

Om Tetanolsinet.

Af

Thorvald Madsen.

Efterat Ehrlich havde paavist de store Fordele, man kunde opnaa ved at forlægge Studiet af Gift og Modgift fra den dyriske Organisme til Reagensglasset, har denne Forsøgsanordning faaet større og større Betydning. De hidtige Reagensglasforsøg have imidlertid kun omfattet de giftige Planteæggehvdestoffer, Aaleblod og Slangegiftene; det var først muligt ogsaa at udstrække dem til et Bakterieprodukt, efterat Ehrlich havde paavist en hæmolytisk Substans i Kulturer af Tetanusbacillen¹⁾. Dette Stof — Tetanolsinet — er efter Ehrlichs Undersøgelser et andet end det, som frembringer de kendte, tetaniske Symptomer hos Dyr, og som man derfor kunde benævne Tetanospasminet. At de to Gifte ere forskellige, støttes paa følgende lagttagelser:

1. Der er ingen fast Korrelation mellem deres Forekomst i forskellige Tetanuskulturer; man kan finde Gifte, der have en stærkt tetaniserende og ringe hæmolytisk Virkning, og omvendt.

¹⁾ Gesellschaft der Charité-Aerzte (Sitzung 3. Febr. 1898). Se Berl. klin. Wochenschrift 1898 Nr. 12.

2. Deres Holdbarhed er forskellig. I en Giftopløsning svækkes den hæmolytiske Funktion langt raskere end den tetaniserende, baade spontant, som det senere skal vises, og ved kunstige Indgreb, f. Ex. ved 20 Minutters Opvarmning til 50°.
3. De to Gifte have forskellige Bindingsforhold. Bringer man en Opløsning af Tetanusgift sammen med røde Blodlegemer, bliver den største Del af Tetanolysinet bundet af disse, medens Tetanospasminet bliver i Opløsning.
4. Begge Gifte have hver sit Antitoxin. Undersøger man forskellige Tetanussera, finder man, at deres neutraliserende Virkning overfor Tetanolysin og Tetanospasmin ikke gaa parallelt. For at nævne et ekstremt Tilfælde havde et Serum, som var stærkt antispasmisk, næsten ingen anti-lytiske Egenskaber.

Af Ehrlichs her anførte Iagttagelser kan man med Sikkerhed drage den Slutning, at Tetanospasminet og Tetanolysinet ere to forskellige Giftstoffer.

Tetanolysinet syntes særlig egnet til at undersøge forskellige theoretiske Spørgsmaal. Først maatte man imidlertid nærmere studere dets Indvirkning paa de røde Blodlegemer og søge herigennem at finde et nøjagtigt Maal for det. Den næste Opgave var at undersøge, om dets Forhold til dets Antitoxin var ligesaa kompliceret som Difterigiftens. Netop Bearbejdelsen af dette Spørgsmaal, som for denne sidstes Vedkommende havde fordret mange besværlige og kostbare Dyreforsøg (Ehrlich, Forf.¹⁾), syntes at være en relativ simpel og let Opgave for Reagensglasforsøgene.

¹⁾ Ehrlich: Die Werthbemessung d. Diphtherieheilserums. Klin. Jahrb. 1897. — Ueber die Constitution d. Diphtheriegiftes. Deutsche med. Wochenschr. 1898. — Th. Madsen: Om Difterigiftens Konstitution. Overs. over det Kgl. Danske Vidensk. Selskabs Forhandl. 1899.

I. Tetanolysinets Virkning.

Til Forsøgene anvendtes en Tetanusgift, som var fremstillet ved Udfældning af en Tetanuskultur med Ammoniumsulfat paa den almindelig kendte Maade. Giften var i sin Virkning paa Dyr af middel Styrke, idet ca. 0,000001 Gram var dræbende Dosis for en Mus af 15 Grams Vægt. Giften opløser de røde Blodlegemer af alle hidtil undersøgte Dyr: Kanin, Marsvin, Ged, Faar, Hest. Særlig let paavirkeligt er Kanin- og Hesteblood, særlig resistent er Gedeblod. Der benyttedes til mine Forsøg udelukkende defibrineret Kaninblod, der med en 0,85 pCt. Kog-saltopløsning fortyndedes til 5 pCt. Af denne Blanding blev der i Reglen fyldt 15 Cm.³ i Reagensglas; at Vædskesøjlen er saa høj frembyder den Fordel, at man let kan iagttage de forskellige Sænkingsfænomener og benytte dem til Tydning af Forsøgene. Til de blodfyldte Reagensglas sættes forskellige Mængder Giftopløsning, Vædskerne blandes godt, og dernæst stilles Rørene i det Ostwaldske Vandbad ved 37°. Efter 1 Times Forløb udtages de og hensættes ved lav Tp. (under 10°) Natten over, for at de ikke opløste røde Blodlegemer kunne faa Tid til at sænke sig. Ved den nøjagtige Skildring af et enkelt Forsøg faar man simplest og anskueligst en Oversigt over, hvad man efter 24 Timers Forløb kan iagttage i en saadan Række Reagensglas (se Tab. 1).

Begynde vi med at betragte de Reagensglas, hvortil der er føjet den mindste Mængde Gift (Nr. 33—35), finde vi største Delen af de røde Blodlegemer samlede til et kompakt Bundfald, den ovenstaaende Vædske er fuldstændig gennemsigtig og lige saa farveløs som i Kontrolglasset (Nr. 36). I Glas 29—32 findes ogsaa største Mængden af Blodlegemerne paa Glassets Bund, men Vædsken har gennem alle sine Lag en svagt rødgul Farve-nuance. I Glas Nr. 28 træffe vi en ny Fremtoning. Medens Vædskesøjlen's øverste Lag er af ganske samme Udseende som i de foregaaende Glas, er dens nederste Lag i et Par Centimeters Udstrækning lidt stærkere rødlig farvet.

Tab. 1.

Glassets Nr.	Den tilsatte Giftopløsnings		Blodopslemningens Udseende efter 24 Timers Forløb.
	Concen- tration.	Mængde i Cm. ³	
	pCt.		
1	1	1,2	Komplet Opløsning af de røde Blodlegemer. Væd- sken er gennemsigtig, af ensartet, dybt mørke- rød Farve.
2		1,0	
3		0,8	
4		0,7	
5		0,6	
6		0,5	I Vædskenes underste Lag en svag Uklarhed af uopløste røde Blodlegemer.
7		0,4	
8		0,35	
9		0,3	
10		0,25	
11		0,2	
12		0,17	
13		0,13	
14	$\frac{1}{10}$	1,0	
15		0,8	
16		0,7	
17		0,6	
18		0,5	
			Det øverste Lag af Vædsken er i omtr. 1 Cm.s Udstrækning noget lysere farvet end den øvrige Del af Vædsken.
19		0,4	Dette Lag bliver lysere og strækker sig længere ned.
20		0,35	
21		0,3	
22		0,25	
23		0,2	Farvenuance = $\frac{1}{60}$.
24		0,17	Ogsaa Vædskenes underste Lag blive af en lysere Farve.
25		0,13	Farvenuance = $\frac{1}{120}$.
26	$\frac{1}{100}$	1,0	Hele den øverste Vædskesøjle er svagt, ensartet rødgult farvet. I en Udstrækning af c. 2 Cm. ses over Bunden en stærkere rødlig Farvning.
27		0,8	
28		0,7	
29		0,6	
30		0,5	
31		0,4	Hele Vædsken har den samme, svagt rødgule Farvenuance.
32		0,35	Vædsken er vandklar. Blodlegemerne have for største Delen samlet sig som et kompakt Bundfald.
33		0,3	
34		0,25	
35		0,2	
36			
	Kontrolglas (ud. Gifttilsætn.)		

For at forstaa dette maa man betænke, at Tetanolyset Virkning har en Latenstid. Medens Giften ret hurtig bindes til de røde Blodlegemer, hængaar der en af den anvendte Giftmængde og af Temperaturen afhængig Tid, førend Giften er i Stand til at opløse Blodlegemet. Hvis vi for at tage et ganske abstrakt Exempel antager, at dette varer 4 Timer, er det klart, at Blodlegemerne i denne Tid kunne sænke sig betydeligt. Et Blodlegeme, der ved Forsøgets Begyndelse svømmer i Overfladen, vil efter 4 Timers Forløb have naaet et vist Stykke ned i Vædsken, før det opløses og giver denne sin Farve; vi ville altsaa se to Lag, et øverste farveløst og et underste farvet. Det øverste Lags Højde kunde under de givne Omstændigheder afgive et Maal for Sænkningstiden α : Latenstiden.

Dette underste stærkere farvede Lag strækker sig efterhaanden (Nr. 27—24) højere og højere op i den svagt rødgule Vædske, og dets Farvenuance bliver mere intensiv. Fra Nr. 23 har ogsaa de øverste Lag en anden Nuance end i de tidligere Glas, medens der stadig er en tydelig Forskel fra den nederste Del af Vædsken. Denne Forskel holder sig til Glas Nr. 18 (incl.), men bliver stedse ringere samtidig med, at Farvernes Intensitet tiltager. Fra Glas 17—6 er Vædsken diffus mørkerødt farvet; det kompakte Bundfald bliver lidt efter lidt mindre, og i Glas 5 er der kun en svag Uklarhed af uopløste røde Blodlegemer tilbage; endelig opløses ogsaa disse, og Vædsken er da fuldstændig klar af ensartet dybt mørkerød Farve (Nr. 4—1).

For rigtig at tyde de omtalte Fænomener maa man gøre sig det klart, at man ikke kan betragte de røde Blodlegemer simpelthen som bestaaende af en Samling fuldkommen ensartede Elementer¹⁾. Man maa antage, at der i et og samme Blod findes Blodlegemer med meget forskellig Resistens overfor forskellige Indvirkninger, og at der eksisterer en uafbrudt Skala fra de mest til de mindst modstandsdygtige. Betragte vi en

¹⁾ Se Ehrlich & Lazarus. Die Anaemie p. 32.

Forsøgsrække som den ovenanførte, er der særlig to Ting, som fængsle vor Opmærksomhed. Det ene er den Giftmængde, hvorved der opnaas komplet Opløsning, det andet er den, som netop er i Stand til at frembringe Spor af Opløsning. I sidstnævnte Tilfælde maa man antage, at det drejer sig om en Opløsning af de mindst modstandsdygtige røde Blodlegemer, som sandsynligvis kun findes i meget ringe Antal, og som bukke under for Indvirkningen af selv yderst smaa Giftmængder i Løbet af meget kort Tid. Ethvert rødt Blodlegeme af denne Art bliver derfor opløst paa sin oprindelige Plads; men dette kan naturligvis først iagttages, naar Vædsken er bleven fuldstændig klar ved de øvrige uopløste Blodlegemers Sænkning. Den ensartede, diffuse rødgule Farve, som man iagttager i Glas 29—32 kan kun stamme fra de her beskrevne mest følsomme Blodlegemer, idet vi ellers maatte se en forskellig Farvning i Vædskens øverste og nederste Lag. I Glas 28 finder man nedadtil en ringe Rødfarvning; her begynder der altsaa en Opløsning af nogle af de mere resistente røde Blodlegemer, som først angribes efter en temmelig lang Latenstid svarende til Sænkningstiden. Naar man fra Glas 25 lidt efter lidt ser en mørkere Farvning ogsaa af det øverste Lag, maa dette forklares ved, at efterhaanden som Giftmængderne forøges, blive stedse resistente Blodlegemer opløste med meget kort Latenstid. — Man ser altsaa, at for Bestemmelsen af de to omtalte Grænseværdier ere de mest og de mindst resistente røde Blodlegemer af Betydning, Elementer, som sikkert kun udgøre et ringe Procentantal af den samlede Mængde Blodlegemer.

Forholdene blive endnu mere komplicerede derved, at Blod af forskellige Kaniner ingenlunde er ens. Baade findes der store Differenser i Følsomheden som Helhed betragtet, saa at de Giftmængder, der ere nødvendige til at frembringe samme Virkning, kunne være indtil 4 Gange saa store i et Blod som i et andet, ligegyldig hvilken Opløsningsgrad man end vælger til Sammenligning. Ogsaa det indbyrdes Forhold mellem Blod-

legemer af forskellig Følsomhed er Svingninger underkastet. Det viste sig nemlig, at den øverste og nederste Grænse ikke forskøde sig parallelt; medens den sidstnævnte i Reglen var omtrent den samme, fandtes det meget hyppig, at den øverste Grænse vexlede stærkt, idet der holdt sig en ringe Mængde aabenbart yderst resistente Blodlegemer, der krævede store Mængder Gift til deres fuldstændige Opløsning. Disse Uregelmæssigheder vilde selvfølgelig medføre betydelige Fejl, hvis man uden videre vilde sammenligne Forsøg med forskelligt Blod med hverandre. De kunne med Lethed undgaas derved, at man hver Gang bestemmer Følsomheden af vedkommende Blod.

Det kan her tilføjes, at fordi man har bestemt de røde Blodlegemers Resistens overfor Tetanolsin, har man derfor ikke den aller ringeste Maalestok for disse Blodlegemers Resistens overfor andre Gifte. Man kunde vise, at Blod, som var ualmindelig følsomt overfor Tetanolsin, havde normal eller forholdsvis ringe Følsomhed overfor andre Gifte — Crotin, hæmolytiske Sera o. a. Man kan altsaa ikke tale om Blods Resistens i al Almindelighed, men maa i hvert enkelt Tilfælde bestemme de enkelte Grupper røde Blodlegemers Resistens overfor en bestemt Gift.

Af det her udviklede fremgaar, at man ved Bedømmelsen af Tetanolsinets Virkning paa de røde Blodlegemer kan inddel dem i

- 1) de mest resistente
- 2) de middelt resistente
- 3) de mindst resistente.

Af disse udgør Gruppe 1 og 3 sandsynligvis kun en ringe Brøkdæl af den samlede Masse, hvis overvejende Flertal maa antages at bestaa af Blodlegemer af middelt Resistens.

Da det ved de følgende Undersøgelser gjaldt om at finde en Methode, som muliggjorde en nøjagtig Sammenligning af alle Forsøg, viste det sig, at hverken den øverste eller den nederste Grænse var praktisk anvendelig hertil. Dels er det

meget vanskeligt at angive dem nøjagtig, dels syntes det i og for sig irrationelt at benytte en Bestemmelse, som er afhængig af en forholdsmæssig lille Del af Blodlegemerne. Det var naturligst at anvende en Fremgangsmaade, som tog Sigte paa disses store Flertal. Hertil viste en simpel kolorimetrisk Methode sig særdeles brugbar; ved Opløsning af Kaninblod i stigende Mængder Glycerinvand fremstilledes en Række Farvenuancer, hvormed Reagensglassene sammenlignedes. Paa denne Maade kunde man med stor Sikkerhed vurdere Opløsningsgraden. Til de følgende Forsøg anvendtes hovedsagelig de Farvenuancer, som fremkomme ved Opløsning af 1 Del Blod til 60, resp. 120 Dele Vædske, og som kort betegnes som $\frac{1}{60}$ og $\frac{1}{120}$; det var særlig sidstnævnte Farvenuance, som gav de bedste Resultater.

Tetanolysinets Virkning er overordentlig afhængig af Temperaturen. Sammenligner man den Effekt, som opnaas ved 37° (1 Time under de tidligere omtalte Omstændigheder) med den, som fremkommer ved 24 Timers Ophold ved 0° — 1° , ser man, at der ved sidstnævnte Tp. er omtrent 100 Gange saa meget Gift nødvendig for at frembringe samme Opløsningsgrad som ved 37° . Det er ikke alene den absolute Virkeevne, som nedsættes ved den lavere Tp., men ogsaa Latenstiden bliver betydelig større. Dette ser man meget tydelig paa de oven beskrevne «Opløsningszoner», idet der ved lav Tp. selv i Glas med meget stærk Opløsning i de underste Lag findes et øverste af betydelig Højde, som er fuldstændig eller næsten farveløst.

II. Tetanolysinets Forhold til dets Antitoxin.

Som omtalt findes der store Svingninger i Kaninblodets Følsomhed overfor Giften. Det var derfor absolut nødvendigt, at der samtidig med Forsøgene med Lysin og Antilysin hver Gang blev foretaget en nøjagtig Bestemmelse af, hvorledes vedkommende Blod forholdt sig overfor Gift alene; først ved

Sammenligning hermed kunde man vurdere Resultaterne af de øvrige Forsøg. Fandtes det, at en Blodopslemning viste betydelige Afvigelser fra det sædvanlige, blev dette Blod som over eller underfølsomt betragtet som uanvendeligt til denne Art Undersøgelser, og vedkommende Forsøg udskudt. Det er det samme Forhold, som undertiden træffes ved tilsvarende Undersøgelser med Difterigift; her kan man møde Rækker af abnormt reagerende Forsøgsdyr, som give saadanne Resultater, at disse ikke kunne sammenlignes med de øvrige Forsøg.

Først fastsattes det absolute Neutralisationspunkt.

Som Grundlag for denne og alle følgende Bestemmelser benyttedes en fra første Færd ganske vilkaarlig valgt konstant Mængde Tetanusgift, nemlig 2 Cm.³ af en 2 pCt. Opløsning af den udfældede Gift; denne Opløsning — i 0,85 pCt. Nacl. — blev stedse fremstillet paany umiddelbart før Forsøget og ved Centrifugering befriet for Sporer og andre uopløselige Dele. Disse 2 Cm.³ 2 pCt. Opløsning ere omtrent det 4 dobbelte af, hvad der er nødvendigt til komplet Opløsning af 15 Cm.³ Blodopslemning, og ca. det 400 dobbelte af, hvad der i den samme Mængde fremkalder en Farvenuance = $\frac{1}{120}$.

Som Antitoxin benyttedes et indtørret Præparat, der i sin Virkning overfor Tetanospasmin havde en Styrke af 50 Immunitetsenheder. Heraf fremstilledes en $\frac{1}{2}$ pCt. Standardopløsning i Glycerin-Kogsaltvand; umiddelbart før Forsøgene blev denne ved fysiologisk Kogsaltopløsning yderligere fortyndet til $\frac{1}{40}$ pCt.

Til fuldstændig Neutralisation — saa at der ikke kom Spor af Opløsning — af de nævnte 2 Cm.³ 2 pCt. Gift, krævedes der 1,3—1,4 Cm.³ af denne $\frac{1}{40}$ pCt. Antitoxinopløsning under Forudsætning af, at Gift og Antitoxin blev staaende sammenblandede 2 Timer ved ca. 15° (se senere). 0,04 Gram af den faste Gift neutraliseredes altsaa af 0,000325—0,00035 Gram af den faste Antitoxin. Med et andet Dyrs Blod havde man sandsynligvis fundet et andet Neutralisationspunkt.

Der anvendtes hovedsagelig den af Ehrlich angivne

Fremgangsmaade: partiel Mætning af Giften med Antitoxin. I Stedet for de 1,3—1,4 Cm.³ Antitoxinopløsning blev der altsaa til 2 Cm.³ 2 pCt. Gift tilsat ringere Mængder. For nøjagtig at kunne maale den i en saadan ikke mættet Gift-Antitoxinblanding tilstedeværende Mængde fri Gift, maatte man stedse foretage en Sammenligning med en ren Giftopløsning af samme Koncentration. Dette gjordes paa følgende Maade: Medens en Del af den 2 pCt. Giftopløsning henstod i 2 Timer ved ca. 15° med forskellige Mængder Antitoxin, lodes til Kontrol en anden Del af samme Giftopløsning henstaa uden Antitoxintilsætning under ganske samme Omstændigheder. Dernæst blev alle Opløsningerne fortyndede til 1 pCt. Giftindhold, og saavidt mulig samtidig bleve forskellige Mængder afmaale i de med 15 Cm.³ 5 pCt. Blodopslemning fyldte Reagensglas. Disse bleve dernæst først stillede nøjagtig 1 Time ved 37° og dernæst Natten over ved lavere Tp. Paa denne Maade kunde man meget nøje beregne den ved den partielle Mætning fremkomne Giftdefekt. Nedenanførte Exempel viser bedst Forsøgsanordningen (se Tab. 2).

Af dette Forsøg fremgaar følgende: Sætter man til Giften 0,10 Cm.³ Antitoxinopløsning, altsaa kun $\frac{1}{13}$ af den neutraliserende Mængde, mister Giften Halvdelen af sin Virkeevne, idet der maa benyttes dobbelt saa meget af Blandingen som af den rene Gift for at frembringe samme Farvenuance. Tilsættes 0,25 Cm.³ Antitoxin, altsaa omtrent $\frac{1}{5}$ af den totalt neutraliserende Mængde, mister Giften $\frac{9}{10}$ af sin opløsende Evne, saa at der til samme Farvenuance medgaar 10 Gange saa meget Gift-Antitoxinblanding som af den rene Gift. Med 0,40 Cm.³ Antitoxin stiger den hertil nødvendige Mængde til 30, med 0,60 Cm.³ til 100 Gange saa meget, og efter Tilsætning af 0,80 Cm.³ Antitoxinopløsning kan man selv ved Anvendelsen af meget store Mængder kun naa en rødgul Farvning, som man ikke er i Stand til at bestemme kvantitativt paa samme Maade som i de øvrige Forsøg.

Tab. 2.

Koncentration beregnet efter Gift- indhold.	Den tilsatte Mængde i Cm. ³	Kontrolforsøg med Gift ud. Antitoxin.	2 Cm. ³ 2 pCt. Gift med følgende Mængder Antitoxinopløs. i Cm. ³						
			0,10	0,25	0,40	0,60	0,80	1,20	
pCt. 1	4,0							} Alle Rørene have en ensartet rødgul Farve.	} Svagt, men tydeligt rødgult Skær.
	3,0								
	2,5								
	2,0								
	1,7								
	1,4				$\frac{1}{120}$				
	1,2			$\frac{1}{60}$					
	1,0						farveløs		
	0,8								
	0,6								
	0,5								
	0,4		$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{120}$					
	0,3								
	0,25						farveløs		
	0,2								
	0,17								
	0,13		$\frac{1}{120}$						
$\frac{1}{10}$	1,0								
	0,8		$\frac{1}{60}$						
	0,6				farveløs				
	0,5								
	0,4	$\frac{1}{60}$							
	0,3								
	0,25		$\frac{1}{120}$						
	0,2								
	0,17			farveløs					
	0,13	$\frac{1}{120}$							
$\frac{1}{100}$	1,0								
	0,8								
	0,6								
	0,5								
	0,4		farveløs						
	0,3								
	0,25								
	0,2	farveløs							
	0,17								
	0,13								

Stregerne angive Grænserne for de Doser, med hvilke Forsøgene foretages. For Overskuelighedens Skyld er der af Bestemmelserne kun angivet dem, som have Betydning for Maalingerne.

Det er herefter sandsynligt, at Tetanolsinet er et af en Række forskellige Bestanddele sammensat Stof. I modsat Fald vilde Resultaterne af den partielle Mætning være ganske simple, idet den opløsende Evne omtrentlig vilde være omvendt proportional med den tilsatte Antitoxinmængde. Saaledes vilde man f. Ex. med 0,10 Cm.³ Antitoxin ikke borttage Halvdelen af Giftvirkningen, men kun ca. $\frac{1}{13}$, med 0,25 Cm.³ ikke $\frac{9}{10}$, men kun $\frac{1}{5}$ og med 0,6 Cm.³ ikke $\frac{99}{100}$, men kun Halvdelen deraf.

Dette Neutralisationsbillede kan anskueliggøres ved en grafisk Fremstilling af samme Art, som Ehrlich har anvendt ved Difterigiften.

De 2 Cm.³ 2 pCt. Giftopløsning, som stedse ere anvendte, og som neutraliseres af 1,30 Cm.³ Antitoxinopløsning, kunne betegnes ved et Diagram, bestaaende af en Axe, henad hvilken er afsat 130 lige store Ordinatorer, hver svarende til den Giftmængde, der bindes af $\frac{1}{130}$ af nævnte Antitoxinmængde. Der er altsaa ganske vilkaarlig — af Bekvemmelighedshensyn — som Enhed valgt den Giftmængde (en «Bindingsenhed»), som neutraliseres af 0,01 Cm.³ af vor Antitoxinopløsning.

De enkelte Bindingsenheder ere fordelte saaledes henad Axen, at man længst til højre har afsat dem, som først blive frie, naar man anvender mindre Mængder Antitoxin end den fuldt neutraliserende Dosis.

Da man ikke her som ved Difterigiften kun har et enkelt Maal, den dræbende Dosis, men til dette Brug kan vælge de forskellige Grader af Opløsning (farveløs, $\frac{1}{120}$, $\frac{1}{60}$, komplet o. s. v.), har man Muligheden for at fremstille forskellige Diagrammer. Vælge vi Farvenuancen $\frac{1}{120}$, vil et saadant kunne dannes paa følgende Maade:

Vi vide, at 0,13 Cm.³ $\frac{1}{10}$ pCt. Rengift kan opløse 15 Cm.³ Blodopslemning til denne Farvenuance (se Tab. 2). Følgelig kan 1 Cm.³ 1 pCt. Giftopløsning frembringe samme Farvenuance i ca. 1150 Cm.³ Blodopslemning. Føjes der til 2 Cm.³ 2 pCt. Gift 0,10 Cm.³ Antitoxinopløsning, kræves der 0,25 Cm.³ $\frac{1}{10}$ pCt.

af denne Blanding. 1 Cm.³ 1 pCt. heraf kan altsaa kun opløse 600 Cm.³ til $\frac{1}{120}$. Ved Tilsætning af 0,10 Cm.³ Antitoxin (sv. t. 10 Bindingsenheder) har saaledes 1 Cm.³ 1 pCt. Gift mistet Evnen til at opløse 550 Cm.³ Blod til $\frac{1}{120}$. Hver af disse 10 Bindingsenheder besidder altsaa gennemsnitlig Evnen til at opløse 55 Cm.³ Blod til den nævnte Farvenuance. Er der i Stedet for 0,10 Cm.³ anvendt 0,25 Cm.³ Antitoxin, mister Giften $\frac{9}{10}$ af sin Virkning, og 1 Cm.³ 1 pCt. Opløsning kan nu kun opløse 115 Cm.³ Blod til $\frac{1}{120}$. Paa tilsvarende Maade er Tallene beregnede for de andre Antitoxindosers Vedkommende. Tilsættes 0,80 Cm.³ Antitoxin eller mere, faa vi overhovedet ikke nogen Farvenuance frem, som vi kunne maale ad sædvanlig Vej. Tallene ere tabellarisk opførte paa følgende Maade (se Tab. 3) og Diagram 1.

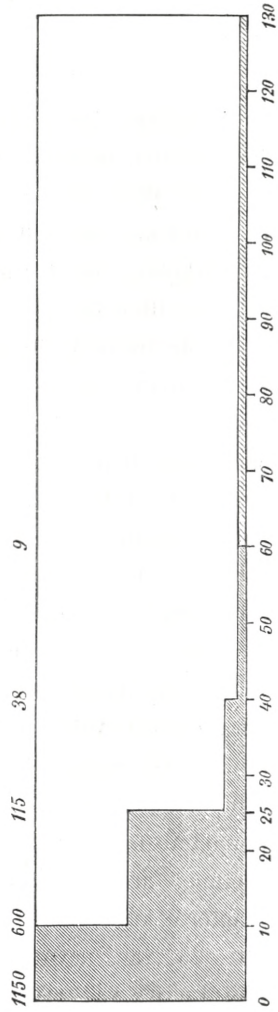
De første 10 Bindingsenheder, der er opførte længst til venstre, have gennemsnitlig en Virkning, som kan udtrykkes som 55, og som man kan betegne ved at afsætte en vilkaarlig valgt Ordinatenhed 55 Gange. Virkeevnen af de følgende 15 Bindingsenheder er gennemsnitlig = 32, og dette kan angives som et tilsvarende Antal Ordinatenheder o. s. v.

Et meget stort Antal overensstemmende Forsøg viste, at man fandt ganske samme Neutralisationsbillede uafhængigt af, om man til Sammenligning valgte stærkere Farvenuancer ($\frac{1}{60}$) eller Nulpunktet (farveløs). Ved at foretage Forsøgene med partiel Mætning af Giften med mindre Intervaller end de i Exemplet anførte kunde man vise, at Virkningen indenfor Ordinateerne 10—25 var jævnt synkende (se Diagram 3 og 4). Giftens Virkning vil altsaa i Diagrammet sandsynligvis kunne betegnes ved en Kurve, jævnt synkende fra venstre til højre. Som omtalt besidder den Del af Giften, som svarer til Ordinateerne 60—130, kun Evnen til at frembringe den tidligere beskrevne, regelmæssig fordelte, svagt rødgyldne Farve. Man maa derfor antage, at det her drejer sig om en Form af Giften, som ikke er i Stand til at opløse alle røde Blodlegemer, men kun de mindst resistente.

Tab. 3.

1 Cm. ³ 1 pCt. af:	Opløser ...Cm. ³ Blod til $\frac{1}{120}$.	Differens.	Svarer til ... Bindings- enheder.	Hver Bindingsenhed kan gennemsnitlig opløse ... Cm. ³ Blod til $\frac{1}{120}$.
Gift	1150	>	10	55
— + 0,10 Cm. ³ Ant.	600	>	15	32
— + 0,25 — — — — —	115	>	15	ca. 5
— + 0,40 — — — — —	c. 38	>	20	ca. 1,5
— + 0,60 — — — — —	c. 9	>		

Dejte kan grafisk udtrykkes saaledes:



Virkningen af hver Bindings-
enhed svarer gennemsnitlig til:

Diagram 1.

Tetanolysinet er overordentligt labilt. I tynde Opløsninger (f. Ex. $\frac{1}{10}$ pCt. i fysiologisk Kogsaltopløsning) indtræder der ved almindelig Stuetemperatur en betydelig Formindskelse af dets opløsende Evne allerede efter 1 Times Forløb. Selv koncentrerede Opløsninger (f. Ex. 4 pCt.) mister ved 20° i Løbet af 5 Timer Halvdelen, i Løbet af 24 Timer ca. $\frac{14}{15}$ af deres Virkning (se følg. Forsøg). Opbevares de konc. Opløsninger derimod nedsænkede i Isvand i vel tillukkede Beholdere, bevares de deres Styrke uforandret, i hvert Fald i 24 Timer. I tør Tilstand er den ved Ammoniumsulfat udfældede Gift meget stabil.

Ved en Række Forsøg viste det sig, at denne Svækkelse ikke i lige Grad angreb alle Dele af Giften, som det fremgaar af følgende Exempel. Disse Forsøg ere foretagne saaledes: For at Bindingen mellem Gift og Modgift kunde indtræde saa hurtigt og fuldstændig som muligt, er der anvendt en Koncentration af Opløsningerne, der er dobbelt saa høj som den tidligere benyttede (4 pCt Gift, $\frac{1}{20}$ pCt. Antitoxin). Efter at disse havde indvirket paa hinanden i resp. $\frac{1}{2}$ Time og 5 Timer ved 20° , undersøgtes Blandingernes Virkeevne og samtidig en 4 pCt. Giftopløsning, som var opbevaret under ganske samme Betingelser (se Tab. 4 a. og b., Tab. 5 samt Diagram 2 og 3).

Man ser, at Svækkelsen hovedsagelig har fundet Sted svarende til de første Bindingsenheder, medens de øvrige Dele af Giften ere i langt ringere Grad forandrede. Dette ses tydeligt ved Sammenligning af Diagram 2 og 3. Svarende til de første 10 Bindingsenheder har $\frac{2}{3}$ af Giften mistet sine hæmolytiske Egenskaber, medens Evnen til at binde Antitoxin ikke har lidt nogen Forandring. Det drejer sig her aabenbart om ganske samme Proces, som Ehrlich og Forf. have beskrevet ved Difterigiftens Svækkelse, og der er betegnet som «Toxoiddannelse».

Foretog man derimod Sammenligningen efter 24 Timers Forløb i Stedet for efter 5, viste Tetanolysinets Virkning sig nedsat til ca. $\frac{1}{13}$ — $\frac{1}{14}$, og som det fremgaar af følgende

Tab. 4 a.
Efter $\frac{1}{2}$ Times Forløb.

Koncentration, beregnet efter Giftindhold.	Den tilsatte Mængde i Cm. ³	Kontrollforsøg med Gift uden Antitoxin.	2 Cm. ³ 2 pCt. Gift med følgende Mængde $\frac{1}{40}$ pCt. Antitoxin- opløsning ¹⁾ .	
			0,10	0,15
pCt.				
1	0,5 0,4 0,3 0,25 0,2 0,17 0,15 0,13			
$\frac{1}{10}$	1,0 0,9 0,8 0,7 0,6 0,5 0,4 0,35 0,3 0,25 0,2 0,17 0,15 0,12		$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$
$\frac{1}{100}$	1,0 0,8 0,6 0,5 0,4 0,3 0,25 0,2	$\frac{1}{60}$ $\frac{1}{120}$	$\frac{1}{120}$	$\frac{1}{120}$
			farveløs	farveløs
		farveløs	farveløs	farveløs

¹⁾ For at lette Oversigten ere Forholdene mellem Gift og Antitoxin i dette og de følgende Forsøg angivne i de tidligere benyttede Koncentrationer (2 pCt. Gift, $\frac{1}{40}$ pCt. Antitoxin).

Tabel 4 b.
Efter 5 Timers Forløb.

Koncentration, beregnet efter Giftindhold.	Den tilsatte Mængde i Cm. ³	Kontrolforsøg med Gift uden Antitoxin.	2 Cm. ³ 2 pCt. Gift med følgende Mængde $\frac{1}{40}$ pCt. Antitoxin- opløsning.			
			0,10	0,15	0,20	0,25
pCt.						
1	0,5					
	0,4					$\frac{1}{60}$
	0,3					
	0,25				?	
	0,2					
	0,17					$\frac{1}{120}$
	0,15			$\frac{1}{60}$		
	0,13				$\frac{1}{120}$	
$\frac{1}{10}$	1,0					
	0,9		$\frac{1}{60}$			
	0,8					
	0,7			$\frac{1}{120}$		
	0,6	$\frac{1}{60}$				
	0,5					farveløs
	0,4		$\frac{1}{120}$			
	0,35					
	0,3				farveløs	
	0,25	$\frac{1}{120}$				
	0,2			farveløs		
	0,17					
	0,15					
	0,12		farveløs			
$\frac{1}{100}$	1,0					
	0,8					
	0,6	farveløs				
	0,5					
	0,4					
	0,3					
	0,25					
	0,2					

Tab. 5. Resumé af Tab. 4 a og b.

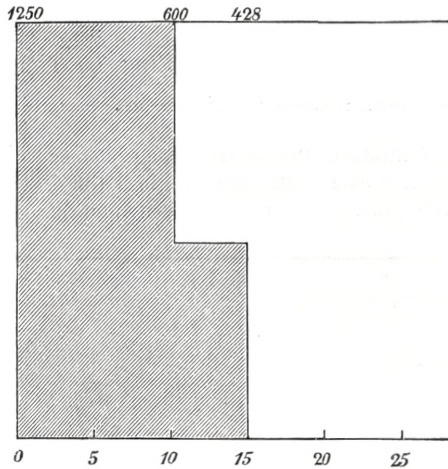
Efter $\frac{1}{2}$ Time.

1 Cm. ³ 1 pCt. af:	Opløser ... Cm. ³ Blod til $\frac{1}{120}$.	Differens.	Svarer til ... Bindings- enheder.	Hver Bindingsenhed kan gennemsnitlig opløse ... Cm. ³ Blod til $\frac{1}{120}$.
Gift	1250	> 650	10	65
— + 0,10 Cm. ³ Ant. . .	600	> 172	5	34
— + 0,15 — — . .	428			
Efter 5 Timer.				
Gift	600	> 225	10	22,5
— + 0,10 Cm. ³ Ant. . .	375	> 161	5	32
— + 0,15 — — . .	214	> 99	5	20
— + 0,20 — — . .	115	> 27	5	5,4
— + 0,25 — — . .	88			

Forsøg, vare alle Dele af Giften nu svækkede i omtrent lige høj Grad (se Tab. 6 a. og b., Tab. 7 Resumé samt Diagram 4 og 5).

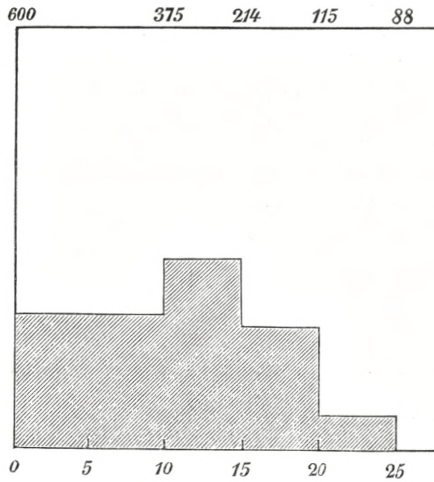
Denne ejendommelige Svækkelse af Tetanolsinet viser stor Analogi med Difterigiften. Ogsaa for dennes Vedkommende mister de første Bindingsenheder, Prototoxinet, langt hurtigere de toxiske Egenskaber end det meget stabile Deuterotoxin. Vilde man overføre de for Difterigiften valgte Betegnelser paa Tetanolsinet, kunde man kalde den Del af Giften, som svarer til Ordinaterne 1—10, Prototoxin, de langt resistentere Dele mellem 10 og 25 Deuterotoxin, den betydelig svagere, men dog endnu kjendelig virksomme Del svarende til Ordinaterne 25—60 Tritotoxin, og endelig de yderst svagt og kun paa de mest følsomme røde Blodlegemer virkende Ordinater 60—130 Toxoner.

Under det Tab. 4 omtalte Forsøg undersøgtes det tillige, om der samtidig med Giftens Svækkelse var indtraadt en Forandring af Neutralisationspunktet (σ : af Giftens Evne til at binde Antitoxin). Dette viste sig ikke at være Tilfældet.



Virkningen af hver Bindings-
enhed svarer gennemsnitlig til:

Diagram 2. Efter $\frac{1}{2}$ Time.



Virkningen af hver Bindings-
enhed svarer gennemsnitlig til:

Diagram 3. Efter 5 Timer.

Tab. 6 a.
Efter $\frac{1}{2}$ Time.

Koncentration, beregnet efter Giftdhold.	Den tilsatte Mængde i Cm. ³	Kontrolforsøg med Gift uden Antitoxin.	2 Cm. ³ 2 pCt. Gift med følgende Mængde $\frac{1}{40}$ pCt. Antitoxin- opløsning i Cm. ³			
			0,10	0,15	0,20	0,25
pCt.						
1	1,4 1,2 1,0 0,8 0,7 0,6 0,5 0,45 0,4 0,35 0,3 0,25 0,2 0,17 0,15 0,13					
$\frac{1}{10}$	1,0 0,8 0,7 0,6 0,5 0,45 0,4 0,35 0,3 0,25 0,22 0,2 0,17 0,13			$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$
	0,11	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{120}$	$\frac{1}{120}$	$\frac{1}{120}$
$\frac{1}{100}$	1,0 0,8 0,6 0,5 0,4 0,3 0,25 0,2	$\frac{1}{120}$	farveløs	farveløs	farveløs	farveløs
		farveløs	farveløs			

Tab. 6 b.
Efter 24 Timer.

Koncentration, beregnet efter Giftindhold.	Den tilsatte Mængde i Cm. ³	Kontrollforsøg med Gift uden Antitoxin.	2 Cm. ³ 2 pCt. Gift med følgende Mængde $\frac{1}{40}$ pCt. Antitoxin- opløsning i Cm. ³			
			0,10	0,15	0,20	0,25
pCt.						
1	1,4 1,2 1,0 0,8 0,7 0,6 0,5 0,45 0,4 0,35 0,3 0,25 0,2 0,17 0,15 0,13					$\frac{1}{120}$
			$\frac{1}{60}$		$\frac{1}{120}$	
				$\frac{1}{120}$		
		?	$\frac{1}{120}$			farveløs
					farveløs	
		$\frac{1}{120}$				
$\frac{1}{10}$	1,0 0,8 0,7 0,6 0,5 0,45 0,4 0,35 0,3 0,25 0,22 0,2 0,17 0,13		farveløs		farveløs	
		farveløs				
$\frac{1}{100}$	0,11 1,0 0,8 0,6 0,5 0,4 0,3 0,25 0,2					

Tab. 7. Resumé af Tab. 6 a og b.

Efter $\frac{1}{2}$ Time.

1 Cm. ³ 1 pCt. af:	Opløser ... Cm. ³ Blod til $\frac{1}{120}$.	Differens.	Svarer til ... Bindings- enheder.	Hver Bindingsenhed kan gennemsnitlig opløse ... Cm. ³ Blod til $\frac{1}{120}$.
Gift	1360			
— + 0,10 Cm. ³ Ant. . .	680	> 680	10	68
— + 0,15 — — . .	500	> 180	5	36
— + 0,20 — — . .	375	> 125	5	25
— + 0,25 — — . .	330	> 45	5	9

Efter 24 Timer.

Gift	100			
— + 0,10 Cm. ³ Ant. . .	50	> 50	10	5
— + 0,15 — — . .	33	> 17	5	ca. 3,4
— + 0,20 — — . .	21	> 12	5	ca. 2,4
— + 0,25 — — . .	13	> 8	5	ca. 1,6

Ved de anførte lagtagelser ledes man til for Tetanolysinets ligesom for Difterigiftens Vedkommende at antage, at Giftens toksiske og antitoxinbindende Egenskaber maa henføres til to forskellige Dele af denne — en toxophor og en haptophor. Denne Antagelse støttes altsaa for begge Giftes Vedkommende hovedsagelig derpaa, at deres Toxicitet kan synke meget betydeligt, uden at deres antitoxinbindende Evne behøver at forandres det ringeste (Ehrlich, Forf.).

Det er allerede tidligere omtalt, at Tetanolysinets Virkning er i høj Grad afhængig af Temperaturen. Dette er ingenlunde en for alle hæmolytiske Gifte fælles Egenskab. Ved at sammenligne Virkningen af Sublimat og Crotin ved 0° og 37° viste det sig, at Opløsningen af de røde Blodlegemer vel gik betydelig langsommere for sig i Kulden end i Varmen, men at Forskellen næsten var fuldstændig ud-

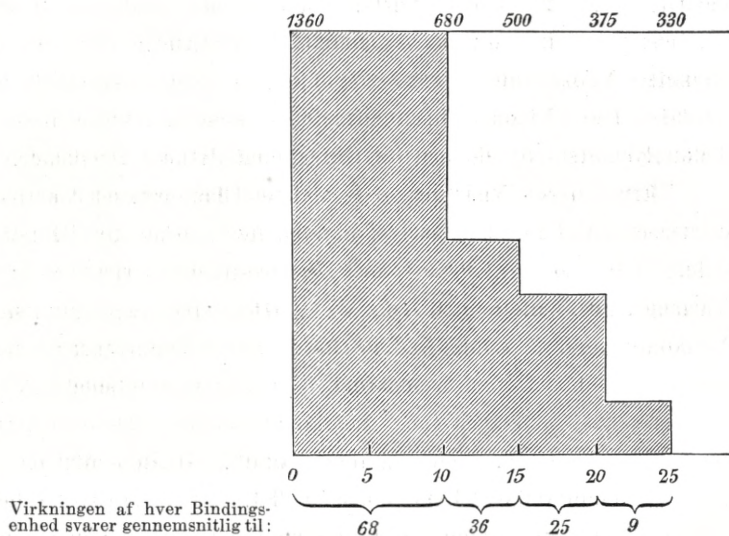


Diagram 4. Efter 1/2 Time.

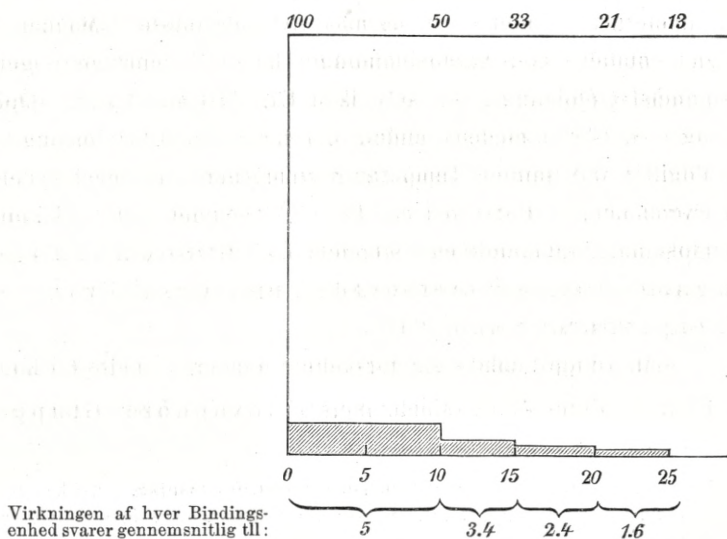


Diagram 5. Efter 24 Timer.

jævnet efter 24 Timers Forløb, saa at den endelige Virkning omtrent var den samme ved begge Temperaturer. For Tetanolysinets Vedkommende var — som omtalt — det tilsvarende Forhold 1:100. Vi maa altsaa opstille en væsentlig Forskel mellem Tetanolysinets og de nævnte Giftes hæmolytiske Egenskaber.

Efter deres Virkning ved vekslede Temperaturer kan man eftervise en Forskel paa Tetanolysinets forskellige Bestanddele. De første, Proto- og Deuterotoxinet, virke ved alle Varmegrader mellem 0° og 37° . Det viste sig for disses Vedkommende, at man ved de forskelligste Temperaturer stadig genfandt det tidligere beskrevne Neutralisationsbillede. Neutraliserer vi ved $0,25 \text{ Cm.}^3$ Antitoxinopløsning Proto- og Deuterotoxinet, mister, som tidligere omtalt, Giften omtrent $\frac{9}{10}$ af sin hæmolytiske Evne, saa at f. Ex. $0,3 \frac{1}{10}$ pCt. Fuldgift ved 37° har den samme Virkning som $0,3 \frac{1}{10}$ pCt. af den nævnte Gift-Antitoxinblanding, der altsaa kun indeholder Tritotoxin og Toxon. Nu finder man, at disse sidste forholde sig principielt forskelligt fra Giftens øvrige Dele: ved Temperaturer under 10° formaa selv de største Mængder af den omtalte Gift-Antitoxinblanding ikke at frembringe nogen-
somhelst Opløsning — selv ikke f. Ex. 10 Cm.^3 $\frac{1}{10}$ pCt. Opløsning ved 8° ; medens endnu $0,5 \text{ Cm.}^3 \frac{1}{10}$ pCt. Opløsning af Fuldgift ved samme Temperatur frembringer en meget tydelig Farvenuance. Først ved ca. 12° — 15° begynder der at komme Opløsning, tiltagende med stigende Tp. Tritotoxin og Toxon mangle altsaa overhovedet hæmolytisk Evne ved Temperaturer under 10° .

Man kunde tænke sig forskellige Aarsager til dette Forhold:

1. At Varme- og Kuldetoxinets¹⁾ toxophore Grupper

¹⁾ «Varmetoxin» er en kort Betegnelse for en Giftopløsning, i hvilken man ved Tilsætning af $0,27 \text{ Cm.}^3$ Antitoxin har neutraliseret Proto- og Deuterotoxinet, saa at den kun indeholder de Bestanddele, som kræve Tp. over 10° for at virke. I Modsætning hertil kaldes Giften uden Antitoxintilsætning her kort «Kuldetoxin».

vare identiske, men at Varmetoxinet ikke kunde virke ved lav Tp., fordi det under disse Omstændigheder ikke bandtes til de røde Blodlegemer.

2. At Bindingen til de røde Blodlegemer var den samme for begge Giftarters Vedkommende, men at Varmetoxinets toxophore Grupper vare svagere, saa at de først kunde komme til Virkning ved Temperaturer over 10° .
3. At baade Varmetoxinets toxophore og bindende («haptophore») Grupper vare svagere end Kuldetoxinets.

For at afgøre dette blev der udført en Del Forsøg, af hvilke nedenstaaende anføres som Exempel:

En Række Centrifugeglas, som indeholdt 10 Cm.³ 5 pCt. Kaninblod bleve afkølede ved Nedsænkning i Isvand; dernæst blev der tilsat nedenanførte Mængder — dels Varme- dels Kuldetoxin, og Rørene stilledes atter ved 0° . Efter $1\frac{1}{2}$ Times Forløb centrifugeredes de, den ovenstaaende Vædske, som i alle Glassene var fuldstændig farveløs, hældtes fra, og Blodlegemerne vaskedes 2 Gange med isaffølet fysiologisk Kogsaltopløsning for sikkert at fjerne de sidste Spor ikke bundet Gift. Dernæst bleve Blodlegemerne atter opslemmede i 10 Cm.³ fysiologisk Chlornatriumopløsning, Rørene stilledes 1 Time ved 37° , og efter 24 Timers Forløb observeredes Farvenuancerne. Opløsningsgraden er altsaa et Udtryk for, hvor megen Gift, der i de $1\frac{1}{2}$ Time er bundet til de røde Blodlegemer (se Tab. 8).

Som man ser, maa man anvende henimod 30 Gange saa meget Varme- som Kuldetoxin, for at der kan bindes den samme Mængde (Farvenuance $\frac{1}{160}$). Da Virkningen af 10 Dele Varmetoxin ved 37° svarer til Virkningen af 1 Del Kuldetoxin, ser man, at der ved 0° bindes næsten 3 Gange mindre af det første end af det sidste. Men det er tillige klart, at ogsaa Varmetoxinets toxophore Gruppe maa være af en anden Art end Kuldetoxinets. Hvis de vare identiske, maatte man ved Tp. under 10° kunne frembringe den samme

Tab. 8.

Kuldetoxin.			Varmetoxin.		
Den til 10 Cm. ³ 5 pCt. Blodfortynding tilsatte Gifts		Efter 24 Timers Forløb iagttogetes følgende Farvenuancer.	Den til 10 Cm. ³ 5 pCt. Blodfortynding tilsatte Gifts		Efter 24 Timers Forløb iagttogetes følgende Farvenuancer.
Koncentration.	Mængde i Cm. ³		Koncentration.	Mængde i Cm. ³	
pCt.			pCt.		
$\frac{1}{10}$	0,8	$\frac{1}{160}$	1	3,0	$\frac{1}{160}$
	0,6			2,5	
	0,5			2,0	
	0,4			1,75	
	0,3			1,5	
	0,25	farveløs		1,25	farveløs
	0,2			1,0	
	0,17			0,8	
	0,13			0,6	
	1,0			0,5	
$\frac{1}{100}$	0,8		0,4		
	0,6		0,3		

Virkning ved Anvendelsen af 30 Gange saa meget Varmetoxin som Kuldetoxin. Dette er imidlertid ikke Tilfældet; selv ved en 200 Gange saa stor Mængde faar man ikke nogensomhelst Opløsning.

De omtalte Fænomener minde meget om visse Forhold ved Tetanospasminet. Indsprøjtes Tetanusgift paa en Frø, faar denne ikke Tetanus, saalænge den holdes i Kulden, men først ved højere Tp. (Courmont og Doyon). Dette kunde tænkes at afhænge af, at enten Tetanusgiften overhovedet ikke blev bundet til Frøens Nervesystem ved den lave Temperatur, eller deraf, at Giften vel var bunden, men krævede Varme for at kunne udfolde sine tetaniserende Egenskaber. For at afgøre dette, indsprøjtede Morgenroth Tetanusgift paa en Række Frøer, der holdtes i Kulden; paa forskellige Tidspunkter efter Injektionen gaves dernæst den in vitro neutraliserende Antitoxinmængde, hvorpaa Frøerne stillede i Varmen. Man saa da, at en vis Tid efter

Injektionen var den neutraliserende Antitoxindosis ikke i Stand til at forhindre, at Dyrene fik Tetanus. Heraf kunde der drages den Slutning, at Giften blev bundet til Frøens Celler allerede ved lav Tp., men at dens toksiske Egenskaber først ved højere Tp. kunde komme i Virksomhed. Man ser, at der er betydelig Overensstemmelse mellem Tetanospasminets Forhold overfor Frøens Nervesystem og den Maade, hvorpaa Tetanolsinets Tritotoxoid og Toxon optræde overfor de røde Blodlegemer.

De omtalte Forsøg tillade ingen Tvivl om, at der findes en kemisk Binding mellem Tetanolsinet og dets Antitoxin. I Overensstemmelse hermed kan man vise, at det varer en kendelig Tid, førend denne Reaktion er fuldendt (se Tabel 9). Heri staar Tetanolsinet i Modsætning til Difterigiften, hvor Bindingen mellem Gift og Modgift er færdig efter kort Tids Forløb.

Af de anførte Tal ser man tydelig, hvilke Forsøgsfejl man maa undgaa, naar man arbejder med Tetanolsin. Paa den ene Side maa man sørge for, at Bindingen mellem Gift og Antitoxin er fuldstændig, paa den anden Side for, at Giften ikke svækkes. En af de vigtigste Regler ved disse Arbejder er altsaa, at Forsøgene maa udføres saa vidt mulig samtidig.

Ved en overfladisk Undersøgelse af en anden med Ammoniumsulfat udfældet Gift blev der fundet omtrent de samme Forhold som ved den her beskrevne; saaledes var der næsten det samme Neutralisationsbillede, saa at man kunde adskille en Proto-, Deutero- og Tritotoxinzone samt en Toxonzone. Ogsaa her fandtes en Forskel svarende til «Kulde»- og «Varme»toxin.

Tab. 9.

2 Cm.³ 4 pCt. Tetanolytinopløsning blandes med 0,15 Cm.³ $\frac{1}{20}$ pCt. Antitoxinopløsning. De henstaa dernæst neden anførte Tider ved ca. 15°, fortyndes til det angivne Giftindhold og afmaales til Blodet.

Koncentration.	Mængde i Cm. ³	Umiddelbart efter Blandingen.	Efter 15 Min.	Efter 2 Tim.	Efter 5 Tim.
pCt.					
1	0,25				
	0,2				
	0,17				
	0,15				$\frac{1}{60}$
	0,13				
$\frac{1}{10}$	1,0				
	0,8				
	0,7			$\frac{1}{60}$	$\frac{1}{120}$
	0,6				
	0,5		$\frac{1}{60}$		
	0,4				
	0,3	$\frac{1}{60}$		$\frac{1}{120}$	
	0,25				
	0,2		$\frac{1}{120}$		
	0,17				farveløs
	0,13	$\frac{1}{120}$			
$\frac{1}{100}$	1,0				
	0,8				
	0,6			farveløs	
	0,5		?		
	0,4	farveløs			
	0,3				

Samtidig Forsøg viste, at Giftens Virkeevne ikke forandredes i Løbet af de første 2 Timer, men at den derpaa i de følgende 3 Timer svækkedes til det halve.

Resultaterne af de foranstaaende Undersøgelser over Tetanolysinet kunne kort sammenfattes paa følgende Maade:

I Kulturer af Tetanusbacillen findes et fra Tetanospasminet forskelligt Stof, Tetanolysinet. Dette bindes af de røde Blodlegemer, som det opløser efter en vis Latenstid, afhængig af Giftmængden og af Temperaturen.

Tetanolysinet har sit specifikke, fra Tetanusantispasminet forskellige Antitoxin.

Virkingen af dette Stof og dets Modgift lader sig med stor Nøjagtighed maale ved simple farvesammenlignende Metoder.

Tetanolysinet har et kompliceret Neutralisationsbillede, som viser stor Overensstemmelse med det, som Ehrlich og Forf. har fundet for Difterigiftens Vedkommende. Ligesom i denne kan man ogsaa i Tetanolysinet ved fraktioneret Mætning udsønde en Række Bestanddele af forskellig Virkning.

I den Halvdel af Giften, som bindes først, svarende til den første Halvdel af Neutralisationsbilledet, kan man adskille 3 Grupper: Proto-, Deutero- og Tritotoxin:

Prototoxinet har de stærkest hæmolytiske Egenskaber. Skønt det kun udgør $\frac{1}{13}$ af Giften, besidder det dog Halvdelen af dens Virkeevne. Ligesom Difterigiftens Prototoxin svækkes det meget let og omdannes til Toxoid, α : mister sin Giftighed samtidig med, at det bevarer sin Evne til at binde Antitoxin uforandret.

Deuterotoxinet er mindre giftigt; det udmærker sig ligesom Difterigiftens ved sin forholdsvis store Resistens mod ydre Indvirkninger.

Tritotoxinets Virkning er langt svagere end de foregaaende og er kvalitativt forskellig fra disse. Medens Proto- og Deuterotoxinet kunde opløse de røde Blodlegemer baade ved højere og ved lavere Temperatur, var Tritotoxinet ganske ude af Stand til at udfolde sin Virksomhed ved Tp. under 10° . Aarsagen hertil viste sig at være den, at Tritotoxinet ikke alene

i ringere Grad end de øvrige to blev bundet af de røde Blodlegemer, men navnlig, at dets toxophore Gruppe havde en langt svagere Virkning end Proto- og Deuterotoxinets.

Den anden Halvdel af Tetanolysinet er overordentlig lidet giftig og synes ogsaa at være kvalitativt forskellig fra den øvrige Del, idet den kun er i Stand til at angribe en bestemt Del af Blodet, de mest følsomme røde Blodlegemer. Dette Forhold minder om den friske Difterigift, hvor man ogsaa i den ene Halvdel træffer Bestanddele (Toxoner), der ere væsentlig forskellige fra den øvrige Del. Vi vælge derfor ligeledes for den tilsvarende Del af Tetanolysinet Benævnelsen Toxon.

Af det foregaaende ser man endvidere, at man i Tetanolysinet ligesom i Difterigiften maa skelne mellem to forskellige Grupper, en haptophor med antitoxinbindende Evne og en toxophor som Bærer af den hæmolytiske Virkning. Medens den første af disse er relativt stabil, svækkes eller omdannes den sidste meget let.

Efter al Sandsynlighed har Tetanospasminet et lignende Neutralisationsbillede som Tetanolysinet. En stor Række Forsøg af Dr. Morgenroth viste med Sikkerhed, at Tetanospasminets første Bindingsenheder havde en langt stærkere Giftvirkning end de sidste. En nøjere Analyse heraf stødte imidlertid paa store Vanskeligheder, idet dens Grundlag, den dræbende Minimaldosis, ikke lod sig bestemme med den til disse Forsøg ubetinget nødvendige Nøjagtighed — i hvert Fald ikke paa det benyttede Forsøgsdyr, Musen.

Man ser, hvor mange Gange større Fordelene ere, naar man er i Stand til at foretage disse Undersøgelser i Reagensglas. Her kan man paa samme Tid anstille et næsten ubegrænset Antal Forsøg, sammenligne dem med Kontrollforsøg, som ere gjorte under ganske samme Betingelser og paa et Forsøgsobjekt af absolut samme Følsomhed. Særlig ved Stoffer af en saa labil Art som Tetanolysinet byder kun Reagensglas-

forsøget nogen Sikkerhed for, at Resultatet af vore Undersøgelser ikke forvisses af betydelige og hurtigt indtrædende Forandringer af Giften.

Ogsaa det anvendte Forsøgsobjekt, de røde Blodlegemer, viser sig ikke uden Interesse. Som tidligere udviklet har man Grund til at antage, at hvert enkelt Blodlegeme har en for det ejendommelig Følsomhed overfor Tetanolyset, noget, som ingenlunde afgiver et Maal for dets Følsomhed overfor andre Blodgifte. Men naar et saa simpelt Forsøgsobjekt, som en Opslemning af røde Blodlegemer i fysiologisk Kogsaltopløsning maa anses for i den Grad kompliceret, kan man heraf slutte sig til, hvor indviklede Forholdene ere, naar man indfører en Gift i den levende Organisme med dens mangfoldige Cellekomplexer.

Ovenstaaende Arbejde er udført i det «Kg. pr. Inst. f. Serumforschung u. Serumprüfung», og jeg skylder dettes Leder, Geh.-Med.-Rath. Prof. Dr. P. Ehrlich min varmeste Tak for den Vejledning, han har ydet mig paa ethvert Punkt af mine Undersøgelser.