

Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab.

Biologiske Meddelelser. **V**, 8.

---

OM REAKTIONEN  
MELLEM TOKSIN OG ANTITOKSIN  
(DIFTERI)

AF

S. SCHMIDT  
(FRA STATENS SERUMINSTITUT)



KØBENHAVN

HOVEDKOMMISSIONÆR: ANDR. FRED. HØST & SØN, KGL. HOF-BOGHANDEL

BIANCO LUNOS BOGTRYKKERI

1926

Pris: Kr. 1,75.

Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskabs videnskabelige Meddelelser udkommer fra 1917 indtil videre i følgende Rækker:

Historisk-filologiske Meddelelser,  
Filosofiske Meddelelser,  
Mathematisk-fysiske Meddelelser,  
Biologiske Meddelelser.

Hele Bind af disse Rækker sælges 25 pCt. billigere end Summen af Bogladepriserne for de enkelte Hefter.

Selskabets Hovedkommissionær er *Andr. Fred. Høst & Søn*, Kgl. Hof-Boghandel, København.

---

Det Kgl. Danske Videnskabernes Selskab.  
Biologiske Meddelelser. **V**, 8.

---

OM REAKTIONEN  
MELLEM TOKSIN OG ANTITOKSIN  
(DIFTERI)

AF

S. SCHMIDT  
(FRA STATENS SERUMINSTITUT)



KØBENHAVN

HOVEDKOMMISSIONÆR: ANDR. FRED. HØST & SØN, KGL. HOF-BOGHANDEL  
BIANCO LUNOS BOGTRYKKERI

1926



**N**aturen af de processer, hvorefter difteritoksin forener sig med sit antitoksin er endnu, omtrent 35 aar efter disse stoffers opdagelse, kun delvis kendt. De vanskeligheder, som har stillet sig i vejen for problemets løsning, beror dels paa de to stoffers instabilitet samt vort mangelfulde kendskab til deres konstitution og dels paa, at man til eksperimenter af denne art — i alt fald for difteritoksins vedkommende — maatte tage sin tilflugt til dyr. For forholdsvis kort tid siden er der imidlertid gjort en opdagelse, som har givet immunitetsforskerne mulighed for til en vis grad at studere forløbet af processen difteritoksin-antitoksin ved rene in vitro eksperimenter. Herved skulde man da kunne faa bekræftet, eventuelt afkræftet de erfaringer, som de tidligere paa dyr udførte forsøg har bragt.

### **Det Ramonske Udfnugningsfænomen.**

1923 beskrev RAMON et ejendommeligt fænomen som optræder i en blanding af difteritoksin og antidifteriserum, naar disse to stoffer er tilstede i bestemte mængder, nemlig saadanne, hvor de gensidig neutraliserer hinanden. Hvis man i en serie reagensglas afmaaler 20 cc. af et difteritoksin, som i en mængde af 0.001 cc. dræber et marsvin paa 4 Døgn (0.001 = d. m. m. Ehrlich), og hertil sætter frisk antidifterisk hesteserum, der indeholder f. eks. 400 antitoksinerheder (= 400 AE. Ehrlich) pr. cc., i følgende mæng-

der: 1.0, 0.72, 0.52, 0.37, 0.27, 0.19, 0.14 og 0.1 cc., ryster glassene for at bestanddelene kan blive omhyggelig blandet og derpaa henstiller forsøget i vandbad ved 40°, da vil man efter nogen tids forløb se, at vædsken i nogle af glassene begynder at blive opalescerede, medens den i andre forbliver klar. Observerer man nu glassene med kort tids mellemrum, vil man opdage, at først en og senere flere af de opalescerende vædsker udskiller fine fnug, som snart klumper sammen til større partikler, der synker ned i vædsken for til sidst at blive liggende paa glassets bund som et volumiøst bundfald. I det her nævnte tilfælde vil sandsynligvis vædsken i glas nr. 3 først give udfnugning, derpaa maaske nr. 2 og 4, svarende til serumdoserne 0.72 og 0.37 cc., medens resten forbliver klare. Fænomenet optræder altsaa i en bestemt zone og adskiller sig herved fra de almindelige bakteriepræcipitationer, hvor som regel de høje serumdoser frembringer de først optrædende og mest voluminøse bundfald, og hvor saavel bundfaldets størrelse som udfnugningshastigheden aftager gradvis efterhaanden som serumdoserne bliver mindre. I sidste tilfælde kan altsaa et overskud af præcipitinogen, men ikke et præcipitin-overskud forhindre fældningen, medens i første tilfælde saavel antigen- som antistof-overskud virker paa denne maade. Udfnugningen i en blanding af difteritoksin-antitoksin har en hel del lighed med den udfnugning, der fremkommer, naar forskelligt ladede kolloide metalopløsninger blandes sammen i bestemte forhold. Saaledes fældes i visse koncentrationer en guldsol af en zirkoniumhydroksydsol, idet man ogsaa her har et fældningsoptimum. Fra dette sidste fænomen adskiller difteriudfnugningen sig ved at være specifik. Kun difteriantitoksinholdigt serum formaar at fælde difteritoksin. Dette fnugger saaledes ikke ud ved tilsætning af

tetanusantitoxin, hvilket sidste til gengæld er i stand til at give bundfald med tetanustoxin, o. s. v. I det følgende skal meddeles resultatet af nogle undersøgelser over udfnugningen i difteritoxin-antitoxinblandinger. Det har været opgaven at undersøge indflydelsen af forskellige faktorer paa processen, saaledes den forskellige oprindelse og styrke af toksiner og antitoksiner, fortyndingen, temperaturen, brintionkoncentrationen samt tilsætningen af forskellige fremmede stoffer, dels elektrolyter og dels ikke-elektrolyter. Temperaturen og brintionkoncentrationens indflydelse vil blive behandlet i særskilte afhandlinger og skal derfor kun ganske flygtig berøres her. Yderligere er der gjort en del forsøg gaaende ud paa at paavise en mulig sammenhæng mellem udfnugningsprocessen og selve reaktionen: antistof-antigen.

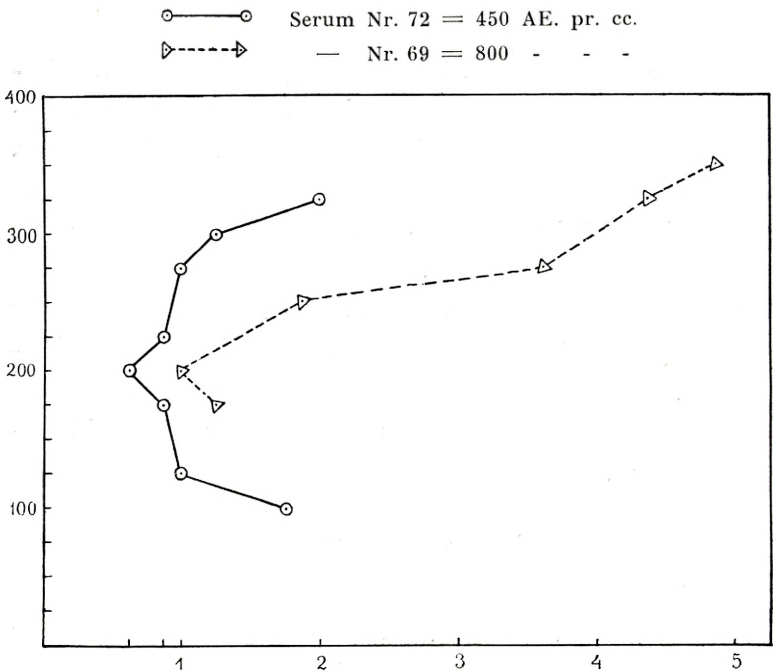
Forsøgene falder i to afsnit: a) forsøg in vitro, b) forsøg in vivo.

#### a) Forsøg in vitro.

Udfnugningszonen. Denne har en for forskellige sera forskellig bredde. For en del seras vedkommende udbreder den sig jævnt mod begge sider idet den først udfnuggede blanding danner midtpunkt. For andre sera vil zonen fortrinsvis udbrede sig mod den ene side, i de fleste tilfælde den, mod hvilken antitoksindoserne bliver større. Kurven viser modeller paa saadanne forskelligt reagerende sera.

Der benyttedes 20 cc. toksin til hver blanding og serum-mængderne varieredes som kurvens ordinatakse viser. Abscissen angiver udfnugningstiden. Blandingerne henstod i vandbad ved 37° i 24 timer, og alle blandinger, som overhovedet kan fnugge ud, vil i de fleste tilfælde gøre det inden for denne tid. Hvad grunden til denne forskel i reaktions-

maade er, kan ikke i øjeblikket siges, men kræver en nærmere undersøgelse. Det skal kun bemærkes, at de meget hurtigt reagerende sera viser en større fnugningszone end de meget langsomt reagerende. Da den først udfnuggende



Kurve Nr. 1. 20 cc. toksin Martin Nr. I 1924. Temp. = 37° C. (vandbad).

blanding er neutral (d. v. s. at toksin og antitoxin har neutraliseret hinanden), kan man selvsagt ikke, som nogle har forsøgt, benytte udfnugningszonens grænser, hverken den øvre eller nedre, til bestemmelse af antitoksintiteren, hvilket man allerede kan se ved at kaste et blik paa kurven.

Toksinet. Udfnugningstiden er afhængig af, hvilket toksin man benytter. I almindelighed er stærke toksiner mere reaktionsdygtige end svage, ligesom friske toksiner reagerer hurtigere end lagrede. For kortheds skyld vil i det



følgende udfnugningstiden blive betegnet med  $Kf$ . Af det allerede sagte vil man straks kunne slutte, at  $Kf$  er en meget variabel størrelse, og hvor der tales om et serum eller et toksins  $Kf$  gælder denne værdi derfor kun for det enkelte toksin eller serum og for den bestemte temperatur og de øvrige i hvert enkelt tilfælde givne forsøgsbetingelser.  $Kf$  er altsaa mindst hos stærke, frisk fremstillede toksiner. Nogen direkte proportionalitet mellem d. m. m. og  $Kf$  har dog ikke kunnet konstateres. Snarere synes et vist, men heller ikke konstant, forhold at bestaa mellem  $Kf^1$  og Lf. Ved Lf. forstaas efter Glennys definition den mængde toksin, som blandet med en antitoxinenhed først giver udfnugning, som altsaa har den mindste  $Kf$  værdi. Forholdet mellem  $Kf$  og toksicitet skal blive omtalt nærmere lidt senere. Tilsætning af forskellige antiseptika kan influere paa toksinets  $Kf$ . Uden indflydelse er efter min erfaring kinosol (= dioksykinolinsulfat) som tilsat i en mængde af 0.5 p. 1000 er i stand til at hindre bakterievækst i toksinet. Ramon anbefaler at tilsætte formol ( $1/2$  p. 1000 af den alm. handelsvare, indeholdende ca. 40 % formaldehyd). Jeg har imidlertid i flere tilfælde set vækst af skimmel-svampe i toksiner som indeholdt helt op til 0.3 % formol. Formoliserede toksiner har en langt større  $Kf$  end de samme toksiner uden antiseptikum eller de tilsvarende kinosolholdige, og efterhaanden mister de deres giftighed, idet de omdannes til det Ramonske anatoksin. Anatoksin defineres af Ramon som et ved hjælp af formol og varme for sine giftige egenskaber helt befriet toksin, der har beholdt den antitoxinneutraliserende egenskab. Substratet, som er brugt til fremstillingen af toksin, spiller aabenbart en ikke helt ringe rolle, idet f. eks. toksiner fremstillet af Martin-

<sup>1</sup> Udfnugningstiden =  $Kf$  (af  $\alpha\theta\acute{o}\nu\sigma$ ).

bouillon viste en mindre  $Kf$  end saadanne, som stammede fra en almindelig med Witte-pepton tilberedt kalvebouillon, selv om den øjeblikkelige giftighed var den samme. Ogsaa dette sidste punkt vil blive nærmere belyst i det følgende.

### Antitoksinet.

En sammenhæng mellem antitoxinindhold i serum og udfnugningshastighed har ikke kunnet konstateres. Tværtimod har det vist sig (G. RAMON omtaler allerede i sin første meddelelse dette forhold), at stærke sera ofte har en langt større  $Kf$  end svage; men undertiden er det omvendte tilfældet. Ved at undersøge forholdet nærmere bemærkede jeg imidlertid, at  $Kf$  for serum af et og samme individ viste en forbavsende konstans. Allerede i immuniseringens begyndelse, naar serum indeholder faa antitoxinenheder, viser størrelsen af  $Kf$  sig. Efterhaanden som immuniseringen skrider frem og antitoxintiteren stiger, forbliver  $Kf$  konstant. I hvert fald, efter min erfaring indtil nu, er de  $Kf$ -svingninger, man observerer hos et fra samme individ stammende serum, ikke større, end hvad der kan skrives paa forsøgsfejlkontoen. Man maa her erindre, hvor lidt der skal til at influere paa  $Kf$ : Ringe temperatursvingninger, forskel i kaliberen af de anvendte glas, neddypningen i vandbadet o. s. v. Under alle omstændigheder har det vist sig, at en hest, hvis serum har  $Kf = 1$  time, selv efter lange pauser i immunisering, efter mange aareladninger o. s. v., aldrig kommer til at producere et serum med  $Kf = 10$  eller blot 5 timer. Af tabellen fremgaar det, hvor konstant  $Kf$  i nogle tilfælde kan være.

Den i tabellen med nr. 469 betegnede hest viser netop en pause paa næsten 5 maaneder mellem to aareladninger. Immuniseringen maatte nemlig afbrydes paa grund af syg-

Tabel Nr. 1.

Tabel, som viser at  $Kf$  kan forblive konstant for serum af samme individ, selv om antitoxinindholdet svinger betydeligt fra den ene aareladning til den anden. Der anvendtes 20 cc. antitoxin og ufortyndet serum.

Serum Nr.	Aareladn. Dato	AE. pr. cc.	Forsøgsbetingelser	$Kf$	Bemærkninger
469	10. 7. 24	400	20° C.	4 <sup>h</sup>	1ste aareladning
—	21. 8. —	600	—	4 <sup>h</sup>	
—	2. 10. —	550	—	4 <sup>h</sup>	
—	13. 11. —	200	—	4 <sup>h</sup>	
—	2. 4. 25	500	—	4 <sup>h</sup> 10 <sup>m</sup>	
—	14. 5. —	550	—	4 <sup>h</sup> 15 <sup>m</sup>	
—	25. 6. —	600	—	4 <sup>h</sup> 10 <sup>m</sup>	
—	13. 8. —	500	—	4 <sup>h</sup> 15 <sup>m</sup>	
—	24. 9. —	650	—	4 <sup>h</sup> 15 <sup>m</sup>	
—	24. 11. —	350	—	4 <sup>h</sup> 30 <sup>m</sup>	
486	10. 7. 24	300	—	37 <sup>h</sup>	1ste aareladning
—	2. 8. —	300	—	36 <sup>h</sup>	
—	2. 10. —	350	—	36 <sup>h</sup>	
—	13. 11. —	200	—	38 <sup>h</sup>	
—	5. 1. 25	50	—	40 <sup>h</sup>	
473	12. 4. 24	300	37° C.	3 <sup>h</sup>	
—	5. 6. —	800	—	3 <sup>h</sup>	
—	2. 8. —	300	—	3 <sup>h</sup>	
—	4. 9. —	400	—	3 <sup>h</sup> 25 <sup>m</sup>	
—	13. 11. —	175	—	3 <sup>h</sup> 30 <sup>m</sup>	
480	10. 7. 24	500	—	6 <sup>h</sup>	
—	21. 8. —	500	—	6 <sup>h</sup> 30 <sup>m</sup>	
—	2. 10. —	450	—	6 <sup>h</sup> 15 <sup>m</sup>	
—	13. 11. —	275	—	6 <sup>h</sup> 30 <sup>m</sup>	

dom hos dyret, men saavel den første aareladning efter hvilepausen som de følgende giver sera med praktisk talt samme  $Kf$ . Det hurtigst reagerende serum, jeg har maalt, havde en  $Kf$  paa 15 minutter, og det langsomst reagerende viste  $Kf = 40$  timer, begge maalt ved 20° C. Vort statis-

tiske materiale er endnu ikke stort nok til at vise, hvor hyppigt de meget hurtigt og de meget langsomt reagerende sera optræder; men skønmæssigt vil ca. 70 % af alle sera have en reaktionstid paa ca. 3—6 timer med de toksiner, vi benytter. Friske sera reagerer hurtigere end lagrede sera. Hvis serum derimod opbevares i frossen tilstand, vil det bevare sin  $Kf$  omtrent konstant gennem længere tid. Et serum, som opbevaredes gennem 2 aar ved  $\div 16^\circ$ , viste stedse den samme  $Kf$ -værdi overfor samme toksin og ved samme temperatur. I praksis benyttes her paa institutet kinosol som antiseptikum for alle sera. Det tilsættes i mængden 1 ‰, hvilket er uden betydning for  $Kf$ .

Det nævntes, at friske sera reagerede hurtigere end lagrede. Fenol synes at have en uheldig indflydelse paa  $Kf$ , naar virkningen faar lov at udstrække sig gennem længere tid. Medens  $Kf$  for native og kinosolholdige sera kun tiltager langsomt, bliver de fenolholdige sera efter nogen tids opbevaring betydelig langsommere reagerende. I virkeligheden er det sandsynligt, at  $Kf$  er uafhængigt af serums (og maaske ogsaa toksins) alder. Herpaa tyder ogsaa, at de frosne sera beholder deres  $Kf$  konstant. Et serum, som fryses, vil, naar man et aar senere optør det, være klart, medens sera opbevaret ved  $tp.$  over  $0^\circ$  altid udskiller større eller mindre bundfald, som maa fjernes inden serum benyttes. Ophedede og koncentrerede sera giver kun vanskelig eller slet ikke udfnugning. Efter RAMON skulde euglobulinet spille en væsentlig rolle ved udfnugningen; og lang tids opbevaring, ophedning o. s. v. ligesom koncentration formodes netop at have en ændring af euglobulinfraktionen til følge.

### Temperaturen.

Udfnugningen finder sted ved alle temperaturer mellem  $0^\circ$  og  $60^\circ$  C. Ved  $50$ — $60^\circ$  har reaktionen sit optimum, og  $Kf$  er mindst. Temperaturoptimum er ikke helt ens for alle sera. Ved temperaturer paa  $65$  eller derover reagerer enkelte sera ikke, medens største parten kan give udfnugning ved temperaturer, der nærmer sig  $70^\circ$ . Ved  $70^\circ$  eller lidt højere endnu reagerer kun nogle faa sera. Vi skal senere under omtalen af in vivo forsøgene komme nærmere ind paa aarsagen til disse forskelligheder.

Hvis saavel toksiner som sera udsættes for højere temperaturer, ændres  $Kf$ . En ophedning til  $70^\circ$  af toksin ødelægger dets udfnugningsfunktion næsten øjeblikkelig. Ogsaa lavere temperaturer virker skadelig, men i mindre grad. For antitoksinet gælder lignende forhold. Opvarmes antitoksinet i længere tid til temperaturer omkring  $60^\circ$  da ødelægges efterhaanden den udfnuggende egenskab, idet  $Kf$  vokser med stor hast mod  $\infty$ . RENAUX har paavist, at et serum, som har været opvarmet eller et gammelt lagret, fenol- eller trikresolholdigt serum, hvor i begge tilfælde udfnugningsfunktionen er helt eller delvis destrueret, kan bringes til at reagere igen, naar der tilsættes frisk antidifterisk serum. Normalt serum har derimod ikke denne virkning. I saadanne tilfælde vil serumblandingen reagere med fædningsoptimum svarende til det virkelige antitoxinindhold, men have en  $Kf$ -værdi, der er proportional med mængden af frisk serum.

### Brintionkoncentrationen.

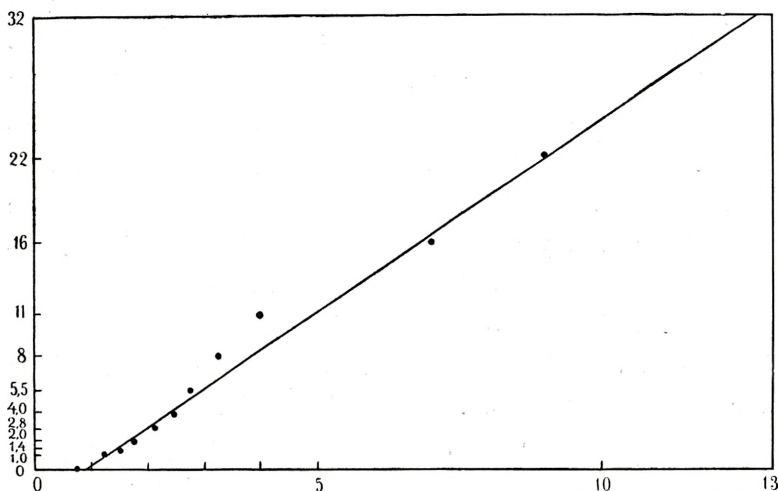
Ogsaa her findes et optimum for  $Kf$ .  $Kf$  er mindst ved brintionkoncentrationen svarende til  $pH = \text{ca. } 7$ . Variationer af  $pH$  til henholdsvis den sure eller alkaliske side har

en stigning i  $Kf$  til følge, som er desto større, jo længere man fjerner sig fra neutralpunktet. Efterhaanden nærmer  $Kf$  sig  $\infty$ , d. v. s. der finder ingen udfnugning sted. Den zone, hvor reaktionen kan finde sted strækker sig fra  $pH$  ca. 4— $pH$  c. 10,5. I overensstemmelse hermed er bundfaldet stabilt indenfor disse  $pH$ -grænser. Det allerede dannede bundfald, som er vasket frit for vædske, gaar let i opløsning i vædske, der har en brintionkoncentration, som svarer til  $pH < 4$  og  $> 10,5$ . Forholdene synes her at variere lidt alt efter de anvendte toksiner.

### Fortyndingen.

Hidtil har jeg, hvor intet andet er nævnt, naar talen var om toksin og serum, stedse ment ufortyndede stoffer. Ved toksin har jeg saaledes forstaaet det for bakterier befriede filtrat af en ca. 10 dage gammel kultur af difteriaciller og ved antitoxin eller antiserum den klare for blodlegemer og fibrin befriede del af blodet. Fortyndes enten toksin eller serum, inden de blandes, eller eventuelt umiddelbart efter blandingen, da har dette en betydelig indflydelse paa udfnugningen, idet  $Kf$  bliver større; fnugdannelsen bliver besværliggjort og fnuggene fine og smaa. En hel del sera har været undersøgt, baade hurtigt og langsomt reagerende. I det store og hele er ændringen af  $Kf$  proportional med fortyndingsgraden. Kurven Nr. II viser det typiske billede paa den virkning som en fortynding af serum med fys. Na Cl har, naar fortyndingen sker, inden toksinet tilblendes. En fortynding med normal hesteserum virker ogsaa nedsættende paa udfnugningshastigheden, gør altsaa  $Kf$  større. Fortyndes derimod ikke med normalserum, men med antidifteriserum, da vil  $Kf$  rette sig efter de paagældende seras  $Kf$ . Fortyndes et langsomt

reagerende serum med et hurtigt reagerende, da vil  $Kf$  for blandingen rette sig efter de respektive mængder af serum. Lad os f. eks. blande 1 cc. af et meget langsomt reagerende serum, som indeholder f. eks. 300 A. E. pr. cc., med 9 cc. af et serum, som er meget hurtigt reagerende. Har dette sidste haft styrken 10 A E. pr. cc., faas en blanding som



Kurve II, visende fortyndingens indflydelse paa  $Kf$ . Temp. = 40° C. (vandbad).

Toksin Nr. 610, Serum Nr. 472, Fortyndingsmiddel: fysiolog. Saltvand.

ialt indeholder omtrent 400 A. E., d. v. s. som har styrken omtrent 40 A E. pr. cc. Dette serums  $Kf$  vil næsten være den samme som b's  $Kf$  (hvis vi betegner henholdsvis det langsomt og det hurtigt reagerende serum med a og b), da den ene cc. ingen mærkbar indflydelse udøver. Havde man derimod fortyndet den ene cc. af serum a) med normalt hesteserum eller fysiolog. Na Cl, til styrken af blandingen var = ca. 40 A. E. pr. cc., da vilde denne sidste blanding have faaet en  $Kf$ -værdi flere gange større end den i forvejen store værdi af det oprindelige serum. Blandinger af

sera giver altsaa udfnugning efter deres antitoksinindhold, men viser  $Kf$  proportionalt med indholdet af »affinitetsenheder«.

### **Indvirkning af forskellige fremmede stoffer paa $Kf$ .**

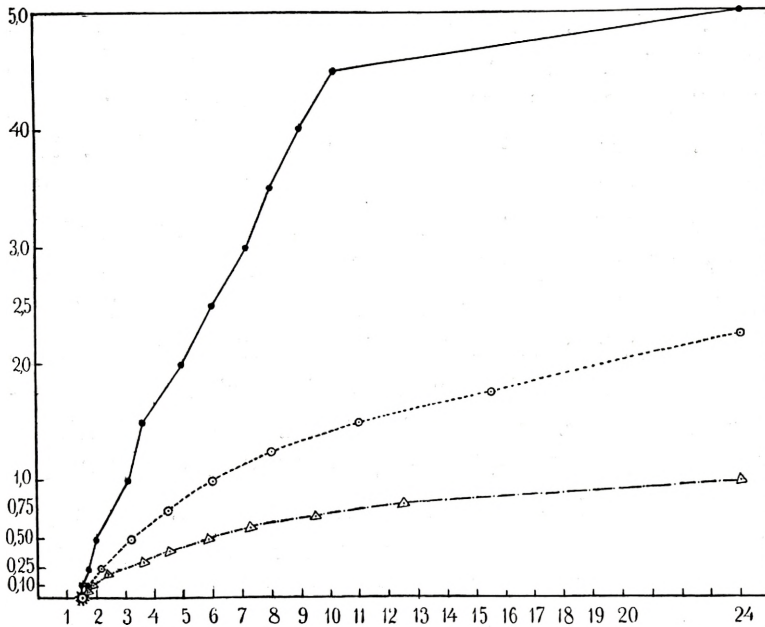
Til de første undersøgelser over det RAMON'ske udfnugningsfænomen benyttedes toksiner, som var fremstillet af almindelig kalvebouillon med tilsat pepton WITTE. Reaktionen hermed forløb kun trægt, og det forsøgtes derfor at koncentrere toksinerne ved hjælp af natrium- og ammoniumsulfat. I virkeligheden lykkedes det ogsaa forholdsvis let at opnaa en 2 à 3 gange koncentration af toksinindholdet; men det viste sig, at de koncentrerede toksiner imod forventning havde en langt større  $Kf$ -værdi end de friske toksiner. Ved nærmere undersøgelse opdagedes, at grunden hertil var, at det til Koncentrationen benyttede salt ikke var fuldstændig fjernet. Dialyseringen havde altsaa ikke været fortsat længe nok. Ved yderligere dialysering sank nemlig  $Kf$  betydeligt, blev mindre efterhaanden som dialysen skred frem. Dette gav mig idéen til at undersøge effekten af forskellige stoffer, først og fremmest salte paa udfnugningsfænomenet. En række stoffer blev undersøgt: Kalium-, Magnium-, Ammonium-, Kalciumsalte o. fl. a. elektrolyter. Desuden undersøgtes virkningen af organiske stoffer f. eks. alkoholer, aldehyder, ketoner, o. s. v. Alle de hidtil undersøgte stoffer ændrede udfnugningshastigheden henimod en større  $Kf$ -værdi. Saltene af de tunge metaller kunde kun tilsættes i ganske smaa mængder uden at give uklarhed eller bundfald med toksinet. Deres virkning var i disse smaa koncentrationer praktisk talt uden betydning. Ændringen af  $Kf$  stod i almindelighed i et bestemt forhold til den tilsatte stofmængde. Kun enkelte stoffers virk-



ning skal her omtales nærmere. Der skal først siges et par ord om tekniken.

Til alle forsøg anvendtes 10 cc. toksin, hvortil mængden af salt sattes. Efter opløsning fyldtes op med vand til

●—● Virkning af NaCl  
 ○- - -○ — - Na Br  
 ▷- - -▷ — - Na J



Kurve Nr. III. Virkningen af  $\text{Cl}^+$ ,  $\text{Br}^+$  og  $\text{J}^+$  paa  $Kf$ . Temperatur =  $40^\circ\text{C}$ . (vandbad.)

20 cc. og serum afpipetteredes. Der sørgedes saaledes for, at rumfanget hele tiden var konstant. Glassene var alle af samme kaliber, hvilket er nødvendigt for at opnaa ensartede resultater. Til hver undersøgelsesrække toges et kontrollforsøg med 10 cc. toksin + 10 cc. destilleret vand + serum, uden salt. Kurverne nr. III illustrerer virkningen af

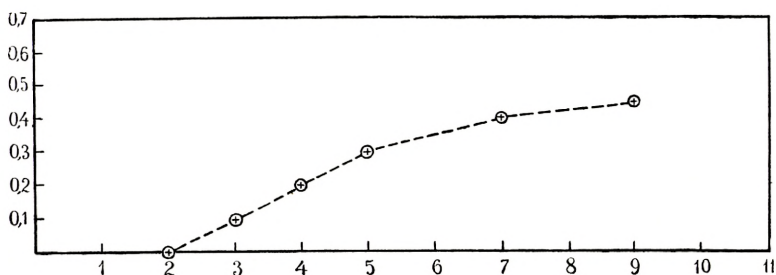
saltet. Ordinaten angiver de indeholdte saltmængder, udtrykt i molære koncentrationer, og abscissen er de tilsvarende  $Kf$ -værdier udtrykt i timer. Ved at kaste et blik paa den øverste kurve, som viser natriumkloridvirkningen, ser man, at ved koncentrationen 0,1 mol. er der endnu ingen virkning; denne blanding har samme  $Kf$ -værdi som kontrolforsøget. Ved konc. 0,25 mol. konstateres der en ganske vist ringe, men utvivlsom forhaling af udfnugningen. I en konc. af 1 mol. bevirker saltet en nedsættelse af udfnugningshastigheden, der svarer til en fordobling af den oprindelige  $Kf$ -værdi. Efterhaanden stiger  $Kf$  og til konc. 5 mol. svarer en  $Kf$ -værdi, der er lig med 24 timer. Man er nu oppe paa saa høje saltkoncentrationer, at opløsningen er mættet med hensyn til NaCl, men selv det, at der ligger et lag salt paa bunden af den mættede toksin-antitoxinblanding, formaar ikke at forhindre denne i at give udfnugning, kun at nedsætte reaktionshastigheden betydeligt.

Natriumbromid har en kraftigere virkning end kloridet. I en konc. svarende til 0,1 mol. giver saltvirkningen sig til kende. I konc. 0,1 mol. er virkningen dobbelt saa stor som for NaCl i konc. 1,0 mol. Ved konc. svarende til 2,25 mol. er  $Kf = 24$  timer og 2,5 mol. forhindrer totalt fremkomsten af bundfald. Selv om man lader blandingerne henstaa flere døgn i vandbad, kommer det ikke til fnugdannelse. Natriumjodidets indflydelse er endnu større end natriumbromidets. I en konc. svarende til 0,05 mol. har saltet allerede en synlig virkning. I en 0,3 mol. konc. virker natriumjodidet stærkere end natriumbromid i konc. 0,5 mol. Er jodidkonc. = 1 mol. kræves 24 timer for at bringe udfnugningen i stand, og i en konc. svarende til 1,1 mol. forhindrer saltet udfnugningen totalt. Den forskel i virkning af disse tre salte beror, da kationen i alle tre

tilfælde er ens, nemlig:  $\text{Na}^+$  følgelig paa de forskellige anioner. Ordnet efter virkning har man altsaa:  $\text{Cl}^+$ ,  $\text{Br}^+$ ,  $\text{J}^+$ , og omtrentlig udtrykt virker  $\text{Br}^+$  dobbelt saa stærkt som  $\text{Cl}^+$  og  $\text{J}^+$  atter dobbelt saa stærkt som  $\text{Br}^+$ . Kurverne viser, særlig for natriumjodidets vedkommende, en for saadanne forsøg udpræget regelmæssighed, især naar man tager i betragtning, at aflæsningen af reaktionen er temmelig vanskelig, i hvert fald kræver stor øvelse. Der findes mange overgangsformer mellem de først optrædende, næppe synlige smaaflug, der karakteriserer reaktionens indtræden i anden fase, og de store flugagglomerater, som er udtryk for processens endestadium. Det gælder derfor stedse om ved reaktionshastighedsbestemmelser at aflæse den samme grad af flugstørrelse, og mest korrekt vil det sikkert være at aflæse titeren i allerførste stadium af anden fase. Sulfationer synes (baade for natrium- og magnesiumsulfats vedkommende) at have en noget ringere virkning end kloridionerne, men resultaterne blev her noget mere usikre, da natriumsulfat og i mindre grad ogsaa magnesiumsulfat viste tilbøjelighed til at give uspecifikke udfældninger, der optraadte tidligere end den virkelige udfældning, og let adskiller sig fra denne ved et saltagtigt, fintkornet udseende. En meget kraftig virkning paa  $Kf$  har magnesiumklorid og ligeledes magnesiumnitrat. Kurven nr. IV viser indvirkningen af forskellige magnesiumkloridmængder. Allerede ved ca. 0,5 mol. er  $Kf \infty$ .

Indvirkningen af andre forbindelser, specielt organiske, skal kun lige nævnes her, da der sandsynligvis i mange tilfælde her er tale om indgribende forandringer af selve toksinet og maaske ogsaa antitoxinet. Aldehyder (og ketoner) virker ogsaa forhalende paa udfældningen; kloral kommer i virkning op i nærheden af magnesiumklorid. Nu

har RAMON nylig vist, at formaldehyd (ogsaa acetaldehyd) omdanner toksinet til et ugiftigt stof, der vel bevarer nogle af det oprindelige toksins væsentligste egenskaber, f. eks. evnen til at neutralisere antitoxin under udfnugning, ligesom den antigene funktion skal være uforandret tilstede. Efter RAMON's angivelser vil formaalet kun angribe toxinmolekylet. GLENNY, LÖWENSTEIN, MOLONEY og deres Medarbejdere har vist, at den udfnuggende funktion ogsaa i nogle tilfælde forandres. Dette sidste stemmer med mine



Kurve Nr. IV. Indvirkning af  $MgCl_2$  paa  $Kf$ .

egne erfaringer. Desuden har anatoksiner en noget ringere antigen evne end de tilsvarende friske toksiner. Som man ser, er der her altsaa ikke tale om en blot og bar indvirkning paa  $Kf$ -værdien.

### b) Forsøg in vivo.

#### Betydningen af det Ramon'ske fænomen.

Et spørgsmål, som vi hidtil ikke har drøftet, men som ligger meget nær, er følgende: Hvilken sammenhæng er der mellem udfnugningen, som optræder i en difteritoxin-antitoxinblanding og indholdet af virksomme bestanddele, nemlig henholdsvis toksin og antitoxin? RAMON hævder sely, at den blanding, som først giver udfnugning, er neutral med hensyn til toksin-antitoxin. For at afgøre dette maa man tage sin tilflugt til dyreeksperimenter.

RAMON injicerede derfor en række blandinger, indeholdende forskellige mængder antitoxin og samme toksinmængde subkutant paa marsvin. Herved viste det sig, at den blanding, som havde den mindste *Kf*-værdi, netop var neutral, at den resorberedes prompte, uden at give dyret intoksikation. De blandinger, som indeholdt mindre antitoxin, var ganske svagt toksiske og desto mere, jo mindre antitoxin de indeholdt. De blandinger, som indeholdt mere antitoxin end den først udfnuggende blanding, var antitoksiske. Vore erfaringer bekræfter RAMON's paastand. Egentlig skulde derfor *Lf* og *Lo*-værdierne falde sammen, hvilket de ogsaa omtrent gør i flere tilfælde. Som eksempel skal anføres følgende værdier for toksin MARTIN V 24:

d. m. m. (subkutant paa marsvin) = 0,005 cc.

<i>L<sub>1</sub></i>	—	—	= 0,18	-
<i>Lo</i>	—	—	= 0,14	-
<i>Lf</i>	—	—	= 0,13	-

Forskellen mellem *Lo* og *Lf* skulde da svare til den mængde toksin, som et marsvin kan taale uden at give reaktion. I ovennævnte tilfælde er forskellen ganske vist dobbelt saa stor som den mindste dræbende dosis. Ofte er forskellen betydelig større endnu. Dette har ført til, at den først udfnuggende blanding af flere forskere er blevet benævnt »overneutraliseret«, idet man til denne kunde føje relativt betydelige toksinmængder før den reagerede giftig paa marsvin. Nu er dette jo ikke noget bevis for, at blandingen er antitoksisk, men betyder kun, at toksinet indeholder en del toksoid; man har med andre ord et saakaldet EHRlich's fænomen. I denne sammenhæng er der grund til at nævne et nylig publiceret arbejde af H. SCHMIDT og W. SCHOLZ. Disse to forskere angiver, ved hjælp af en

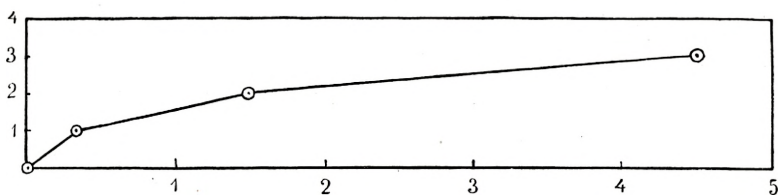
særlig metode, at have omdannet de i ethvert toksin tilstedeværende toksoider til toksin og opnaar saaledes at faa en fuld overensstemmelse mellem  $Lo$  og  $Lf$ , samt at faa disse to værdier = 200 bindingsenheder<sup>1</sup>. RAMON har paa vist, at ogsaa det dannede bundfald er neutralt, men at det ved ophedning bliver antitoksisk. Dette beviser, at bundfaldet bestaar af toksin og antitoksin. Efter RAMON'S undersøgelser skal størsteparten, men ikke alt toksin og antitoksin, som findes i væsken, rives med ned i bundfaldet. Andre undersøgere har derimod fundet den over bundfaldet staaende væske helt fri for toksin og antitoksin. Vi skal senere se, at vore egne erfaringer paa dette punkt falder sammen med RAMON'S.

### Udfnugningshastighed og reaktionshastighed.

Som tidligere nævnt reagerer serum af forskellige heste med forskellig hastighed overfor toksinet, d. v. s. at  $Kf$  varierer for serum af forskellige individer. Det at  $Kf$  ofte er paafaldende konstant for serum af samme individ, ledte mig paa den tanke, at der kunde bestaa en sammenhæng mellem  $Kf$  og selve reaktionshastigheden mellem toksin og antitoksin. Spørgsmaalet er saa meget interessantere, som man hidtil ikke har kunnet komme til nogen enighed angaaende reaktionshastigheden mellem toksin og antitoksin. A priori behøver det, at forskellige sera har en forskellig  $Kf$ , jo ikke at betyde, at deres antitoksin reagerer med forskellig hastighed overfor toksinet. Man kunde meget vel tænke sig at foreningen af toksin og antitoksin for de langsomt reagerende seras vedkommende var forløbet paa samme tid som for de hurtig reagerende, og at der i de

<sup>1</sup> d. v. s. at d. m. m. er lig med  $\frac{1}{200} Lo$  respektive  $\frac{1}{200} Lf$ .

sidste fandtes katalytiske stoffer, som fremskyndede udfnugningen eller, hvad der efter det i det foregaaende omtalte maaske var mere sandsynligt, at de langsomt reagerende sera indeholdt stoffer, som virkede forhalende paa udfnugningsfænomenet. Under omtalen af temperaturen nævntes, at kun enkelte sera reagerede ved  $70^\circ$ , og at nogle allerede ved  $65^\circ$  ikke mere formaaede at give udfnugning. Ved at betragte temperaturundersøgelser for en hel del sera saas det, at de sera, som reagerede ved  $70^\circ$  havde en meget lille  $Kf$ , medens de, der allerede ved  $65^\circ$  ingen ud-



Kurve Nr. V. Kurve visende virkningen af en ophedning af toksin til  $65^\circ$  til forskellige tider og de paagældende toksinprovers  $Kf$ .

fnugning gav, havde en meget stor  $Kf$ . Største parten af de undersøgte sera reagerede som nævnt ogsaa ved temperaturer mellem  $65$  og  $70^\circ$ , og deres  $Kf$ -værdier var temmelig smaa; disse nærmede sig mere den første gruppes  $Kf$ -værdier, altsaa de meget hurtig reagerendes.

Ved at opvarme toksinet til  $70^\circ$  i et minut ødelagdes udfnugningsevnen. Et saadan behandlet toksin formaaede ikke at give udfnugning, naar det blandedes med antitoxin i det optimale forhold.  $65^\circ$  havde ogsaa en højst skadelig indflydelse paa  $Kf$ , som vedlagte kurve udviser. Allerede en 1 minuts opvarmning til  $65^\circ$  forhaler udfnugningshastigheden med 20 minutter, en 2 minutters ophedning bevirker en  $1\frac{1}{2}$  times forsinkelse o. s. v.  $Kf$  nærmer sig meget hastig  $\infty$ . Kurve V. Der er sikkert her ikke tale om en blot og bar ændring af  $Kf$ , men om en partiel toksin-

destruktion, eventuelt om en toksoiddannelse, og vi forbeholder at behandle dette spørgsmaal nærmere i en særskilt afhandling sammen med temperaturens indflydelse paa toksin-antitoxinblandingerne  $Kf$ .

For de seras vedkommende, som ikke gav udfnugning, naar de umiddelbart efter blandingen med toksin udsattes for en temperatur af  $70^\circ$ , kunde man dog bringe reaktionen i stand, naar de efter at være blandet med toksinet henstilledes nogen tid ved en lavere temperatur, f. eks. almindelig stuetemperatur. Et serum, hvis  $Kf$ -værdi var = 22 timer ved  $20^\circ$  C., gav efter at være henstillet 20 timer ved denne temp. næsten momentan udfnugning, naar det bragtes ned i et vandbad paa  $70^\circ$ . Blandinger af samme serum, der kun havde staaet 10 og 15 timer, gav ingen udfnugning. Paa lignende maade forholdt flere andre sera sig, og jo mindre  $Kf$  var, desto kortere tids henstand behøvedes, inden blandingerne var i stand til at give udfnugning ved  $70^\circ$ . Dette forhold kan efter min mening tydes saaledes, at  $Kf$  virkelig er afhængig af reaktionshastigheden. Hvis  $Kr$  betegner reaktionstiden, bestaar altsaa et ligefrem proportionalt forhold mellem  $Kr$  og  $Kf$ . Jo større et serums  $Kf$ -værdi er, desto mindre er dets affinitet til toksin og omvendt. For nærmere at faa denne formodning bekræftet undersøgte et par forskellige sera paa følgende maade: En  $L_{\frac{1}{2}}$  dosis af samme toksin, som benyttedes til in vitro forsøgene, blandedes med forskellige serummængder. Nogle blandinger injiceredes straks intravenøst paa Kaniner, medens andre først henstilledes til binding i vandbad ved  $40^\circ$  i kortere eller længere tid, inden injektionen fandt sted. Hvis de forskellige sera virkelig havde en forskellig reaktionshastighed, maatte dette nu give sig til kende. MORGENROTH, der til sine forsøg over toksin-antitoxinreaktionen



har beuøttet denne metode, mente netop at kunne slutte, at toksinet ikke straks virkede paa antitoksinet, men at bindingen først var fuldendt efter nogen tids forløb. Vi skal senere se, at MØRGENROTHS forsøg til trods for det interessante, de afslørede, ikke gav tilstrækkeligt bevis for en saa generel slutning.

Jeg har til mine forsøg anvendt kaniner paa meget nær 2000 gram. Vægtsvingningerne androg ikke over 100 gram, og det fandtes, at variationer i vægten paa indtil 100 gram ikke formaaede at influere paa forsøgsresultaternes nøjagtighed. Differerer kaninerne derimod 200 gram eller mere i vægt, kan man ikke drage sikre sammenligninger mellem de forskellige forsøg. Til alle forsøg anvendes samme toksin, nemlig et lagret testtoksin, nr. 610. Toksinets forskellige værdier var følgende:

d. m. m.	= 0,005 cc.	(marsvin subkutant)
»	= 0,005 »	(kaniner intravenøst)
»	= 0,0016 »	(marsvin intrakardialt)
$L_f$	= 0,20 »	(marsvin subkutant)
$L_f$	= 0,20 »	(kaniner intravenøst, efter fuldstændig binding)
$L_o$	= 0,16 »	(marsvin subkutant)
$L_o$	= 0,16 »	(kaniner intravenøst; efter fuldstændig binding)
$L_f$	= 0,10 »	

Til alle forsøgene anvendes altsaa en dosis gift = 0,2 cc. Ialt undersøgtes 4 sera, hvoraf to stammede fra samme hest, kun udtagne paa forskellige tidspunkter af immuniseringen. De to andre stammede fra hver sit dyr. For at faa saa tydelige udslag som muligt, valgtes netop sera, hvis  $Kf$  viste store forskelligheder.

Tabel II.

Serum Nr.	Mængde i cc.	Udfnug- ning	<i>Kf</i>	Serums titer i AE. pr. cc.	Titer efter titrering paa Marsvin (Ehrlich)
503 <sup>II</sup> 21/4 25	10.0				
	8.0	(+)	1 <sup>h</sup> 30	2.66	2.5 — 2.8
	7.5	+			
	7.0	(+)			
	6.5				
6.0					
503 <sup>II</sup> 22/4 25	1.5		0 <sup>h</sup> 45	20.0	20.0 — 22.5
	1.25				
	1.0	+			
	0.9	(+)			
	0.8				
502 27/4 25	2.0		1 <sup>h</sup> 15	13.3	12.5
	1.6	(+)			
	1.5	+			
	1.4	(+)			
	1.3				
	1.2				
486 <sup>II</sup> 5/1 25	0.5		15 <sup>h</sup>	57.0	40.0 — 45.0
	0.45				
	0.4	(+)			
	0.35	+			
	0.32				
	0.3				

Først gjordes et Udtitreringsforsøg in vitro. 2 cc. toksin blandedes med ovenstaaende mængder af de forskellige sera, og blandingerne henstilledes i vandbad ved 40° C. Ved + betegnes tydelig udfnugning, ved (+) næppe synlig fnugdannelselse.

Ved nogle foreløbige titreringsforsøg paa kaniner fandtes den omtrentlige neutralisationsdosis for *L<sub>7</sub>*, hvorpaa de

nøjagtige forsøg udførtes. Forsøgstekniken var følgende: Serum afpipetteredes med en nøjagtig pipette i et glas, hvorpaa toksinet tilsattes. Glassene rystedes omhyggelig saaledes, at de to væsker blev godt blandede, og derpaa fortyndedes med sterilt vand til 4 cc., hvorpaa blandingen straks injiceredes intravenøst paa dyret. For de blandingers vedkommende, der skulde henstaa til binding, var teknikken den samme, idet glassene, saasnart toksin og serum var blandet, lukkedes med tætsluttende kautschukpropper, hvorpaa de henstilledes den foreskrevne tid i et vandbad paa 40°. Umiddelbart før injektionen fortyndedes blandingen med sterilt vand til 4 cc. ligesom i førstnævnte tilfælde. Det gælder naturligvis ved saadanne forsøg om at arbejde med særlig omhu, derfor benyttedes til hele forsøgsrækken altid de samme pipetter og spidsen af pipetten, der havde været neddyppet i væsken, toksin eller serum, aftørredes omhyggelig med et stykke sterilt vandsugende vat.

Omstaaende tabeller viser Forholdet mellem *Kf* og *Kr*. Serum nr. 503<sup>I</sup> stammer fra en blodprøve, som var udtaget 3 dage efter en førsteinjektion af 10 cc. anatoxin.

Serums titer var ca. 3 A E. pr. cc., og tabellen viser, at der praktisk talt ingen forskel er paa, om man injicerer serum eller toksin umiddelbart efter blandingen, eller man lader det henstaa i 24 timer til binding. De to dyr med henholdsvis 0,4 og 0,35 cc. serum overlever begge infektionen, medens de to, der kun fik 0,3 cc., begge dør inden 4. døgn, nemlig det ene paa 1½ og det andet paa 2½ døgn. Denne forskel er naturligvis for ringe til, at man heraf tør drage nogen slutning. I virkeligheden er *Kr* lig med 0. Næste tabel indeholder resultaterne for serum nr. 503<sup>II</sup>. Dette serum har ca. 20 A E. og stammer fra samme hest, men taget paa et lidt senere tidspunkt end immuniseringsperio-

Tabel III.

Serum Nr.	Aare- lad- nings- dato	$L\ddagger +$ Serum- mængder		Bindingstid v. 40° C.	Observation		<i>Kr</i>	<i>Kf</i>	Serumtiter i A E. pr. cc.			Bemærkninger	
		i cc.	i A E.		indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn			in vitro Ra- mon	in vivo (Ehrlich)			
										Mar- svin	Kani- ner		
486	$\frac{5}{1}$ 25	0.04	25	0	lever	lever						Titrationen paa kaniner svarer altsaa til resultatet af injektionen af blandingen, hvor i forvejen den fuldstændige binding har fundet sted.	
		0.04	25	—	—	—							
		0.036	28	—	—	—							
		0.034	30	—	—	—							
		0.034	30	—	—	—							
		0.032	31	—	—	† 7							
		0.032	31	—	† 4								
		0.03	33	—	† 3 $\frac{1}{2}$								
		0.029	34	—	lever	† 5							
		0.029	34	—	† 3 $\frac{1}{2}$								
		0.026	38	—	† 1 $\frac{1}{2}$								
		0.025	40	—	† 1								
		0.024	42	—	† 1 $\frac{1}{2}$								
		0.024	42	—	† 1 $\frac{1}{2}$								
		0.030	33	6 <sup>h</sup>	lever	lever							
		0.028	37	—	—	† 7 $\frac{1}{2}$							
		0.025	40	—	† 2 $\frac{1}{2}$								
		0.022	45	—	† 1 $\frac{1}{2}$								
		0.030	33	9 <sup>h</sup>	lever	lever							
		0.028	37	—	—	—							
		0.025	40	—	† 4								
		0.022	45	—	† 2 $\frac{1}{2}$								
		0.025	40	14 <sup>h</sup>	lever	lever							
		0.022	45	—	—	—							
		0.02	50	—	—	† 5 $\frac{1}{2}$							
0.015	66	—	† 2 $\frac{1}{2}$										
0.022	45	24 <sup>h</sup>	lever	lever									
0.02	50	—	—	† 4 $\frac{1}{2}$									
0.018	55	—	† 2 $\frac{1}{2}$										
0.015	66	—	† 1 $\frac{1}{2}$										
0.02	50	48 <sup>h</sup>	† 3 $\frac{1}{2}$										
0.018	55	—	† 1 $\frac{1}{2}$										
0.015	66	—	† 1 $\frac{1}{2}$	..	14 <sup>h</sup>	15 <sup>h</sup>	57.0	40—45	c. 50				

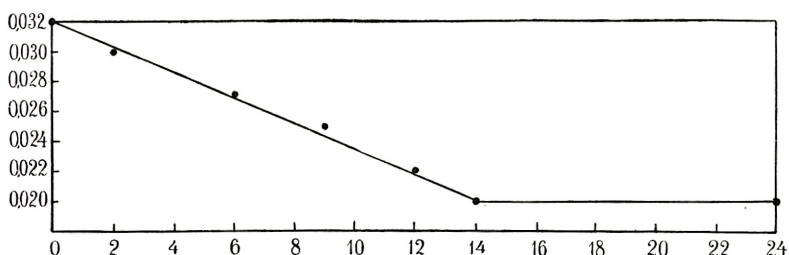
Tabel IV.

Tabel visende forholdet mellem  $Kf$  og  $Kr$  ved temp.  $40^{\circ}$  C.

Serum Nr.	Aareladningsdato	$L\ddot{r}$ + Serum-mængder		Bindingstid ved $40^{\circ}$ C.	Observation		$Kr$	$Kf$	Serumtiter i A E. pr. cc.			Bemærkninger
		cc.	A.E.		indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn			in vitro Ramon	in vivo (Ehrlich)		
										Marsvin	Kaniner	
503 I	21/4 25	0.4	2.5	0	lever	lever						
		0.35	2.8	—	—	—						
		0.30	3.3	—	† $1\frac{1}{2}$	..	..	..	..	c.2.8		
		0.4	2.5	24 <sup>h</sup>	lever	lever						
		0.35	2.8	—	—	—						
		0.30	3.3	—	† $2\frac{1}{2}$	..	0	1 <sup>h</sup> 30	2.66	2.5-2.8	c.2.8	
503 II	27/4 25	0.055	18.0	0	lever	lever						
		0.050	20.0	—	—	—						
		0.045	22.2	—	†2	..	..	..	..	c.20.0		
		0.05	20.0	2 <sup>h</sup>	lever	lever						
		0.045	22.2	—	† $3\frac{1}{2}$	..						
		0.04	25.0	—	†2	..						
		0.05	20.0	24 <sup>h</sup>	lever	lever						
		0.045	22.2	—	† $2\frac{1}{2}$	..	0	0 <sup>h</sup> 45	20.0	20.0	c.20.0	
502	27/4 25	0.08	12.5	0	lever	lever						
		0.07	14.3	—	—	—						
		0.065	15.4	—	—	—	..	..	..	..	c.15.0	
		0.06	16.6	—	† $1\frac{1}{2}$	..						
		0.06	16.6	—	† $1\frac{1}{2}$	..						
		0.055	18.0	—	† $1\frac{1}{2}$	..						
		0.065	15.4	$\frac{1}{2}$ <sup>h</sup>	lever	lever						
		0.06	16.6	—	—	†5						
		0.055	18.0	—	† $1\frac{1}{2}$	..						
		0.065	15.4	3 <sup>h</sup>	lever	lever						
		0.06	16.6	—	—	†8						
		0.055	18.0	—	† $2\frac{1}{2}$	..						
		0.07	14.3	24 <sup>h</sup>	lever	lever						
		0.065	15.4	—	—	—						
0.06	16.6	—	† $2\frac{1}{2}$	..	< $\frac{1}{2}$ <sup>h</sup>	1 <sup>h</sup> 15	13.3	12.5	c.1.50			
0.055	18.0	—	† $1\frac{1}{2}$	..								

Titringen paa marsvin er udført ved subkutan injektion af blandingerne, der ved kaninforsøgene er injiceret intravenøst.

den. Her viser det sig ligeledes, at der praktisk talt ingen forskel er paa resultatet, om man injicerer blandingen øjeblikkelig eller om man lader henstaa til binding i 2 timer eller i 24 timer. Ogsaa her er  $Kr$  lig med 0. Samme tabel viser forsøg med serum nr. 502. Her synes at være en ganske ringe forskel, idet det dyr, som har faaet 0,06 cc., dør paa  $1\frac{1}{2}$  døgn, hvis blandingen injiceres øjeblikkelig, paa 5 døgn, hvis man lader henstaa til binding i  $\frac{1}{2}$  time, paa 8 døgn, hvis man lader henstaa til binding i 3 timer, paa  $2\frac{1}{2}$  døgn,



Kurve nr. VI. Bindingskurve for serum nr. 486  $\frac{5}{1}$  25.  $L_7$  nedenstaaende paa ordinaten afsatte serumængder i cc.

hvis man lader henstaa til binding i 24 timer. Ogsaa dette serum er om ikke momentant saa dog meget hurtig reagerende og  $Kr$  er i dette tilfælde i hvert fald mindre end  $\frac{1}{2}$  time. Tabel III viser undersøgelser over et langsomt reagerende serum; her ses en overordentlig stor forskel paa, om injektionen sker straks, eller man lader henstaa til binding i 14 timer. Efter 14 timers forløb synes reaktionen at være løbet tilende, men heller ikke før, idet den nedenstaaende Kurve, nr. VI, hvoraf kan ses nogle flere punkter af denne proces, viser, at reaktionen skrider jævnt fremad. Hvert punkt paa Kurven er ligesom de øvrige i tabellerne nævnte bestemt ved hjælp af 3 kaniner, og det ses, at ved øjeblikkelig injektion kræves 0,032 cc. serum til at neutralisere  $L_7$ . Efter 2 timers binding er 0,003 cc. tilstrækkelig,

efter 6 timer 0,027 cc., efter 9 timer 0,025 cc., efter 12 timer 0,022 cc. og efter 14 timer 0,020 cc. Selv om man lader henstaa til binding i længere tid, f. eks. i 24 timer eller 48 timer, kræves dog mindst 0,02 cc. til neutralisation, hvilket altsaa vil sige, at denne mængde betegner grænsen. Kurven maa naturligvis ikke tages som noget eksakt udtryk, men værdierne er kun omtrentlige, idet man stadigvæk maa erindre, hvor vanskeligt det er at faa klare resultater af dyreeksperimenter.

Af de ovenstaaende forsøg ser man, at der er en god overensstemmelse mellem  $Kr$  og  $Kf$ , saa god som man vel har lov til at forlange ved forsøg af denne art. Men dette vil igen sige, at man maa anlægge en ny betragtning, naar man taler om toksinets og antitoxinets affinitet til hinanden. Det vil herefter være mere korrekt at tale om reaktionshastigheden mellem et bestemt toksin og antitoxinet i et givet serum, altsaa ikke at omtale antitoxin som et med stedsame egenskaber optrædende stof. Det maa endnu en gang understreges, at disse forsøg gælder kun for ufortyndet toksin og ufortyndet antitoxin. Er talen om fortyndede opløsninger, da forrykkes forholdet naturligvis. Ved nogle enkelte forsøg har vi overbevist os om, at en fortynding af henholdsvis toksin eller serum nedsætter reaktionshastigheden. Hvorvidt denne nedsættelse er proportional med fortyndingen, saaledes som tilfældet er for  $Kr$ 's vedkommende, kræves der selvfølgelig store forsøgsrækker til at afgøre, og vi kan derfor ikke paa det nuværende tidspunkt udtale os om relationen mellem fortyndingen og reaktionshastigheden.

Under omtalen af udfnugningsfænomenet nævntes den af RENAUX gjorte, særdeles interessante iagttagelse, at sera, som har været ophedet til ca.  $60^\circ$ , helt eller delvis mister

Tabel V.  
Bestemmelse af *Kr* efter opvarmning af serum.

Serum Nr.	Aareladningsdato	$L\ddot{r} + cc.$ Serum	Binding ved 40° C.	Observation	
				indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn
503 <sup>II</sup>	27/4 25	0.050	0	lever	lever
		0.047	—	—	—
		0.043	—	† 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—
		0.050	1 <sup>h</sup>	lever	—
		0.047	—	—	—
		0.043	—	† 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—
		0.050	24 <sup>h</sup>	lever	—
		0.047	—	—	—
		0.043	—	† 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—
		486	5/1 25	0.032	0
0.029	—			† 3	—
0.026	—			† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—
0.03	9 <sup>h</sup>			lever	lever
0.028	—			—	—
0.025	—			† 4	—
0.022	—			† 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—
0.025	24 <sup>h</sup>			lever	lever
0.022	—			—	—
0.020	—			—	† 5
		0.018	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>	—

deres udfnugningsevne, men at denne kan regenereres ved tilsætning af frisk serum. For nu at afgøre, om en saadan opvarmning, der skader udfnugningsfunktionen, har nogen indflydelse paa et serums *Kr*, opvarmedes to prøver, en af et langsomt og en anden af et hurtigt reagerende serum, nemlig nr. 503<sup>II</sup> og 486, altsaa de samme to, der benyttedes til de nysnævnte forsøg, i 1 time til 58°, hvorpaa der gjordes en udfnugningsreaktion, der faldt negativt ud, og derpaa prøvedes de to seras reaktionshastighed under anvendelse af nøjagtig samme teknik, som beskrevet tidligere for



de friske seras vedkommende. Tabel V viser, at denne opvarmning ingen mærkbar indflydelse har haft paa de to seras *Kr.* For serum nr. 486's vedkommende er der ganske vist ikke bestemt alle de punkter paa kurven, der svarer til det uopvarmede serums reaktionsevne, men de tre punkter, der er bestemte, falder saa nøje sammen med de andre, at man i hvert fald kan sige, at opvarmningen ikke har haft nogen væsentlig ændring til følge. Forsøgene viser endvidere, at opvarmning til en temperatur, der, i hvert fald delvis, destruerer udfnugningsfunktionen, ikke har nogen mærkbar indflydelse paa affinitetsfunktionen. Udfnugningsfænomenet er aabenbart paa en vis maade en selvstændig proces, som først optræder i det øjeblik, da selve reaktionsprocessen mellem toksin og antitoksin er tilendeløbet. Herpaa tyder ogsaa nogle undersøgelser af BAYNE-JONES. B-J. har i et nylig offentliggjort arbejde givet et værdifuldt bidrag til problemet antigen-antistofreaktionen. Han viser, at denne proces foregaar under en varmetoning, som er en varmeudvikling. Af B-J.'s forsøg fremgaar det netop, at udfnugningsprocessen foregaar i to tempi, nemlig først en binding mellem toksin og antitoksin, der udvikler et bestemt antal kalorier, og dernæst selve udfnugningen, der paany udvikler et bestemt antal kalorier. Lignende forhold har B-J. fundet for agglutininernes vedkommende.

### Saltenes indflydelse.

Ved omtalen af Udfnugningsfænomenet in vitro meddeltes nogle resultater af forskellige saltes indflydelse paa *Kf.* For nu at undersøge, om denne saltvirkning betyder en blot og bar hindring eller forhaling af reaktionens anden fase, d. v. s. af udfnugningen, eller om selve reaktionen toksin-antitoksin paavirkes, gjordes nogle forsøg dels med

Tabel VI.  
Tabel visende virkningen af natriumjodid paa *Kr*  
ved to sera.

Serum Nr.	<i>L</i> † + cc. af serum	Naf- mæng- de	Bin- dings- tid ved 40° C.	Observation		<i>Kf</i>	<i>Kr</i>	Titer i A E. pr. cc.
				indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn			
486 <sup>5</sup> / <sub>1</sub> 25	0.035	0.05 g	14 <sup>h</sup>	lever	lever			
	0.13	—	—	—	† 4 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>			
	0.025	—	—	† 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.02	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.015	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.035	—	24 <sup>h</sup>	lever	lever			
	0.03	—	—	† 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.025	—	—	† 2				
	0.02	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.015	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.035	—	48 <sup>h</sup>	lever	lever			
	0.13	—	—	† 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.025	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.02	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
0.015	—	—	† 1	..	∞	∞	c. 30	
503 <sup>I</sup> <sup>27</sup> / <sub>4</sub> 25	0.055	0.05 g	0	lever	lever			
	0.05	—	—	—	—			
	0.045	—	—	† 4	..	∞	?	
	0.055	—	24 <sup>h</sup>	lever	lever			
	0.05	—	—	—	—			
	0.045	—	—	† 3	..	∞	?	
	0.07	0.25 g	2 <sup>h</sup>	lever	lever			
	0.065	—	—	—	† 5			
	0.06	—	—	† 3 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.055	—	—	† 2 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
	0.05	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>				
0.045	—	—	† 1					
0.040	—	—	† 1 <sup>1</sup> / <sub>2</sub>		∞	∞	c. 15	

et hurtig reagerende serum og dels med et langsomt reagerende serum. Af hensyn til de mange dyr, saadanne forsøg kræver, er der foreløbig kun undersøgt jodnatriums

indflydelse, idet dette salt ved in vitro-forsøgene havde vist sig særdeles virksomt. Ved simpel omregning fra in vitro-forsøgene bestemtes den mængde, som skulde være tilstrækkelig til at forhindre reaktionen, til at være 0,05 gram. Først undersøgtes det langsomt reagerende serum, hvor  $Kr$  som omtalt fandtes = ca. 15 timer. Paa tabellen VI er opført en række dyr, som fik injektion af en  $L_T$ -dosis blandet med saadanne mængder serum, at de, efter en fuldstændig binding mellem toksin og antitoxin, skulde overleve forgiftningen. Der ses nu det mærkelige, at medens 0,02 cc. serum i et jodnatrium-frit millieu i løbet af 14 timer formaar at afgifte en  $L_T$  dosis, kan 0,025 cc. endnu ikke gøre dette, der kræves 0,03 cc., med andre ord omtrent den samme mængde, som fordres til at afgifte en  $L_T$  dosis, naar injektionen sker øjeblikkelig efter sammenblandingen. Man vil altsaa af forsøget kunne slutte, at den paagældende mængde jodnatrium har været i stand til totalt at forhindre bindingen mellem toksin og antitoxin. Af tabellen ses, at forsøg med 24 eller 48 timers binding fører til nøjagtig samme resultat. Om nogen destruerende indflydelse af jodnatrium paa bestanddelenes toksin eller antitoxin kan der aabenbart ikke være tale, da, som man ser, de dyr, som har faaet 0,035 cc. serum, hvilken dosis netop ligger paa grænsen af det, der skal til for at redde et dyr, ogsaa her trods jodnatriumtilsætningen forbliver i live.

Om nogen direkte giftvirkning af jodnatrium i den mængde, der her er anvendt, kan der heller ikke være tale, idet man, som tabel VII udviser, skal helt op paa den ti-dobbelte mængde for at dræbe en kanin. Forsøget med jodnatrium udføres paa den maade, at den bestemte mængde jodnatrium afmaaltes i glassene, hvorpaa serum tilsattes. Efter en omhyggelig blanding af serum og jodnatrium til-

Tabel VII.  
Jodnatrium intravenøst paa kaniner.

NaJ-mængde	Observationer	
	indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn
0.05 g	lever	lever
0.10 -	—	—
0.25 -	—	—
0.50 -	—	—
1.00 -	† 2	
2.0 -	† 1½	
4.0 -	† straks	

sattes toksinet, hvorpaa glassene efter at være lukkede med tætsluttende kautschukpropper henstilledes til binding ved 40°. Derefter fortyndedes med sterilt vand til 4 cc., inden injektionen foretoges.

Ved det hurtig reagerende serum nr. 503<sup>II</sup> er forholdet lidt anderledes, idet den mængde jodnatrium, som i de foregaaende tilfælde var tilstrækkelige til binding, her overhovedet ingen virkning har. 0,10 gram havde kun en svag virkning, og det viste sig, at der skulde anvendes 0,025 gram for at opnaa en kraftig virkning. Egentlig stemmer dette ikke med in vitro forsøgene, idet de 0.05 gram skulde være tilstrækkelig, men grunden til differensen ligger formodentlig deri, at man ved fortyndingen med vand gør saltmængden saa lille, at et serum, der besidder en saa stærk affinitet, selv i sin fortyndede opløsning er istand til at binde toksinet. Af tabellen ses, at medens der normalt kun skal ca. 0,045 cc. for at redde et dyr, skal man her op paa mellem 0,065 og 0.07 cc. Der skal altsaa, naar der er en passende mængde stof tilstede, ca. 50 % mere serum til at op-

hæve  $pH$ -virkningen af en  $L_7$  dosis. Paa en maade opfører dette serum sig nu, som om det var langsomt reagerende, idet man netop af det langsomt reagerende ogsaa skal benytte ca. 50 % mere serum til neutralisation, naar der er tilsat natriumjodid. Det vilde naturligvis være ønskeligt at undersøge, om bindingskurven, naar der er tilsat jodnatrium, forløber paa samme maade som udfnugningskurven. Da dette imidlertid kræver et kolossalt stort dyremateriale, har vi udskudt disse forsøg. Jodnatrium kan altsaa forhindre bindingen mellem toksin og antitoksin selv i et tilfælde, hvor affiniteterne er saa store som ved det momentant reagerende serum nr. 503. Det undersøgte derpaa, om det var muligt for det svagere reagerende serums vedkommende at spalte forbindelser, altsaa det allerede dannede toksin-antitoksin kompleks. Der gjordes to rækker forsøg, og der anvendtes 24 timers bindingstid for at være sikker paa reaktionens fuldstændige tilendeløben, derpaa tilsattes 0,10 gr. jodnatrium til hver forsøgsrække. I det ene tilfælde injiceredes øjeblikkelig, og her ser man, at jodnatriums virkning er meget ringe, i det andet tilfælde derimod, hvor blandingen faar lov at staa i 24 timer med jodnatrium, viser det sig, at den decomponeres fuldstændig, saaledes at man kommer tilbage til den oprindelige titer af omkring 0,03 cc.

Som bekendt er den blanding af toksin og antitoksin, som har mindre  $Kf$ -værdi end alle andre blandinger, ugiftig, naar den injiceres paa dyr, og det samme er tilfældet med det bundfald der opstaar. For at prøve, om selve bundfaldet igen kan spaltes i bestanddelene, behandlede en blanding, hvis  $Kf$  var = 15 timer, af toksin 610 og serum 486 (det meget langsomt reagerende serum) med jodnatrium 24 timer i vandbad i  $40^\circ$ . Forsøget udførtes med

Tabel VIII.

Tabel, som demonstrerer virkningen af natriumjodid paa en allerede bundet blanding af toksin og antitoxin.

Serum Nr.	Aarelad- nings dato	L $\ddot{a}$ + cc. serum	Bin- dings- tid ved 40° C.	NaJ- mængde	Hen- stand ved 40° C.	Observation	
						indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn
486	5/1 25	0.13	24 <sup>h</sup>	0.1 g	0	lever	lever
		0.026	—	—	—	—	÷
		0.022	—	—	—	—	† 5
		0.03	—	—	24 <sup>h</sup>	—	† 5
		0.026	—	—	—	† 2 $\frac{1}{2}$	
		0.022	—	—	—	† 1 $\frac{1}{2}$	

10 cc. toksin. Efter total udfnugning centrifugeredes, og den ovenstaaende vædske filtreredes gennem Berkefeldfilter for at blive befriet for den sidste rest af bundfald. Bundfaldet selv vaskedes flere gange med vand, hvorpaa det opslemmedes i en lille smule destilleret vand, og der fortyndedes op til 10 cc., derpaa tilsattes til de 5 cc. 0,10 gr. jodnatrium, og den samme mængde sattes til halvdelen af vædsken over bundfaldet. Blandingen henstilledes i vandbad ved 40° i 24 timer, og alle 4 vædsker injiceredes intravenøst paa kaniner. Af disse dyr levede de to kaniner, som havde faaet de jodnatriumfrie vædske, uanfægtet, medens den, der fik injiceret det med jodnatrium behandlede bundfald, blev lam i bagkroppen 6 døgn efter injektionen og døde paa 9' døgn. Den, der fik den med jodnatrium behandlede vædske, blev lam paa 16 døgn og døde paa 20' døgn. Dette forsøg viser to ting: for det første, at ikke alt toksin og antitoxin rives med i bundfaldet, men at noget, omend en mindre del, bliver tilbage i den ovenstaaende vædske. Des-

Tabel IX.

Virksomheden af bundfald og vædske som er behandlet med NaJ.

Injektion af vædsken over bundfaldet	Observation		Injektion af bundfald	Observation	
	indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn		indtil 4 Døgn	efter 4 Døgn
a) uden NaJ	lever	lever	a) opsl. i Saltvand	lever	lever
b) beh. m. NaJ i 24 <sup>h</sup>	—	lam 16 † 20	b) beh. m. NaJ i 24 <sup>h</sup>	—	lam 6 døgn † 9 —

uden viser det, at det allerede dannede bundfald atter — i hvert fald delvis — kan dissocieres i sine bestanddele, og endvidere, at dissociationen i dette tilfælde, hvor serum og toksin er langsomt reagerende, har tilfølge, at der dannes en lille smule frit toksin, som, da antitoksinet grundet paa tilstedeværelsen af jodnatrium er ude af stand til at udøve sin neutraliserende indflydelse kan gøre sin giftvirkning gældende.

Det her foreliggende eksperimentelle materiale belyser visse sider af reaktionen difteriantitoksin-difteritoksin. Som bekendt har der langt fra været enighed om denne reaktions natur; tværtimod har forskellige forskere, som har undersøgt spørgsmaalet, opstillet stærkt divergerende teorier. Fælles for alle tidligere opfattelser var, at man — vel vidende at toksinet bestod af eller i hvert fald i sit forhold til antitoksin opførte sig som bestaaende af flere komponenter — ansaa antitoksinet som værende et ensartet, temmelig veldefineret stof, der, ligegyldig fra hvilket individ det stammede, stedse baade kvalitativt og kvantita-

tivt reagerede paa samme maade overfor toksin. Uden at komme nærmere ind paa de tidligere teorier skal kun siges, at naar EHRLICH, paa den ene side, antog reaktionen toksin-antitoxin for at være hurtigt forløbende, d. v. s. at de to stoffer havde en stor Affinitet til hinanden, medens MADSEN, ARRHENIUS og for øvrigt ogsaa BORDET paa den anden side, opfattede processen som langsomt forløbende, hvilket altsaa svarede til en relativt ringe Affinitet mellem bestanddelene, da nævnes antitoxinet stedse uden at den mulighed omtales, at antitoksiner af forskellig oprindelse under samme forsøgsbetingelser kunde have en forskellig reaktionsevne. De ovenstaaende forsøg viser, at antitoksiner, der stammer fra forskellige individer kvalitativt er forskellige over for et og samme toksin. Affiniteten til toksin, som et hvert serum besidder i større eller mindre grad, maa herefter antages at bero paa en særlig funktion »affinitetsfunktionen«, som maaske er antitoxinet ret uvedkommende. Hertil kommer saa endnu en funktion, som man kunde kalde »udfnugningsfunktionen«, der igen forholder sig paa en særlig maade. Mulig er antitoxin i ren tilstand ude af stand til at paavirke toksin — d. v. s. intet egentlig antistof. Antistofkarakteren, der betinger bindingen til toksinet, skyldes den, større eller mindre udtalte, reaktive egenskab, som er tilstede i serum sammen med antitoxinet. Herfor taler ogsaa, at affinitetsfunktionen (og udfnugningsfunktionen) — bestemt for hvert enkelt individ — efter min erfaring holder sig konstant, uafhængig af variationer i serums antitoxinmængde under en immunisering. Hvis vi vilde betegne størrelsen af affiniteten ved enheder, altsaa tale om »affinitetsenheder«, ligesom man taler om antitoxinenheder, da kan et serum være rigt paa antitoxin og alligevel indeholde kun faa affinitetsenheder. Medens



man er i stand til i de fleste tilfælde vilkaarlig at variere indholdet af antitoksin i et dyrs serum, — nemlig ved enten at fortsætte eller ophøre med antigenbehandlingen —, har man endnu ingen midler til at gøre affiniteten eller aviditeten af serum større eller mindre.

I stedet for at tale om antitoksinets reaktion overfor toksin vilde det være mere korrekt at tale om et givet antitoksinholdigt serums reaktionsevne. Det kan da siges, at nogle sera reagerer hurtig, næsten momentant, stemmende med EHRLICH's opfattelse, medens andre og alle sera i passende fortynding forholder sig som paa staaet af ARRHENIUS og MADSEN.

Forsøgene viser endvidere, at reaktionen toksin-antitoksin under visse betingelser er reversibel, og hvor ringe en indflydelse der i virkeligheden skal til for at ændre processens retning. Her har vi saaledes en eksperimentel bekræftelse paa den ARRHENIUS-MADSEN'ske teori om reversibiliteten.

Spørgsmaalet om toksinets konstitution skal kun lige berøres her. EHRLICH antog som bekendt, at den almindelige difteribouillon foruden det specifikke toksin indeholdt et andet ligeledes primært dannet, men i modsætning til toksinet relativt ugiftigt stof, tokson. Toksin omdannedes til toksoid og tokson til toksonoid. MADSEN antog, at der kun fandtes et enkelt stof i giftbouillon, nemlig toksinet, som med tiden omdannedes til toksoid. EHRLICH fremførte særlig to argumenter for antagelsen af toksonernes eksistens: hos alle toksiner, selv ganske frisk fremstillede, var forholdet  $L_t - L_o$  stedse større end 1. De karakteristiske lammelser, som hyppig ses hos dyr, der har faaet ganske svagt toksiske toksin-antitoksinblandinger injiceret, optraadte ikke, hvis man injicerede brøkdele af en enkelt dødelig dosis af det rene toksin (uden antitoksin).

MADSEN og DREYER paaviste imidlertid, at submortelle toksindoser ogsaa er i stand til at fremkalde lammelser, og disse forsøg har jeg kunnet bekræfte. Ofte er lammelserne fremkomne allerede 3—4 dage efter injektionen.

Det nævntes i det foregaaende, at der ikke var noget helt sikkert forhold tilstede mellem et toksins  $L_f$ -værdi og dets giftighed. I det store og hele er der imidlertid, som jeg andetsteds har omtalt, en vis og ikke helt ringe parallelisme. Efter min opfattelse bør dette dog ikke tydes saaledes, at difteribacillerne i de forskellige tilfælde afsondrer gift af forskellig konstitution. Simplest er det vel at antage, at der i alle tilfælde dannes den samme gift. Forskellige difterigifte har jo væsentlig ensartede hovedegenskaber. Den større eller mindre forskel, der kan være tilstede mellem  $L_f$  og  $L_f$  hos en gift, behøver ikke at betyde, at den ene gift er mere »toksonrig« end den anden, men at der i det ene tilfælde er omdannet mere toksin til toksoid end i det andet. I en difteribacilkultur foregaar som bekendt to processer, en produktiv og en destruktiv. Den sidste er endnu kun lidet kendt i detailler. Formentlig begynder nedbrydningsprocessen i samme øjeblik som toksindannelsen og er derfor stærkere fremtrædende, saa længe denne sidste er ringe. Undersøgelser over brintionkoncentrationen under væksten har vist, at en difteribacilkultur i løbet af de første døgn antager en  $pH$ -værdi, der er noget mindre end begyndelsesværdien. Nu er lave  $pH$ -værdier som vist af flere forskere fatale for difterigift, særlig i forbindelse med varme. Naar KRAUS derfor har fundet, at friske, endnu ugiftige kulturer besidder immuniserende egenskaber, kan dette godt bero paa de til toksoid omdannede toksiner. Efterhaanden som bacillerne udvikler sig bliver toksindannelsen kraftig, og den destruktive proces træder i bag-

grunden, indtil toksindannelsen standser, hvorefter den atter faar overtaget. De paa kunstig maade dannede toksoider har en langt ringere affinitet til antitoxin end det friske toksin. Dette er f. eks. tilfældet med det RAMON'ske antitoxin, der vel nærmest maa opfattes som et slags toksoid, idet det har beholdt flere af det oprindelige toksins egenskaber.

EHRlich paastod, at toksoiderne vel formaaede at skabe en kraftig immunitet, men at de som frembringere af sera med højt antitoxinindhold var de friske toksiner underlegne. Dette sidste stemmer med vor erfaring om antitoxinets immuniserende evne.

I overensstemmelse med MADSEN er jeg saaledes tilbøjelig til at antage toksonernes eksistens. Derimod opfatter jeg toksinet som bestaaende af en enkelt gift, som ved spontan omdannelse mister sin giftighed, idet det overgaar til toksoid. Processen toksin  $\rightarrow$  toksoid kan accelereres ved indvirkning af forskellige fysiske eller kemiske »katalysatorer«.

---

## LITTERATURFORTEGNELSE

---

- EHRlich: Klinisches Jahrbuch, Bd. VI, 1897.  
MORGENROTH: Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 48, 1904.  
ARRHENIUS & MADSEN: Festskr. v. Indv. af Statens Serum Institut  
1902.  
MADSEN: Festskr. v. Indv. af Statens Serum Institut 1902.  
MADSEN & DREYER: Festskr. v. Indv. af Statens Serum Institut 1902.  
RAMON: Annales de l'Inst. Pasteur 1923 (37) 1001.  
— — — — — 1925 (39) 1.  
RENAUX: C. R. Soc. Biol. 1923 (II), 92.  
— — — — — 1924 (I), 964.  
BÄCHER, KRAUS & LÖWENSTEIN: Zeitschr. f. Imm. Forsch., Bd. 45,  
Heft I, p. 86 & 93.  
KRAUS, AWOKI & KOVÁCS: Zeitschr. f. Imm. Forsch., Bd. 45, Heft I,  
p. 42.  
LÖWENSTEIN: Zeitschr. f. Hygiene, Bd. 62, 1909.  
GLENNY, POPE & WADDINGTON: Journ. og Path. & Bact. 28, p. 279,  
1925.  
BAYNE-JONES: Proc. of the soc. of exp. biol. a. med., Bd. 22, p. 246,  
1925.  
BERTHELOT & RAMON: C. R. Acad. d. Sci. 180, 341, 1925.  
SCHMIDT, H. & SCHOLZ, W.: Arch. f. Hyg. Bd. 95, p. 308 & 339, samt  
Bd. 96, p. 172 & 185, 1925.  
GLENNY, POPE, WADDINGTON & WALLACE: Journ. of Path. & Bact.,  
29, p. 31, 1926.
-

## BIOLOGISKE MEDDELELSER

UDGIVNE AF

DET KGL. DANSKE VIDENSKABERNES SELSKAB

### 2. BIND (KR. 15,40):

	Kr. Ø.
1. BOAS, J. E. V.: Einige Bemerkungen über die Hand des Menschen. Med 10 Tavler. 1919 .....	2,50
2. KRABBE, KNUD H.: Bidrag til Kundskaben om <i>Corpus Pineale</i> hos Pattedyrene. Med 7 Tavler. Avec un résumé en français. 1920 .....	7,00
3. BARBARSON, GUÐMUNDUR G.: Om den marine Molluskfauna ved Vestkysten af Island. Med 1 Kort. 1920. ....	5,25
4. RAUNKJÆR, C.: Egern, Mus og Grankogler. En naturhistorisk Studie. 1920 .....	3,50
5. ROSENVINGE, L. KOLDERUP: On the spiral arrangement of the branches in some Callithamnieæ. 1920. ....	2,25

### 3. BIND (KR. 19,95):

1. BOCK, JOHANNES, og POUL IVERSEN: The Phosphate Excretion in the Urine during water diuresis and purine diuresis. 1921	1,00
2. OSTENFELD, C. H.: Contributions to West Australian botany. Part III. C. H. Ostenfeld: Additions and notes to the flora of extra-tropical W. Australia. (With XII plates and 19 figures in the text). 1921 .....	10,50
3. KROGH, AUGUST: Fortsatte Studier over Kapillærernes Fysiologi. 1921. ....	0,70
4. FIBIGER, JOHANNES, og FRIDTJOF BANG: Experimental production of Tar Cancer in white mice. With six plates. 1921 .....	5,75
5. ELLERMANN, V.: Mesurage des angles des mitoses comme moyen de distinguer entre elles les diverses cellules lymphoïdes dans la moëlle osseuse. Avec une planche. 1921 .....	1,00
6. WALBUM, L. E.: Manganoklorids og nogle andre Saltes Indvirkning paa Antitoxindannelsen. With a résumé in english. 1921 .....	1,10
7. KRABBE, KNUD H.: Fortsatte Undersøgelser over <i>Corpus Pineale</i> hos Pattedyrene. Med 3 Tavler. Avec un résumé en français. 1921 .....	2,50

	Kr. Ø
8. PURDY, HELEN ALICE: Studies on the path of transmission of phototropic and geotropic stimuli in the coleoptile of <i>Avena</i> . 1921 .....	1,00
9. PETERSEN, C. G. JOH.: Om Tidsbestemmelse og Ernæringsforhold i den ældre Stenalder i Danmark. En biologisk Studie. (Med en Kortskitse.) With a résumé in english. 1922 .....	0,65
10. RAUNKJÆR, C.: Forskellige Vegetationstypers forskellige Indflydelse paa Jordbundens Surhedsgrad (Brintionkoncentration). 1922 .....	2,40

#### 4. BIND (KR. 18,55):

1. JENSEN, P. BOYSEN: Studien über den genetischen Zusammenhang zwischen der normalen und intramolekularen Atmung der Pflanzen. 1923 .....	1,10
2. MÜLLER, P. E.: Bidrag til de jyske Hedesletters Naturhistorie. Karup Hedeslette og beslægtede Dannelser. En pedologisk Undersøgelse. Med 1 Kort. Avec un résumé en français. 1924 .....	8,25
3. LINDHARD, J.: On the Function of the Motor End-Plates in Skeletal Muscles. 1924 .....	1,00
4. BOAS, J. E. V.: Die verwandtschaftliche Stellung der Gattung <i>Lithodes</i> . (Med 4 Tavler). 1924 .....	2,35
5. BÁRÐARSON, GUÐMUNDUR G.: A Stratigraphical Survey of the Pliocene Deposits at Tjörnes, in Northern Iceland. With two maps. 1925 .....	9,75
6. ANKER, JEAN: Die Vererbung der Haarfarbe beim Dachshunde nebst Bemerkungen über die Vererbung der Haarform. 1925 .....	2,25

#### 5. BIND (under Pressen):

1. RAUNKJÆR, C.: Eremitageslettens Tjørne. Isoreagentstudier. I. 1925 .....	2,50
2. PETERSEN, C. G. JOH.: Hvorledes Hvalerne bærer sig ad med at svømme. 1925 .....	0,50
3. BØRGESSEN, F.: Marine Algæ from the Canary Islands, especially from Teneriffe and Gran Canaria. I. Chlorophyceæ. 1925 .....	7,35
4. KRABBE, KNUD H.: L'organe sous-commissural du cerveau chez les mammifères. Avec XVII planches. 1925 .....	5,70
5. RAUNKJÆR, C.: Nitratindholdet hos <i>Anemone nemerosa</i> paa forskellige Standpladser. 1926 .....	1,80
6. BOAS, J. E. V.: Zur Kenntnis symmetrischer Paguriden. 1926 .....	3,40
7. BOAS, J. E. V.: Zur Kenntnis des Einsiedlerkrebses <i>Paguropsis</i> . 1926 .....	1,60
8. SCHMIDT, S.: Om reaktionen mellem toksin og antitoxin (difteri). 1926 .....	1,75