein Tier, das in der Vergangenheit folgendermaßen immunisiert wurde:

Oktober bis Dezember 1961: 24 Injektionen zu je 5 ml Echinokokken-cystenflüssigkeit vom Schwein. Ein brauchbares Anti-P-Serum wurde nicht gebildet.

Februar bis März 1962: Acht Injektionen von je 5 ml 0-Mischserum und  $\gamma$ -Globulin<sup>1</sup> im Wechsel zur Herstellung von Anti-Humanglobulinserum.

Juni 1962: Vier weitere Injektionen wie im Februar/März. Blutentnahme von 250 ml, da ein ausgezeichnetes Anti-Humanglobulinserum gebildet wurde.

Juli und August 1962: Zehn Injektionen von je 5 ml, davon achtmal 0-Mischserum und zweimal  $\gamma$ -Globulin.

<sup>1</sup> Jeweils eine Ampulle Human- $\gamma$ -Globulin „Dessau“. Dieses Präparat wird steril in Ampullen zu 5 ml in den Handel gebracht und enthält 16% Human- $\gamma$ -Globulin.

Die Untersuchung auf das Vorhandensein eines präzipitierenden Anti-Gc-Körpers erfolgte Anfang September 1962.

Das Serum zeigt folgende Charakteristik in der Immunopräzipitation:

Es enthält vor allem starke Präzipitine gegen  $\alpha_2$ -Globuline. In der Immunelektrophorese zeigt es drei starke Linien in diesem Be-

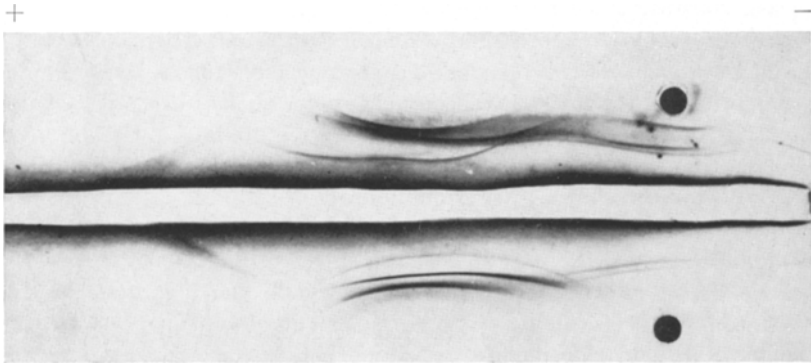


Abb. 1. Darstellung von Gc mittels Ziegenserum. Oben: Charakteristischer Doppelbogen Gc 2—1. Unten: Etwas mehr kathodenwärts als Gc 2—1 liegend: Gc 2—2. Leitbögen zum Auffinden von Gc sind Transferrin und  $\alpha_2$ -M. Haptoglobintyp oben und unten: Hp 2—1

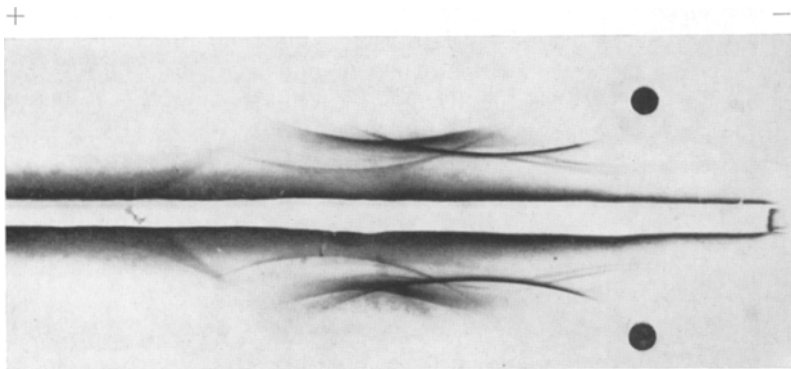


Abb. 2. Darstellung von Gc mittels Ziegenimmenserum. Oben und unten mehr anodenwärts (als Gc 2—1 und Gc 2—2) liegend den Albuminbogen berührend: Gc 1—1. Haptoglobintyp oben und unten: Hp 2—2. (Erläuterungen im Text.) Färbung mit Amido-Schwarz. Vergr. 2-fach

reich. Die dem Kanal am nächsten gelegene wurde als Gc-Präzipitationsbogen identifiziert. Bei den zu untersuchenden Seren wechselt die Position dieses Bogens entsprechend den drei Gc-Typen. Beim Gc-Typ 1—1 ist der Präzipitationsbogen anodenwärts gelegen, während er beim Gc-Typ 2—2 kathodenwärts liegt. Die Präzipitationslinien beider Typen sind etwas stärker gekrümmt als beim Gc-Typ 2—1 und erreichen, der Gc-Typ 1—1 mit seinem kathodenwärts gelegenen und der Gc-Typ 2—2 mit seinem anodenwärts gelegenen Schenkel, die

darüber liegenden Präcipitationsbögen, bzw. kreuzen sie. Beim Gc-Typ 2—1 nimmt die Präcipitationslinie die Position der beiden erstgenannten Typen ein, jedoch verläuft die Linie mehr flach und zeigt mitunter zwei charakteristische Gipfelpunkte. In vielen Trennungen sind jedoch zwei Gipfelpunkte auch nicht annähernd zu erkennen.

Die darüber gelegene Linie (also als zweite von der Präcipitationsrinne entfernt) stellt die Haptoglobine dar, was durch Benzidinfärbung gesichert wurde. Die durch das Ziegenserum ermittelten Haptoglobintypen wurden durch die Stärkegelelektrophorese bestätigt. Die dritte Linie ist höchstwahrscheinlich das  $\alpha_2$ -Makroglobulin. Zwischen dem Gc- und dem Haptoglobinpräcipitationsbogen findet sich bei manchen Seren noch eine sehr zarte  $\alpha_3$ -Globulinlinie. Zur Immunelektrophorese aller Proteinfraktionen ist das Ziegenserum nicht geeignet, da es gegen Albumin,  $\gamma$ - und  $\beta$ -Globulin nur schwache Präcipitine enthält. Deshalb ist das Serum besonders gut zur Gc- und falls man nicht die bessere Stärkegel-Methode benutzt, auch zur Haptoglobintypenbestimmung geeignet. Die Präcipitine des beschriebenen Ziegenserums sind labil: Inaktivierung und Lyophilisierung schwächen sie. Man bewahrt das präcipitierende Serum am besten in Ampullen bei 4° C auf.

Die Ziege ist als Serumspender in der Praxis der gerichtlichen Medizin zweifellos das geeignetste Tier, da Serum unschwer jederzeit vom lebenden Tier gewonnen werden kann, und die Ausbeute naturgemäß ungleich besser ist als beim Kaninchen. Zur Herstellung sowohl von Antihuman- $\gamma$ -Globulinseren (Coombs-Seren) als auch anti-Gc-haltiger präcipitierender Seren ist offenbar eine Immunisierung über längere Zeit erforderlich.

### Zusammenfassung

Seren von zwölf Ziegen wurden untersucht. Ein nicht-immunisiertes Tier hatte keine Präcipitine. Sechs Tiere, welche mit Echinokokkencystenflüssigkeit vom Schwein immunisiert worden waren, bildeten kein Anti-Gc. Unter vier weiteren Tieren, die mit Human- $\gamma$ -Globulin und Mischserum der Gruppe 0 immunisiert wurden, fand sich bis jetzt ebenfalls kein brauchbares Anti-Gc. Ein Tier, das erst mit Echinokokkencystenflüssigkeit vom Schwein immunisiert wurde — auf die Behandlung aber kein Anti-P bildete — wurde mit Mischserum der Gruppe 0 und  $\gamma$ -Globulin weiter immunisiert. Es wurde ein kräftiges Anti-Gc und ein kräftiges Anti-Hp gewonnen.

### Literatur

- DUNGERN, E. V., u. L. HIRSZFELD: Über gruppenspezifische Strukturen des Blutes. III. Z. Immun.-Forsch. 8, 526 (1911).  
 DUNSFORD, J., and C. C. BOWLEY: The production of anti-human globulin serum (Coombs reagent) in goats. J. clin. Path. 10, 29 (1957).

- EHRlich, P., u. J. MORGENROTH: Über Hämolyse. Berl. klin. Wschr. 452 (1900).
- EYQUEM, A., L. PODLICHOUK, et P. MILLOT: Les groupes sanguins des animaux domestiques et leur intérêt pour l'élevage. VII. Int. Congr. of Anim. Husb., Madrid, Subject 2, 125—138 (1956).
- HIRSCHFELD, JAN: Immuno-electrophoretic demonstration of qualitative differences in human sera and their relation to the haptoglobins. Acta path. microbiol. scand. 47, 2, 160 (1959).
- A simple method of determining haptoglobin groups in human sera by means of agar-gel electrophoresis. Acta path. microbiol. scand. 47, 2, 169 (1959).
- Immunoelectrophoresis-procedure and application to the study of group-specific variations in sera. Science Tools (Stockh.) 7, 2, 18 (1960).
- B. JONSSON and M. RASMUSON: Inheritance of a new group-specific system demonstrated in normal human sera by means of an immunoelectrophoretic technique. Nature (Lond.) 185, No 4717, 931 (1960).
- HUNGER, H., u. G. FEDERWISCH: Untersuchungen über partialgenetische Wechselbeziehungen zwischen Mensch und Rind. Wiss. Z. Karl-Marx-Univ. Leipzig, math.-naturw. Reihe 2, 145 (1959/60); — Arch. exp. Vet.-Med. 14 (2), 271 (1960).
- JOYSEY, V. C.: Animal and human blood groups. Brit. med. Bull. 15, 158 (1959).
- KAYSER, W.: Individualitätsreaktionen des Blutes an Schafen, Ziegen, Schweinen, Rindern. Arch. wiss. prakt. Tierheilk. 59, 89 (1929).
- KERDE, CH., R. BRUNK, G. FÜNFHAUSEN u. O. PROKOP: Über die Herstellung von Anti-Lewis-Seren an Capra hircus L. Z. Immun.-Forsch. 119, 462 (1960).
- , G. FÜNFHAUSEN, RE. BRUNK u. RU. BRUNK: Über die Gewinnung von hochwertigen Anti-P-Immunsereen durch Immunisierung mit Echinokokkencystenflüssigkeit. Z. Immun.-Forsch. 119, 216 (1960).
- KONDO, T.: Studies on the anti-sheep-agglutinins and haemolysins in normal human sera. Jap. J. leg. Med. 25, 68 (1959).
- MIESCHER, P., u. K. O. VORLÄNDER: Immunopathologie in Klinik und Forschung. Stuttgart: Georg Thieme 1957.
- PROKOP, O., R. BRUNK u. E. DIRK: Ein präzipitierendes Anti-B von der Ziege. Z. ärztl. Fortbild. 56, 750 (1962).
- RACE, R. R., and R. SANGER: Blood groups in man. IV. Edit. Oxford: Blackwell 1962.
- RÜCKERT, E., u. R. BRUNK: Untersuchungen über die P-Antigenität von Schweineseren. Z. ärztl. Fortbild. 56, 760 (1962).
- STEFFAN, P.: Handbuch der Blutgruppenkunde. München: J. F. Lehmann 1932.
- STEINMETZ, G.: Über Isohämagglutination in Blutgruppen bei Ziegen. Diss. Berlin 1955.
- SUZUKI, S., S. WATANABE, K. NAKAMURA, T. YAMADA, A. NAKAJIMA and M. SUZUKI: Distribution of "A"-blood-group substances in sheep saliva as determined by agglutination-inhibition-test. Jap. J. Zootech. Sci. 29, 290 (1958).
- WINTER, S. G.: Untersuchungen über Isoagglutination im Blut von Schweinen, Pferden, Rindern, Ziegen. Diss. Göttingen 1930.

Prof. Dr. O. PROKOP,  
 Institut für gerichtliche Medizin der Humboldt-Universität,  
 Berlin N 4, Hannoversche Straße 6