

|                     |  |
|---------------------|--|
| <b>Zeitschrift:</b> | Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène       |
| <b>Herausgeber:</b> | Bundesamt für Gesundheit   |
| <b>Band:</b>        | 1 (1910)   |
| <b>Heft:</b>        | 4  |
| <b>Artikel:</b>     | Beitrag zur Frage der Differenzierung von Pflanzenarten mittelst des biologischen Verfahrens (Komplementbindungsmethode) |
| <b>Autor:</b>       | Thöni, J.  |
| <b>DOI:</b>         | <a href="https://doi.org/10.5169/seals-983229">https://doi.org/10.5169/seals-983229</a>                                  |

#### Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

#### Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

#### Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

**Download PDF:** 28.01.2026

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>**

**MITTEILUNGEN**  
AUS DEM GEBIETE DER  
**LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIEINE**  
VERÖFFENTLICHT VOM SCHWEIZ. GESUNDHEITSAMT  
**TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE**  
**ET D'HYGIÈNE**  
PUBLIÉS PAR LE SERVICE SANITAIRE FÉDÉRAL

---

ABONNEMENT : Schweiz Fr. 8.— per Jahrg. — Ausland Fr. 10.— oder M. 8.—.  
Suisse fr. 8.— par année. — Etranger fr. 10.— ou M. 8.—.  
Preis einzelner Hefte Fr. 1.50 (Ausland M. 1.50).  
Prix des fascicules fr. 1.50 (étranger M. 1.50).

---

BAND I

1910

HEFT 4

**Beitrag zur Frage der Differenzierung von Pflanzenarten mittelst  
des biologischen Verfahrens (Komplementbindungsmethode).**

Von Dr. J. THÖNI, Assistent  
für Bakteriologie am Laboratorium des schweizerischen Gesundheitsamtes Bern.

Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern.

Direktor: Professor Dr. W. Kolle.

*Einleitung.*

Die Entdeckung von *Kraus* im Jahre 1897, dass Immunserum in Filtraten der Bakterienkulturen spezifische Niederschläge — Präzipitine — erzeugt, führte später zu der durch *Uhlenhuth* und *Wassermann* ausgearbeiteten Präzipitinmethode zur Unterscheidung von Menschen- und Tierblut. Während also die ersten Beobachtungen der Bildung von Präzipitinen durch Eiweisskörper der Bakterien, die den Pflanzenzellen und den Eiweisskörpern derselben sehr nahe stehen, erfolgte, wurde erst später der Nachweis geführt, dass auch die tierischen Eiweisskörper imstande sind, Präzipitine zu bilden. In der Folge haben dann die letzteren an praktischer Bedeutung für diagnostische Zwecke die Pflanzenpräzipitine übertroffen. Die Frage, ob es möglich sei, mittelst dieser serodiagnostischen Methode auch die höheren Pflanzen zu differenzieren, war bereits Gegenstand verschiedener Arbeiten. Die erste über Pflanzeneiweiss, auf Anregung von Prof. *Kolle* ausgeführte, stammt von *Kowarsky*,<sup>1)</sup> weitere Versuche veröffentlichte *Schütze*.<sup>2)</sup> Beide Autoren stellten fest, dass sich gegen pflanzliche Eiweisstoffe Präzipitine erzeugen lassen, die aber nicht so streng spezifisch sind.

<sup>1)</sup> *Kowarsky*, Ueber den Nachweis von pflanzlichem Eiweiss auf biologischem Wege. Deutsche medizinische Wochenschrift XXVII, 1901.

<sup>2)</sup> *Schütze*, Ueber weitere Anwendung der Präzipitine. Deutsche medizin. Wochenschrift XXVIII, 1902.

*Bertarelli*<sup>1)</sup> konnte für Leguminosenmehle nur quantitative Unterschiede ermitteln, während er bei Gramineenmehlen gar keine Reaktion erhielt. *Gasa*<sup>2)</sup>, *Relander*<sup>3)</sup> und *Werner Magnus*<sup>4)</sup> kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zum Schlusse, dass die pflanzlichen Eiweissstoffe « sehr deutliche Reaktionen gaben und mindestens so spezifisch reagierten, wie die tierischen, zumeist noch viel spezifischer (Magnus) ».

Alle hier aufgezählten Arbeiten basieren auf dem Nachweis von Präzipitinien.

Nun ist von verschiedenen Forschern, wie *Uhlenhuth*, *Weidanz* u. a. m. gezeigt worden, dass gewöhnlich in dem mit Eiweissstoffen vorbehandelten Serum komplementbindende Stoffe gebildet werden, und von *Neisser* und *Sachs* ist eine Methode in Vorschlag gebracht worden, wonach diese Antikörper in ausserordentlich kleinen Quantitäten noch mit grosser Sicherheit nachweisbar sind.

Es lag daher der Gedanke nahe, zu prüfen, ob es mit Hilfe der Komplementbindungsmethode möglich ist, eine spezifische Differenzierung von höheren Pflanzen zu erreichen. An Hand einer Anzahl von Versuchen mit verschiedenen Pflanzen und Mehlen suchten wir einen Beitrag zur Lösung dieser Frage zu liefern.

### Die Komplementbindungsmethode.

Bevor wir auf unsere Versuche eintreten, erscheint es angezeigt, das Verfahren der Komplementbindungsmethode zu skizzieren.

Ueber das Wesen und Zustandekommen der Reaktion sind die Ansichten noch nicht abgeklärt.

Nach den Untersuchungen von *Gengou* und *Moreschi* ist die Komplementbindung stets dann zu beobachten, wenn eiweissartige Antigene bei Gegenwart von aktivem Normalserum mit ihren spezifischen Antikörpern in Berührung treten.

Zur Ausführung der Reaktion ist erforderlich:

1. Ein hochwirksames Antiserum gegen jene Eiweissart, die nachgewiesen werden soll.
2. Frisches, komplementhaltiges Normalserum vom Meerschweinchen.
3. Gewaschenes Hammelblut in 5 %iger Aufschwemmung.
4. Inaktives, vom Kaninchen gewonnenes Immunserum gegen Hammelblut (Ambozeptorenserum).

<sup>1)</sup> *Bertarelli*. Die Verwendung der biologischen Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsenfruchtmehle, mit besonderer Berücksichtigung der Wicke. Zentralblatt für Bakteriologie, Abt. II, Bd. XI, 1904.

<sup>2)</sup> *Gasa*. Ueber die Unterscheidung verschiedener Pflanzeneiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera. Berl. klin. Wochenschrift, 1908.

<sup>3)</sup> *Relander*, Lauri Kr. Kann man mit Präzipitinreaktion Samen verschiedener Pflanzenarten und Abarten unterscheiden? Zentralblatt für Bakteriologie, Abteilung I, Bd. XX, 1908.

<sup>4)</sup> *Magnus*, Werner. Die Erkennung von Mehlverfälschungen durch die serumdiagnostische Methode. Landw. Jahrbücher, Bd. XXXVIII, Ergänzungsband V, 1909.

Hammelblutkörperchen, Ambozeptorenserum und Komplement bilden zusammen das sogenannte hämolytische System. Die Auflösung der Erythrocyten findet statt bei Gegenwart von Komplement, wenn das letztere nicht von anderer Seite gebunden wird. Dies tritt, wie oben bemerkt, dann ein, wenn mit dem Komplement ein Eiweisskörper und dessen Antikörper in dem Gemische zugegen ist. In einem solchen Falle bleibt dann, infolge einer Bindung des Komplementes, die Hämolyse aus und dies gestattet, da die Natur des verwendeten Eiweissimmunserums bekannt ist, einen Schluss auf die Provenienz des fraglichen eiweishaltigen Materials.

Von ausserordentlicher Wichtigkeit bei der Ausführung des Komplementbindungsversuches sind die quantitativen Verhältnisse der einzelnen dabei verwendeten Reagentien. Es muss daher eine sorgfältige Bestimmung ihrer Wirksamkeit dem eigentlichen Versuche vorausgehen. Dabei wird mit der Einstellung des Ambozeptors begonnen. Zu je 1 cm<sup>3</sup> der 5 %. Hammelblutaufschwemmung wird je 1 cm<sup>3</sup> 5 %. Komplement hinzugesetzt und mit absteigenden Mengen des inaktivierten Ambozeptors gemischt. Nachdem die Gemische 1 Stunde bei 37° C gestanden haben, kann das Resultat abgelesen werden. Für die weiteren Versuche wird die doppelte Menge der ermittelten, komplettlösenden Dosis benutzt. Es empfiehlt sich, in analoger Weise auch das Komplement auszutitrieren.

Unter Verwendung eines derartigen Systemes wird nun der Wirkungswert des Eiweissantiserums, das zur Identifizierung der fraglichen Substanz dienen soll, bestimmt. Das Antiserum darf aber ebenfalls nicht in beliebiger Menge verwendet werden, indem ein Ueberschuss davon an und für sich komplementbindend wirken kann. Es muss daher mit jedem Antiserum ein Vorversuch angestellt werden, wobei das Antiserum in abgestuften Mengen einmal allein, gleichzeitig in einer Parallelreihe mit einer vorher bestimmten, gleichbleibenden Menge des Antigens geprüft wird.

Sind diese Fragen gelöst, so wird der eigentliche Komplementbindungsversuch in der Weise ausgeführt, dass neben dem zur Herstellung des Antiserums verwendeten Eiweissextrakte noch andere Auszüge eiweissartiger Natur in Anwendung kommen. Die früher ermittelte Menge inaktivierten Antiserums wird nun mit der Testdosis, Komplement und absteigenden Mengen der verschiedenen Eiweissextrakte gemischt und nach einstündigem Aufenthalt im Brutschrank Hammelblutaufschwemmung und Hammelblutambozeptor zugesetzt. Ausserdem sind analoge Kontrollen, ohne Antiserum, anzulegen, die nur das zu prüfende Antigen und Komplement enthalten und nach einer Stunde, wie die übrigen Röhrchen, mit Blut und Ambozeptor beschickt werden.

Ist das Antiserum wirksam und spezifisch, so darf, nach nochmaliger Aufstellung bei 37° C während 1/2 Stunde nur in denjenigen Röhrchen, die Eiweissextrakt + homologes Antiserum enthalten, Hemmung sich zeigen, während der Inhalt der übrigen Gläser Hämolyse aufweisen muss.

## Experimenteller Teil.

### I. Herstellung der Pflanzenextrakte und ihr Verhalten mit Erythrocyten und hämolytischem System.

Zu den vorliegenden Untersuchungen wurden folgende Pflanzen benutzt:

1. Blätter von *Plantago lanceolata*, Spitzwegerich;
2. Blätter von *Plantago media*;
3. Blätter von *Hedera Helix*, Epheu.

An Mehlen:

Gersten- und Weizenmehl.

Die Blätter dieser Pflanzen wurden in grünem Zustande gesammelt, dann gehörig gewaschen und im Brutschrank getrocknet. Nachdem sie gut ausgedörrt waren, wurden sie im Mörser möglichst fein verrieben und nachher extrahiert. Als Extraktionsflüssigkeiten dienten teils physiologische Kochsalzlösung + 0,5 % Phenollösung, teils Antiformin in 2 %iger Lösung. Auf je 3 g Pflanzenpulver verwendeten wir 10 cm<sup>3</sup> des Lösungsmittels. Nach Durchmischung der Pflanzenteile mit der Extraktionsflüssigkeit kamen die Mischungen während 3 Stunden in den Brutschrank zu stehen und nachher wurden sie 24 Stunden lang mittelst Schüttelapparat geschüttelt. Durch Zentrifugieren gelang es gewöhnlich nicht, ein klares Extrakt zu erhalten, und so filtrierten wir die Mischungen durch gewöhnliche Papierfilter. Bei dem Antiforminextrakt wurde nach der Filtration das Antiformin mittelst Schwefelsäure und Natriumnitrit noch neutralisiert.

Die Mehle hatten wir selbst, um ihrer Reinheit sicher zu sein, aus Körnern gemahlen. Die Mahlextrakte wurden in der beschriebenen Weise, wie bei den Blättern, bereitet.

Bevor nun diese Pflanzenextrakte zur Immunisierung von Tieren verwendet werden konnten, war es notwendig, zu prüfen, ob sie allein ohne Komplement hämolytisch wirkende oder komplementbindende Stoffe enthalten. Ueber diese beiden Fragen geben die nebenstehenden Tabellen I und II näher Aufschluss. Tabelle I zeigt das Verhalten der Pflanzenextrakte mit 5 %iger Hammelblutaufschwemmung und Tabelle II das Verhalten der Extrakte mit dem hämolytischen System.

Einzig bei *Hedera Helix* (Tabelle I) bewirkte die Menge von 1,0 und 0,5 cm<sup>3</sup> vollständige Hämolysen, während die übrigen Pflanzenextrakte die Erythrocyten unverändert liessen. Bei einer weiteren Prüfung war auch bei *Hedera* keine Lösung mehr zu konstatieren.

Bei Gegenwart von hämolytischem System (Tabelle II) zeigen die stärkeren Konzentrationen von *Hedera Helix* wieder ein abweichendes Verhalten gegenüber den schwächeren Dosen und den übrigen Pflanzenextrakten, indem die Hämolysen bei der einen ganz ausbleibt, bei der andern eine unvollkommene ist. In noch stärkerem Masse war dies bei dem Antiforminextrakt von *Plantago lanceolata*, der in der Tabelle nicht aufgeführt wird, der Fall. Eine Lösung der Erythrocyten erfolgte nur bei der Dosis von 0,1. Für die weiteren Versuche benützten wir gewöhnlich als Antigenmenge 0,2 cm<sup>3</sup>; die

Tabelle I.

| Pfanzextrakte              | Antigenmenge        | 5% Hammelblutaufschwemmung | Gesamtmenge in den Röhren<br>(Mit physiolog. Kochsalzlösung aufgefüllt) | Befund           |
|----------------------------|---------------------|----------------------------|---|------------------|
| <i>Plantago lanceolata</i> | 1.0 cm <sup>3</sup> | 1 cm <sup>3</sup>          | 4 cm <sup>3</sup>   | ungelöst         |
| » » . . .                  | 0.5 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » » . . .                  | 0.2 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » » . . .                  | 0.1 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| <i>Plantago media</i>      | 1.0 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » » . . .                  | 0.5 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » » . . .                  | 0.2 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » » . . .                  | 0.1 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| <i>Hedera Helix</i>        | 1.0 »               | 1 »                        | 4 »   | komplette Lösung |
| » » . . .                  | 0.5 »               | 1 »                        | 4 »   | » »              |
| » » . . .                  | 0.2 »               | 1 »                        | 4 »   | ungelöst         |
| » » . . .                  | 0.1 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| Weizenmehl                 | 1.0 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » . . .                    | 0.5 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » . . .                    | 0.2 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » . . .                    | 0.1 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| Gerstenmehl                | 1.0 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » . . .                    | 0.5 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » . . .                    | 0.2 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |
| » . . .                    | 0.1 »               | 1 »                        | 4 »   | »                |

Tabelle II.

| Pflanzenextrakte<br>(wässerige) | Antigenmenge        | Hämolytisches System | Total cm <sup>3</sup> in den Röhrchen | Befund               |
|---------------------------------|---------------------|----------------------|---------------------------------------|----------------------|
| <i>Plantago lanceolata</i>      | 1.0 cm <sup>3</sup> | 3 cm <sup>3</sup>    | 4                                     | komplette Lösung     |
| » » . . .                       | 0.5 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » » . . .                       | 0.2 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » » . . .                       | 0.1 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| <i>Plantago media</i>           | 1.0 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » » . . .                       | 0.5 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » » . . .                       | 0.2 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » » . . .                       | 0.1 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| <i>Hedera Helix</i>             | 1.0 »               | 3 »                  | 4                                     | ungelöst             |
| » » . . .                       | 0.5 »               | 3 »                  | 4                                     | nur teilweise Lösung |
| » » . . .                       | 0.2 »               | 3 »                  | 4                                     | komplette Lösung     |
| » » . . .                       | 0.1 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| Weizenmehl                      | 1.0 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » . . .                         | 0.5 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » . . .                         | 0.2 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » . . .                         | 0.1 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| Gerstenmehl                     | 1.0 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » . . .                         | 0.5 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » . . .                         | 0.2 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |
| » . . .                         | 0.1 »               | 3 »                  | 4                                     | » »                  |

grösseren Mengen 1,0 und 0,5 cm<sup>3</sup> zeigten bei längerem Stehen zuweilen Methämoglobinbildung. Einzig bei dem Antiforminextrakt wurde die Dosis von 0,1 cm<sup>3</sup> verwendet.

### **2. Gewinnung der Antisera und die damit im Zusammenhange stehenden Vorversuche.**

Zur Erzeugung des spezifischen Serums wurden nur Kaninchen benutzt. Vor Beginn der Immunisierung war es notwendig, die Sera der zur Behandlung vorgesehenen Tiere auf ihr Verhalten mit hämolytischem System allein und mit hämolytischem System + Antigen zu prüfen, da die Möglichkeit nicht ausgeschlossen ist, dass im Serum noch nicht behandelter Tiere oder im Serum + Antigen Stoffe vorhanden sind, die komplementbindend wirken können. Wie aus den Tabellen III und IV ersichtlich ist, war dies bei unseren Tieren nicht der Fall.

Die Injektion der Pflanzenextrakte geschah teils intravenös, teils intraperitoneal. Bei den intravenös gespritzten Tieren betrug die Anfangsdosis  $\frac{1}{2}$  cm<sup>3</sup>, bei den intraperitoneal behandelten 10 cm<sup>3</sup>. Die Extraktmenge wurde allmählich gesteigert und in einem Zeitraum von zirka 6 Wochen, bei 4—5tägigen Injektionen, auf 8 bzw. auf zirka 35 cm<sup>3</sup> gebracht. Zur Immunisierung benützten wir die wässrigen Extrakte von *Plantago lanceolata*, *Hedera Helix*, Gersten- und Weizenmehl, ferner das Antiforminextrakt von *Plantago lanceolata*. Die Tiere ertrugen die pflanzlichen Eiweisslösungen gut; anfänglich war wohl meistens ein geringes Abmagern zu beobachten, aber sie erholten sich im allgemeinen rasch wieder. Nach 6—8wöchentlicher Dauer der Behandlung wurde damit aufgehört. Um über den Gang der Immunisierung orientiert zu sein, entnahmen wir aus der Ohrvene den Tieren von Zeit zu Zeit Proben von Blut. Zeigte ein Serum gegen sein homologes Extrakt eine deutliche Reaktion, die auch in grösseren Verdünnungen noch nachweisbar war, so wurde das betreffende Tier durch Oeffnen der Carotis entblutet und das daraus gewonnene Serum zum Zwecke der Möglichkeit des längeren Aufbewahrens mit  $\frac{1}{10}$  des Volums 5 %iger Carbonsäurelösung versetzt.

### **3. Verhalten der mittelst verschiedener Pflanzenextrakte, als Antigene, gewonnenen Antisera.**

Um den Gehalt des Serums an spezifischen komplementverankernden Stoffen für die einzelnen Pflanzeneiweisse festzustellen, wurde in folgender Weise verfahren.

Nachdem das Antiserum durch halbstündiges Erhitzen auf 56° C inaktiviert war, wurde es in fallender Dosis von 0,2, 0,1, 0,05, 0,02, 0,01 und 0,005 cm<sup>3</sup> in die Röhrchen eingefüllt und Pflanzenextrakte als Antigen in konstanter Menge zugesetzt. Hiezu kam ferner 1 cm<sup>3</sup> 5 %ige frisch gewonnene Meerschweinchenserumlösung (Komplement). Das Ganze wurde gehörig durchgeschüttelt und für 1 Stunde in den Brutschrank bei 37° C gebracht. Dann wurde dem Gemisch 1 cm<sup>3</sup> 5 %ige Hammelblutkörperchen-Aufschwemmung und die Testdosis inaktivierten Kaninchenserums, das gegen

Tabelle III.

| Inaktiviertes<br>Kaninchenserum | Hæmolytisches<br>System in cm <sup>3</sup> | Total<br>Röhrchen-<br>inhalt<br>cm <sup>3</sup> | Befund |
|---------------------------------|--|---|--------|
| Serum I . . .                   | 0.2 cm <sup>3</sup>                        | 3   | 4      |
|                                 | 0.1 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.05 »                                     | 3   | 4      |
| Serum II . . .                  | 0.2 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.1 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.05 »                                     | 3   | 4      |
| Serum III . . .                 | 0.2 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.1 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.05 »                                     | 3   | 4      |
| Serum IV . . .                  | 0.2 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.1 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.05 »                                     | 3   | 4      |
| Serum V . . .                   | 0.2 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.1 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.05 »                                     | 3   | 4      |
| Serum VI . . .                  | 0.2 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.1 »                                      | 3   | 4      |
|                                 | 0.05 »                                     | 3   | 4      |

Tabelle IV.

| Pflanzenextrakt                      | Antigen-<br>menge<br>in cm <sup>3</sup> | Inaktiviertes<br>Kaninchenserum<br>in cm <sup>3</sup> | Hämol.<br>System<br>in cm <sup>3</sup> | Total<br>Röhr-<br>chen-<br>inhalt | Befund           |
|--------------------------------------|---|---|--|-----------------------------------|------------------|
| Plantago lanceolata (wässrig)        | 0.2                                     | 0.2   | 3                                      | 5                                 | komplette Lösung |
|                                      | 0.2                                     | 0.1   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.05  | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0   | 3                                      | 5                                 | » »              |
| Plantago lanceolata (Antiformin) . . | 0.1                                     | 0.2   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.1                                     | 0.1   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.1                                     | 0.05  | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.1                                     | 0   | 3                                      | 5                                 | » »              |
| Weizenmehl (wässrig) . .             | 0.2                                     | 0.2   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.1   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.05  | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0   | 3                                      | 5                                 | » »              |
| Gerstenmehl (wässrig) . .            | 0.2                                     | 0.2   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.1   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.05  | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0   | 3                                      | 5                                 | » »              |
| Hedera Helix (wässrig) . .           | 0.2                                     | 0.2   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.1   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0.5   | 3                                      | 5                                 | » »              |
|                                      | 0.2                                     | 0   | 3                                      | 5                                 | » »              |

Hammelblutkörperchen hämolytisch wirkt, zugefügt. Nach gutem Umschütteln kamen die Gläser für  $\frac{1}{2}$  Stunde nochmals in den Brutschrank und dann wurde das Resultat abgelesen.

Bei einigen Versuchen wurde ferner an Stelle der fallenden eine konstante Dosis Antiserum gewählt und die Pflanzenextrakte in fallenden Mengen verwendet.

*a. Verhalten des mit wässrigem Extrakt von Plantago lanceolata erhaltenen Antiserums.*

In einer ersten Versuchsserie prüften wir das Antiserum mit dem homologen Extrakt, wobei in einer Reihe von Gläsern (Tabelle V) die Antiserumdosis konstant, die Antigendosis fallend, und in einer 2. Reihe (Tabelle VI) die Antiserummenge fallend und die Eiweisslösung konstant zugesetzt wurde.

*Tabelle V.*

| Plantago lanceolata Extrakt cm <sup>3</sup> | Kaninchen-serum (Antiserum) cm <sup>3</sup> | Hämolyt. System cm <sup>3</sup> | Total Röhrcheninhalt cm <sup>3</sup> | Befund           |
|---|---|---------------------------------|--------------------------------------|------------------|
| 0.2   | 0.1   | 3                               | 5                                    | Hemmung          |
| 0.1   | 0.1   | 3                               | 5                                    | »                |
| 0.05  | 0.1   | 3                               | 5                                    | »                |
| 0.03  | 0.1   | 3                               | 5                                    | »                |
| 0.02  | 0.1   | 3                               | 5                                    | »                |
| 0.01  | 0.1   | 3                               | 5                                    | schwache Hemmung |
| 0.005                                       | 0.1   | 3                               | 5                                    | Hämolyse         |
| 0   | 0.1   | 3                               | 5                                    | »                |

*Tabelle VI.*

| Plantago lanceolata Extrakt cm <sup>3</sup> | Kaninchen-serum (Antiserum) cm <sup>3</sup> | Hämolyt. System cm <sup>3</sup> | Total Röhrcheninhalt cm <sup>3</sup> | Befund   |
|---|---|---------------------------------|--------------------------------------|----------|
| 0.1   | 0.2   | 3                               | 5                                    | Hemmung  |
| 0.1   | 0.1   | 3                               | 5                                    | »        |
| 0.1   | 0.05  | 3                               | 5                                    | »        |
| 0.1   | 0.03  | 3                               | 5                                    | »        |
| 0.1   | 0.02  | 3                               | 5                                    | »        |
| 0.1   | 0.01  | 3                               | 5                                    | Hämolyse |
| 0.1   | 0.005                                       | 3                               | 5                                    | »        |
| 0.1   | 0   | 3                               | 5                                    | »        |

Wie man sieht, sind im Serum der mit wässrigem Extrakt behandelten Tiere komplementbindende Stoffe gebildet worden, die noch Hemmung bewirkten in der Antigendosis von 0,01. Umgekehrt zeigt die Tabelle VI, dass Hemmung noch erfolgte durch eine Serummenge von 0,02.

Von grossem Interesse war nun die Prüfung der Spezifität des Serums. Die diesbezüglichen Resultate veranschaulicht Tabelle VII.

Tabelle VII.

Serum von Kaninchen, vorbehandelt mit wässrigerem Extrakt von *Plantago lanceolata*,

- + 0,2 cm<sup>3</sup> wässriger Extrakt von verschiedenen Pflanzen
- + hämolytisches System.

| Kaninchen-serum<br>(Antiserum) | Extrakt von<br><i>Plantago lanceolata</i> | Extrakt von<br><i>Plantago media</i> | Extrakt von<br><i>Hedera Helix</i> | Extrakt von<br>Weizenmehl | Extrakt von<br>Gerstenmehl |
|--------------------------------|---|--------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|----------------------------|
| 0.2                            | Hemmung                                   | Hemmung                              | Hämolyse                           | Hämolyse                  | teilweise Hemmung          |
| 0.1                            | »   | »                                    | »                                  | »                         | Hämolyse                   |
| 0.05                           | »   | »                                    | »                                  | »                         | »                          |
| 0.02                           | »   | »                                    | »                                  | »                         | »                          |
| 0.01                           | schwache Hemmung                          | Hämolyse                             | »                                  | »                         | »                          |
| 0.005                          | Hämolyse                                  | »                                    | »                                  | »                         | »                          |
| NaCl                           | »   | »                                    | »                                  | »                         | »                          |

Während also das Serum gegen das eigene Extrakt eine Hemmung bis 0,01 zeigte, trat das gleiche Phänomen auch ein bei dem nahe verwandten *Plantago media* und zwar bis zur Menge von 0,02. Bei Verwendung der aus *Hedera Helix* und Weizenmehl hergestellten Extrakte wurde gar keine Hemmung beobachtet und bei Gerstenmehl war nur in der Menge von 0,2 eine nicht komplette Hämolyse zu verzeichnen. Im fernern wurde versucht, ob bei konstanter Dosis Antiserum ein quantitativer Unterschied zwischen dem Hemmungstiter bei *Plantago lanceolata* und *Plantago media* vorhanden sei. Dieser Unterschied ist aber, wie aus Tabelle VIII hervorgeht, so gering, dass er wohl kaum in Betracht zu ziehen ist.

Tabelle VIII.

Serum von Kaninchen, vorbehandelt mit wässrigerem Extrakt von *Plantago lanceolata* in konstanter Dosis von 0,1 cm<sup>3</sup>,

- + wässriger Extrakte in fallender Dosis,
- + hämolytisches System.

| Extraktmengen | Extrakt von<br><i>Plantago lanceolata</i> | Extrakt von<br><i>Plantago media</i> |
|---------------|---|--------------------------------------|
| 0.1           | Hemmung                                   | Hemmung                              |
| 0.05          | »   | »                                    |
| 0.03          | »   | »                                    |
| 0.02          | »   | schwache Hemmung                     |
| 0.01          | schwache Hemmung                          | Hämolyse                             |
| 0.005         | Hämolyse                                  | »                                    |
| NaCl          | »   | »                                    |

b. Verhalten des mit Antiforminextrakt von *Plantago lanceolata* erhaltenen Antiserums.

In Tabelle IX sind die Resultate zusammengestellt, die mit dem Serum des mit Antiforminextrakt von *Plantago lanceolata* vorbehandelten Tieres erhalten wurden. Wie daraus zu entnehmen ist, sind wohl komplement-verankernde Stoffe gebildet worden, die aber keine Spezifität aufweisen.

Tabelle IX.

Serum von Kaninchen, vorbehandelt mit Antiforminextrakt von *Plantago lanceolata* in fallenden Dosen,

- + 0,2 cm<sup>3</sup> wässriger Extrakt aus verschiedenen Pflanzen
- + hämolytisches System.

| Kaninchenserum<br>(Antiserum) | Extrakt von<br><i>Plantago lanceolata</i> | Extrakt<br>von Weizenmehl |
|-------------------------------|---|---------------------------|
| 0.2                           | Hemmung                                   | Hemmung                   |
| 0.1                           | »   | »                         |
| 0.05                          | »   | »                         |
| 0.02                          | »   | »                         |
| 0.01                          | schwache Hemmung                          | Hämolyse                  |
| 0.005                         | Hämolyse                                  | »                         |
| NaCl                          | »   | »                         |

c. Verhalten des mit wässrigem Extrakt von *Hedera Helix* erhaltenen Antiserums.

Ebensowenig spezifisch wie das mit Antiforminextrakt von *Plantago lanceolata* erhaltene Serum war das Serum der mit wässrigem Epheu-extrakt behandelten Tiere, wie aus Tabelle X zu ersehen ist.

Tabelle X.

Serum von Kaninchen, mit wässrigem Extrakt von *Hedera Helix* vorbehandelt, in fallender Dosis,

- + 0,2 cm<sup>3</sup> wässriger Extrakt verschiedener Pflanzen
- + hämolytisches System.

| Kaninchenserum<br>(Antiserum) | Extrakt von<br><i>Hedera Helix</i> | Extrakt von<br><i>Plantago lanceolata</i> | Extrakt von<br>Weizenmehl | Extrakt von<br>Gerstenmehl |
|-------------------------------|------------------------------------|---|---------------------------|----------------------------|
| 0.2                           | Hemmung                            | Hemmung                                   | Hemmung                   | Hämolyse                   |
| 0.1                           | »                                  | »   | »                         | »                          |
| 0.05                          | »                                  | teilweise Hemmung                         | teilweise Hemmung         | »                          |
| 0.02                          | »                                  | Hämolyse                                  | Hämolyse                  | »                          |
| 0.01                          | »                                  | »   | »                         | »                          |
| NaCl                          | Hämolyse                           | »   | »                         | »                          |

Mit dem homologen Extrakt ging die Hemmung am weitesten, indem eine Antigenmenge von 0,01 und vielleicht noch darunter (da die Grenzdosis im vorliegenden Versuche nicht ermittelt worden ist) wirksam war, während die Extrakte von *Plantago lanceolata* und Weizenmehl nur in den grösseren Dosen — bis 0,05 herab — Hemmung zeigten und das Gerstenmehlextrakt überhaupt nicht hemmte. Es kann daher bei diesem Versuche nur von einer quantitativ verschiedenen Wirkung des *Hedera*-Antiserums gesprochen werden.

*d. Verhalten der mit wässerigen Extrakten von Gersten- und Weizenmehl erhaltenen Antisera.*

Die Untersuchungsergebnisse der mit den beiden Mehlextrakten gewonnenen Antisera sind ähnliche. In den beiden Sera waren komplementverankernde Stoffe nachweisbar, die aber weder spezifisch wirksam waren, noch in quantitativer Beziehung Unterschiede aufwiesen.

Die Tabellen XI und XII zeigen, wie regellos die hemmende Grenzdosis bei den verschiedenen Extraktzusätzen festzustellen war. Besonders auffallend erwies sich das Verhalten des Weizenantiserums zu Gerstenextrakt. Trotzdem die beiden Gattungen der gleichen Pflanzenfamilie, den Gramineen, angehören, bewirkte das Antiserum keine Hemmung mit Gerstenextrakt, dagegen trat sie ein bei den im Pflanzensystem bedeutend weiter abstehenden Pflanzenarten *Plantago lanceolata* und *Hedera Helix*. Umgekehrt (Tabelle XII) zeigte das Gerstenmehl-Antiserum Hemmung mit noch kleinen Mengen des Weizenmehlextraktes.

*Tabelle XI.*

Serum von Kaninchen, mit *Weizenmehl* vorbehandelt, in fallender Dosis.

- + 0,2 cm<sup>3</sup> wässriger Extrakt verschiedener Pflanzen
- + hämolysisches System.

| Kaninchenserum<br>(Antiserum) | Extrakt von<br>Weizenmehl | Extrakt von<br>Gerstenmehl | Extrakt von<br><i>Hedera Helix</i> | Extrakt von<br><i>Plantago lanceolata</i> |
|-------------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------------|---|
| 0.2                           | Hemmung                   | Hämolyse                   | Hemmung                            | Hemmung                                   |
| 0.1                           | »                         | »                          | »                                  | »   |
| 0.05                          | »                         | »                          | schwache Hemmung                   | »   |
| 0.02                          | Hämolyse                  | »                          | Hämolyse                           | Hämolyse                                  |
| 0.01                          | »                         | »                          | »                                  | »   |
| NaCl                          | »                         | »                          | »                                  | »   |

Tabelle XII.

Serum von Kaninchen, mit *Gerstenmehl* vorbehandelt, in fallender Dosis,  
 + 0,2 cm<sup>3</sup> wässriger Extrakt verschiedener Pflanzen  
 + hämolytisches System.

| Kaninchenserum<br>(Antiserum) | Extrakt von<br>Gerstenmehl | Extrakt von<br>Weizenmehl | Extrakt von<br><i>Hedera Helix</i> | Extrakt von<br><i>Plantago lanceolata</i> |
|-------------------------------|----------------------------|---------------------------|------------------------------------|---|
| 0.2                           | Hemmung                    | Hemmung                   | Hemmung                            | Hemmung                                   |
| 0.1                           | »                          | »                         | »                                  | »   |
| 0.05                          | »                          | »                         | Hämolyse                           | »   |
| 0.02                          | »                          | »                         | »                                  | »   |
| 0.01                          | »                          | Hämolyse                  | »                                  | Hämolyse                                  |
| NaCl                          | Hämolyse                   | »                         | »                                  | »   |

### Bemerkungen zu den Untersuchungsergebnissen.

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die Komplementbindungsmethode sich kaum dazu eignen dürfte, mit ihrer Hilfe Pflanzenarten zu identifizieren, beziehungsweise Verfälschungen von Getreidemehlen nachzuweisen. Wenn man die Einzelheiten der Resultate näher studiert, so kommt man zum Schluss, dass, mit einer Ausnahme, von Spezifität der Reaktionen der Antisera nicht die Rede sein kann. Diese einzige Ausnahme bildet das mittelst wässrigem Extrakt von *Plantago lanceolata* gewonnene Antiserum. Hier ist unverkennbar eine Spezifität vorhanden, die sich auf die innerhalb der gleichen Gattung vorkommenden Pflanzen, mit quantitativen Unterschieden der Arten erstreckt, in dem Sinne, dass das homologe Serum in noch geringerer Menge mit dem Antigen die Reaktion der Hemmung gibt, als die andere Pflanze der gleichen Gattung. Freilich waren diese quantitativen Unterschiede sehr gering.

Besonders auffallen musste dann das Resultat des mit *Antiforminextrakt* von *Plantago lanceolata* gewonnenen Antiseraums. Trotz des gleichen Ursprungs des Ausgangsmaterials und der Verwendung möglichst gleicher Tiere waren die Wirkungen der so gewonnenen Antisera ganz verschiedene von denjenigen, die mit wässrigen Extrakten hergestellt wurden. Bei dem «Antiformin-Antiserum» fehlte jegliche Spezifität. Ohne weiteres wird man durch diese beiden so ungleichen Resultate darauf geführt, dass die Herstellung der Antigene von sehr grosser Bedeutung für die Eigenschaften der mit ihnen gewonnenen Sera sein muss, ja dass, sobald es gelingen würde, die verschiedenen Momente, die dabei in Betracht fallen, richtig zu kennen, wohl auch die Gewinnung spezifischer Antisera ohne besondere Schwierigkeiten möglich sein müssten. Das Antiformin löst eben offenbar sämtliche Bestandteile der Zellen auf, die nun sämtliche zur Bildung von komplementverankernden Antikörpern führen.

Noch ein weiterer Punkt scheint uns für diese Fragen nicht ohne Interesse. Es hat nämlich den Anschein, als ob bei längerer Immunisierung

mit Extracten die Sera an Spezifität gewinnen, wie dies an einem Beispiele in der folgenden Tabelle zu ersehen ist.

*Tabelle XIII.*

Hemmende Grenzdosis des Serums eines mit Weizenmehl vorbehandelten Kaninchens bei wiederholter Untersuchung.

| Extrakt               | Datum der Untersuchungen |                  |                  |
|-----------------------|--------------------------|------------------|------------------|
|                       | 11. I. 10                | 25. I. 10        | 14. II. 10       |
| Weizenmehl . . . . .  | Hæmolyse                 | Hemmung bis 0.02 | Hemmung bis 0.05 |
| Gerstenmehl . . . . . | »                        | Hemmung bis 0.02 | Hæmolyse         |

Ferner konnten wir die auch von anderen Serologen schon erwähnte Beobachtung machen, dass sich bei der Gewinnung der Antisera, trotz Verwendung der gleichen Tierart, nicht alle Tiere in gleicher Weise für derartige Versuche eignen. Es ist daher zur Lösung solcher Fragen notwendig, stets eine grössere Anzahl von Tieren für die Herstellung eines Antiserums zu benützen.

### Zusammenfassung.

Auf Grund der mit den Pflanzen *Plantago lanceolata* und *Hedera Helix*, Weizen- und Gerstenmehl gewonnenen Antisera zum Zwecke der Differenzierung von Pflanzenarten mittelst der Komplementbindungs methode lassen sich folgende Schlussätze ableiten :

1. Durch Behandlung von Kaninchen mit Pflanzenextracten gelingt es, komplementbindende Stoffe zu erhalten.
2. Zuweilen besitzen die mit den Pflanzenantigenen gebildeten komplementverankernden Stoffe eine gewisse Spezifität, die sich aber nur bis zur Unterscheidung von Gattungscharakteren erstreckt. Innerhalb der Arten der gleichen Pflanzengattung konnten nur quantitative Unterschiede festgestellt werden.
3. In anderen Fällen zeigen die Antisera überhaupt nur quantitative Unterschiede bei verschiedenen Pflanzen verschiedener Gattungen.
4. Auch finden sich Antisera, bei denen selbst die quantitativen Unterschiede in der Komplementreaktion keine Gesetzmässigkeit mehr besitzen.
5. Zur vollständigen Lösung dieser Fragen sind noch weitere Versuche notwendig, da es sich hier um sehr komplexe Vorgänge handelt.