

Die in Tabelle I zusammengefassten Daten von 10 gleichartig durchgeführten Versuchen lassen den Schluss zu, dass noch mit 100 Infektionsdosen (LD_{50}) infizierte Mäuse signifikant geschützt werden können (Beobachtungsdauer 12 Tage). Irrtumswahrscheinlichkeit $P = < 0,1\%$ bei 10 LD_{50} und bei 100 LD_{50} . In ergänzenden Versuchen hatte sich ergeben, dass der optimale Effekt einer einmaligen Polysaccharidinjektion abhängig ist vom Behandlungstermin.

2. *Beeinflussung von Virus und Serumfaktoren in vitro.* Zur Abklärung des Wirkungsmechanismus wurde die Wirkung gegenüber Virus *in vitro* untersucht. Die erwähnte polysaccharidartige Fraktion und mehrere andere, durch chemische Behandlung aus Bakterien erhaltene Stoffe vermögen die Virushämagglutination von Influenzavirus nicht zu hemmen. Dies im Gegensatz zu gewissen Mucopolysacchariden und zu den Polysacchariden von GINSBERG⁶ oder MACPHERSON *et al.*⁷. Im Brutei wurde gegen Influenzavirus A keine Hemmwirkung festgestellt. Bei Mischung mit Serum *in vitro* wird die virus-hemmende Wirkung des Serums herabgesetzt.

Frisches Meerschweinchen Serum wurde mit verschiedenen Polysacchariden vermischt und 1 h lang bei 6°C stehengelassen. Das so behandelte Serum wurde zu Krebs-Ringer-Glukose-Medium gegeben (Serum-Endkonzentration 1:30) und mit je 2 etwa 25 mm² grossen Stückchen von Chorioallantoismembranen 14tägiger Hühnerembryonen beschickt. Je 12 derartige Proben wurden sodann abgestuft mit Influenzavirus PR₈ beimpft und für 24 h bei 37°C bebrütet. Danach wurde die Virusentwicklung mittels der Hämagglutination von Hühnererythrozyten festgestellt. In entsprechenden Kontrollen wurde gesichert, dass die zugesetzten Serumproben die Virushämagglutination nicht hemmten. Während der Infektionstiter des verwendeten Influenzavirus ohne Serumzusatz bei dieser Prüfung 10^{-6} betrug, reduzierte der Serumzusatz den Virustiter regelmässig auf 10^{-3} bis $10^{-2,5}$.

Tabelle II

Einfluss verschiedener Bakterienprodukte auf die Virusentwicklung in Gegenwart von Serum

Serum gemischt mit	Infektionstiter in Gegenwart der Serumproben (10 g)
Ohne Serum/ohne Po	6
Serum ohne Po.	2,5
+ Präp. C 1:1000*	4,5
+ Präp. B 1:1000	4,0
+ Präp. A 1:1000	4,0

* Die genauen Formeln werden anderswo publiziert.

Die virushemmende Wirkung des Meerschweinchen-serums wird durch Mischung mit Bakteriensubstanzen in einer Konzentration von 10^{-3} um das 30- bis 100fache herabgesetzt. Dabei ist ein schwerlösliches Produkt aus Bakterienrückständen (Präparat C) am stärksten wirksam, während die beiden anderen Präparate (A und B), die aus der von Bakterien abgetrennten Kulturflüssigkeit stammen, etwas weniger stark inaktivieren.

⁶ H. S. GINSBERG, W. F. GOEBEL und F. L. HORSFALL, J. exper. Med. 87, 411 (1948).
⁷ J. A. MACPHERSON, J. F. WILKINSON und R. H. A. SWAIN, Brit. J. exper. Path. 34, 603 (1953).

Die Bestimmung der virushemmenden Wirkung des Serums nach Applikation von Präparat A bei der Ratte ergibt zwei Phasen. Die virushemmenden Werte sind zunächst während einer Periode von 24 bis 96 h erniedrigt, später steigt die virushemmende Aktivität des Serums wieder an. Abfall und Anstieg der Viruzidiewerte der Seren decken sich zeitlich nicht mit den Veränderungen der Komplementaktivität in den gleichen Seren, unter Berücksichtigung der von PILLEMER zur Bestimmung des Properdins angegebenen Methode.

Aus den vorstehenden Befunden ergeben sich folgende Schlussfolgerungen:

1. dass eine Vorbehandlung mit der untersuchten Polysaccharidfraktion bei einer bestimmten Virusinfektion einen Infektionsschutz hervorbringen kann;
2. dass *in vitro* keine direkten virushemmenden Eigenschaften dieser polysaccharidartigen Fraktion nachzuweisen sind;
3. dass eine Änderung des viruziden Verhaltens der Seren durch die angewandten Bakterienprodukte hervorgerufen wird.

Das Ergebnis zeigt, dass die Wirkung der vorliegenden Substanzen sich von derjenigen der von GINSBERG untersuchten Stoffe unterscheidet und dass der Wirkungscharakter nicht dem des von PILLEMER beschriebenen Faktors entspricht. Obschon die Wirkung wahrscheinlich auf der Beeinflussung «normaler Abwehrfunktionen» beruht, besteht ausserdem ein hoher Spezifitätsgrad insofern, als offenbar nur ganz bestimmte polysaccharidartige Fraktionen wirksam sind und die Beeinflussung der Virusinfektion von speziellen Konditionen hinsichtlich Virusstamm und Mausmaterial abhängig ist.

R. MEIER und F. KRADOLFER

Wissenschaftliche Laboratorien der CIBA Aktiengesellschaft Basel, den 1. März 1956.

Summary

A polysaccharide like substance derived from cultivated bacteria is shown to exert a protective effect in mice infected with SK-Col. Encephalomyelitis. The effect is optimally produced when the substance is applied previous to the infection. Certain changes in sera treated with the substance are observed involving normal virucidal factors of the sera.

L'azione protettiva dell'acido tiotico nell'intossicazione da cianuro di potassio

Le ricerche compiute in questi ultimi tempi da uno di noi (CUTOLO¹) sull'enzima rodanese e sulla costituzione chimica della sua parte coenzimatica, hanno messo in luce la possibilità che tale coenzima contenga acido tiotico.

Allo scopo di avere un dato sperimentale che confermasse tale possibilità, abbiamo voluto vedere se l'acido

¹ E. CUTOLO, non pubbl.

tiotico e l'acido tiotico ridotto, esercitassero un'azione protettiva nell'intossicazione da cianuro di potassio, qualora fossero somministrati preventivamente. D'altro canto se l'effetto protettore dell'acido tiotico era dovuto principalmente alla presenza di gruppi tiolici o disolfuri nella sua molecola, anche altre sostanze contenenti tali gruppi dovevano presentare la medesima attività: per tale ragione abbiamo sperimentato parallelamente come protettori la cisteina, il BAL (dimer-captopropanolo), la pantetina (bis-N-pantotenilamido-etil-disolfuro) ed il tiosolfato sodico.

Può essere inoltre interessante rammentare che in alcuni altri tipi di intossicazione l'acido tiotico si è dimostrato più attivo del BAL².

Per questi esperimenti sono stati utilizzati topolini di sesso maschile, di peso compreso tra 20 e 25 g, provenienti dal nostro allevamento, ed in ottime condizioni generali.

Gli animali sono stati suddivisi in 7 gruppi di 20 ciascuno: il primo gruppo riceveva solo KCN (15 mg/kg) per via sottocutanea, agli altri 6 gruppi il KCN veniva somministrato per la stessa via ed alla stessa dose, 10 min dopo l'iniezione della sostanza protettiva.

Il secondo gruppo era protetto con acido tiotico (AT), contenente il legame disolfuro, che veniva somministrato alla dose di 46 mg/kg per via endoperitoneale (soluzione allo 0,23%, allestita al momento dell'uso).

Il terzo gruppo era protetto con acido tiotico ridotto (ATH), contenente cioè 2 gruppi -SH, che veniva somministrato alla dose di 48 mg/kg per via endoperitoneale (soluzione allo 0,24% allestita al momento dell'uso).

Il quarto gruppo era protetto con cisteina (CIST) che veniva somministrata alla dose di 76 mg/kg per via endoperitoneale (soluzione allo 0,38% allestita al momento dell'uso).

Il quinto gruppo era protetto con BAL che veniva somministrato alla dose di 28 mg/kg per via endoperitoneale (soluzione acquosa allo 0,14% allestita al momento dell'uso).

Il sesto gruppo era protetto con pantetina (PANT) che veniva somministrata alla dose di 124 mg/kg per via endoperitoneale (soluzione allo 0,62% allestita al momento dell'uso).

Il settimo gruppo era protetto con il tiosolfato sodico (TIOS) alla dose di 114 mg/kg (soluzione allo 0,57% preparata al momento dell'uso).

Le dosi di AT, ATH, BAL, PANT erano equimolecolari con quella di KCN, quelle di CIST e TIOS erano due volte molecolari.

In esperimenti antecedenti ci eravamo assicurati che per nessuna sostanza le dosi impiegate fossero tossiche o in qualche modo dannose per gli animali.

I risultati ottenuti sono riassunti nella Tabella.

Per calcolare le percentuali di mortalità, l'errore standard σ_M e t ci siamo serviti dei metodi consigliati da GÜNTHER³ e la probabilità P è stata ricavata dalle tabelle di FISHER e YATES⁴.

I valori di t e P sono stati calcolati rispetto agli animali del primo gruppo.

Dai risultati esposti in Tabella e dalla analisi statistica effettuata, appare chiara l'azione protettiva esercitata dall'acido tiotico in verità assai più spiccata per l'ATH.

D'altro canto i risultati ottenuti con il BAL non si discostano da quelli osservati per l'acido tiotico.

Per la cisteina e per il tiosolfato i risultati sono indubbiamente meno probativi e con questi prodotti ci troviamo al limite della significatività.

Ani- mali N°	KCN mg/kg sotto- cute	Sostanza pro- tettiva e dose mg/kg endo- peritoneo	Mortalità			
			N° animali morti	% $\pm \sigma_M$	t	P
20	15	—	17	82 $\pm$ 8	—	—
20	15	AT-46	9	45 $\pm$ 10	2,8	0,01– 0,001
20	15	ATH-48	3	18 $\pm$ 8	5,6	<0,001
20	15	CIST-76	12	59 $\pm$ 10	1,77	0,1– 0,05
20	15	BAL-28	8	41 $\pm$ 10	3,15	0,01– 0,001
20	15	PANT-124	15	73 $\pm$ 9	1,09	0,3– 0,2
20	15	TIOS-114	11	54 $\pm$ 10	2,08	0,05– 0,02

Quasi del tutto negativi infine i risultati osservati con la pantetina.

L'insieme dei dati esposti parrebbe quindi confermare che l'azione protettiva dell'acido tiotico nella intossicazione acuta da KCN è dovuta solo in parte alla presenza nella sua molecola di gruppi tiolici, ma più probabilmente ad un suo intervento come sostanza coenzimatica.

E. CUTOLO e F. REDUZZI

Laboratorio Ricerche dell'Istituto Sieroterapico Italiano,
Napoli, 12 dicembre 1955.

Summary

The protective action of thioctic acid and of its reduced form in acute potassium cyanide poisoning has been studied in comparison with the antitoxic action of other compounds with mercapto or disulfide groups.

The results permit the following conclusions: (1) Maximum protective action is given by reduced thioctic acid; (2) thioctic acid and BAL have almost the same activity; (3) cysteine and sodium thiosulfate have a protective activity of a much lower order; (4) panthethine is almost inactive. The authors offer the hypothesis that the greater activity of thioctic acid is due to its possible presence as coenzyme in rhodanese.

² F. REDUZZI, Boll. Soc. Ital. Biol. sperim. 31, 615 (1955). – P. BONI, F. REDUZZI, G. BILE e V. GALLORO, Clin. Terap. 9, 129 (1955). – L. DONATELLI, Relazione al Simposio Intern. sull'Acido Tiotico, Napoli 28–29 nov. 1955 – Atti (in corso di stampa).

³ G. POUMEAU-DELILLE, *Techniques biologiques en endocrinologie expérimentale chez le rat* (Masson, Paris 1953), p. 161.

⁴ R. A. FISHER e F. YATES, *Statistical Tables* (Oliver and Boyd, London 1948), p. 32.

The Role of pH in Nitrogen Utilization by *Piricularia oryzae*

In preliminary studies on the physiology of *Piricularia oryzae*, the fungus causing the blast disease of rice, it was found that the isolate used failed to utilize the usual in-