

Die Bildung von Antikörpern gegen verschiedene Kuhmilch-Proteine bei Neugeborenen, Kindern, Erwachsenen und Graviden

Gegenstand der folgenden Arbeit sind Untersuchungen über die Beziehung zwischen Bildung von Antikörpern gegen Kuhmilch und Lebensalter, sowie die Prüfung der Frage, gegen welche Proteine der Kuhmilch Antikörper gebildet werden.

Methoden und Material. Zum Nachweis präzipitierender Antikörper benutzten wir eine Mikromodifikation auf Objektträgern des Agardiffusionstestes nach OUCHTERLONY¹. In das auf die Objektträger (46/76 mm) ausgegossene 2%ige Agargel (3,2 cm² Agar pro Objektträger; pH 7,4; Mertholat 1:10 000) wurden 7 runde Löcher (Ø 9 mm) in Rosettenanordnung in einem Abstand von 7 mm gestanzt. In das zentrale Loch wurde das zu untersuchende unverdünnte Serum und in die sechs anderen Löcher das Antigen in der jeweils geeigneten Verdünnungsreihe eingefüllt.

(A) Antigene. *Kuhmilch und Molke*: siehe². *Rinderserum*: 3-fach mit Carbowachs (Polyäthylenglykol) konzentriert. *Rinderserum- γ -Globulin*: von Nutritional Biochemicals Corp., Cleveland (Ohio). *Rinderserum-Albumin*: Von den Behringwerken, Marburg/Lahn. *β -Lactoglobulin und α -Lactalbumin*: nach der Methode von ASCHAFFENBURG und DREWRY³ aus Kuhmilch gewonnen. Von Dr. ASCHAFFENBURG⁴ wurde uns je eine Probe der beiden Antigene zur Verfügung gestellt, so dass wir die von ihm überlassenen mit unseren Präparaten mittels des OUCHTERLONY-Tests und der Immunelektrophorese auf Identität prüfen konnten. *Casein*: siehe⁵.

Alle von uns verwendeten Antigene wurden in der Papierelektrophorese und in der Immunelektrophorese mit Anti-Kuhmilchserum von Kaninchen auf Reinheit geprüft. Die Antigene α -Lactalbumin, β -Lactoglobulin, Rinderserum-Albumin, Rinderserum- γ -Globulin wurden in Albumin (Schweizerisches Rotes Kreuz, 15%, human, salzarm, 3% Glukose) verdünnt, die anderen Antigene in Veronalpuffer von pH 7,2.

(B) Präzipitationszeit. Bei den Antigenen Kuhmilch und Molke: 24 h, bei allen anderen Antigenen: 40–50 h.

(C) Färben. Die getrockneten Präparate wurden mit Azocarmin gefärbt.

Ergebnisse. (1) *Die Bildung von Antikörpern gegen Kuhmilch bei Neugeborenen, Kindern, Erwachsenen und Graviden* (siehe Figur). Bei der Ermittlung der Altersverteilung der Individuen mit Antikörpern gegen Kuhmilch zeigte es sich, dass bei 46 (41%) der untersuchten 110 Neugeborenen präzipitierende Antikörper gegen Kuhmilch im Nabelschnurblut nachzuweisen waren. Daraus resultiert, wie schon mittels einer anderen Methode von BERGER und BAUER⁶ gezeigt wurde, dass die von der Mutter gebildeten Antikörper auf das Kind übergehen.

Es scheint, dass die passiv übertragenen Antikörper ebenso wie andere passiv erworbene Immunstoffe nach einiger Zeit verschwinden; denn bei 63 gesunden Kindern im Alter von einem Monat bis 12 Jahren waren nur 2mal (3,1%) präzipitierende Antikörper nachweisbar. Im Laufe des weiteren Lebens werden ca. 18% der gesunden Individuen gegen Kuhmilch sensibilisiert, was daraus hervorgeht, dass bei 20 von 107 Blutspendern⁷ Antikörper gefunden werden konnten.

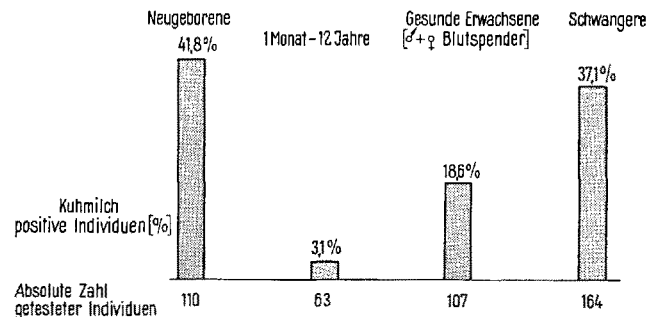
Eine Sonderstellung nehmen Gravide ein, die nach unseren Erhebungen häufiger als nicht Gravide Antikörper gegen Kuhmilch bilden. Fanden wir doch bei 61 (37%) von 164 untersuchten Frauen, denen entweder während der Gravidität oder ganz kurz *post partum* Blut

entnommen worden war, Antikörper gegen Kuhmilch. Durch diese Befunde wird auch erklärbar, weshalb über 40% (s. oben) der Neugeborenen Kuhmilchantikörper besitzen (sämtliche Differenzen statistisch gesichert).

(2) *Untersuchungen über Antikörperbildung gegen einzelne Proteine der Kuhmilch*. Wir untersuchten im folgenden die vorher beschriebenen 129 mit Kuhmilch positiv reagierenden Personen auf Antikörper gegen Casein, gegen Molke, gegen α -Lactalbumin und β -Lactoglobulin und gegen diejenigen Milchproteine, die wie GUGLER et al.² gezeigt haben, mit Proteinen des Rinderserums identisch sind.

Bei ca. 70% der Neugeborenen und Graviden sowie bei 90% der gesunden Erwachsenen konnten Immunstoffe gegen Molkeproteine, nicht aber, abgesehen von einer einzigen Ausnahme, gegen Casein nachgewiesen werden. Ferner zeigte es sich, dass die Molkeantikörper häufig gegen β -Lactoglobulin gerichtet waren; die Seren von 9 Neugeborenen (21%), von 26 (26,5%) Graviden, sowie von 16 (89%) gesunden Erwachsenen präzipitierten β -Lactoglobulin. Gegen α -Lactalbumin waren nur 5mal Antikörper nachweisbar.

Im Gegensatz hierzu liessen sich niemals bei gesunden Individuen Antikörper gegen die Milchproteine, die mit Proteinen des Rinderserums identisch sind^{2,8}, finden. Dieses Resultat ist deswegen hervorzuheben, weil allergieverdächtige Kinder, wie an anderer Stelle gezeigt werden soll, Antikörper gegen Proteine des Rinderserums und gegen Casein bilden. In der betreffenden Arbeit sind auch die Publikationen anderer Autoren angeführt, welche sich mit dem gleichen oder ähnlichen Gegenstand befassen⁹.



Präzipitierende Kuhmilchantikörper in den verschiedenen Lebensaltern nachgewiesen mittels des Ouchterlony-Tests.

129 Personen mit Antikörpern gegen Kuhmilch
315 Personen ohne Antikörper gegen Kuhmilch
Total 444 untersuchte Personen

¹ O. OUCHTERLONY, *Progress Allergy* 5, 1 (1958).

² E. GUGLER, M. BEIN und G. VON MURALT, *Schweiz. Med. Wschr.* 89, 1172 (1959).

³ R. ASCHAFFENBURG und J. DREWRY, *Biochem. J.* 65, 273 (1957).

⁴ Wir sind Herrn Dr. ASCHAFFENBURG (Reading) für die Überlassung der Substanzen zu grossem Dank verpflichtet.

⁵ E. BERGER, A. BÜRGIN-WOLFF und M. JUST, *Exper.* 18, 40 (1962).

⁶ E. BERGER und R. CH. BAUER, *Med. exp.* 1, 37 (1959).

⁷ Wir danken Herrn PD Dr. L. HOLLÄNDER (Basel) für die Überlassung der Seren.

⁸ L. Å. HANSEN und B. JOHANSSON, *Exper.* 15, 377 (1959).

⁹ Für die Ausführung der serologischen Bestimmungen danken wir Fräulein IRENE VON SCHWEINICHEN herzlich. Ausserdem sind wir Herrn Dr. H. HUBER für die statistischen Berechnungen und Dr. N. ROTH, der uns in die Technik des Ouchterlony-Tests eingeführt hat, zu grossem Dank verpflichtet.

Summary. In over 40% of 110 newborn infants tested, in 3% of 63 healthy children, in 18% of healthy adults and in 37% of 164 pregnant women, precipitating antibodies against cow's milk could be demonstrated. All these groups form antibodies only against the whey-proteins specifically present in milk, particularly β -

lactoglobuline, and not against caseine or cow's milk proteins identical with protein present in beef serum.

ANNEMARIE BÜRGIN-WOLFF und E. BERGER

Serologisches Laboratorium des Basler Kinderspitals, Basel (Schweiz), 14. August, 1962

Feeding Response of Adult *Tribolium* to Carbohydrates in Relation to their Utilisation

Various species of *Tribolium* are known to flourish well on cereals and their products, in comparison with non-cereals (FRAENKEL and BLEWETT¹; SMALLMAN and AITKEN²). In the course of investigations into the factors governing establishment of *Tribolium castaneum* (Herbst.) on one and not on the other source of food, study of the role of carbohydrates in stimulating ingestion of food and their nutritional efficiency for the survival of adult insects has been undertaken.

The stimulating capacity of different carbohydrates for the adult *T. castaneum* was determined by comparing the feeding response to different test diets offered singly. For this purpose, each diet was dyed with bromophenol blue, dried and powdered. About 500 mg of the test diet was offered to 20 insects, kept in glass vials, for 30 min. At the end of this period, the insects were removed, dissected and examined under a microscope. Presence of the dye within the gut would indicate ingestion of the diet. The percentage of individuals ingesting the different carbohydrates would indicate the relative feeding preference of the insects on these sugars.

Amongst the different carbohydrates tested in pure form, feeding activity of the insect was greater on sucrose and fructose than on starch, maltose, glucose, raffinose, melibiose and agar-agar. The response to the last six carbohydrates was equally poor. Addition of sucrose to agar-agar in concentrations of 5%, 50% or 75% did not elicit any greater feeding response than the pure agar-agar. However, the feeding activity of the insect on each of the carbohydrates, listed above, was significantly lower than that on wheat flour which is the natural food of the insect.

Nutritional efficiency of the carbohydrates for survival of adult *T. castaneum* was also determined by comparing the time taken for 50% mortality of individuals kept on each carbohydrate. The insects kept on starch or maltose survived for the longest period, 50% mortality of the individuals occurring in 119 days in the case of starch and in 126 days in the case of maltose. Glucose, melibiose and lactose were less efficient and supported adult life

for a period of 76–104 days. Nutritional efficiency of the remaining carbohydrates namely, fructose, sucrose, melezitose, raffinose and cellobiose was very poor since 50% mortality occurred in 23–30 days. Relative efficiency of the carbohydrates for the adult was thus quite different from that for the larva for which sucrose was as efficient as starch, maltose, cellobiose and glucose, but melibiose and lactose retarded its growth (BERNARD and LEMONDE³).

On the basis of all these observations, it is evident that the carbohydrates, by themselves, do not stimulate ingestion of food by adult *Tribolium* and, therefore, their presence in the cereals does not seem to play much role in the insect's preference for feeding on these foodstuffs. Nevertheless, the relative proportion of different carbohydrates in the cereals (KENT-JONES and AMOS⁴) is correlated with the capacity of the insect to digest and absorb them (KRISHNA and SAXENA⁵) and also with their efficiency to support its survival⁶.

Zusammenfassung. Die Fütterungsreaktionen beim erwachsenen *Tribolium castaneum* (Herbst.) zeigen, dass keine der verschiedenen Kohlenhydrate das Fressen besonders anregt. Der Nährwert dieser Kohlenhydrate nimmt in folgender Reihenfolge ab: Stärke und Maltose; Glukose, Melibiose und Milchzucker; Rohrzucker, Fruchtzucker, Melezitose, Raffinose und Cellobiose.

S. S. KRISHNA and K. N. SAXENA

Department of Zoology, University of Delhi (India), June 8, 1962.

¹ G. FRAENKEL and M. BLEWETT, *Trans. R. Ent. Soc. Lond.* **93**, 457 (1943).

² B. N. SMALLMAN and T. R. AITKEN, *Cereal Chem.* **21**, 499 (1944).

³ R. BERNARD and A. LEMONDE, *Rev. Canad. Biol.* **8**, 498 (1949).

⁴ D. W. KENT-JONES and A. J. AMOS, *Modern Cereal Chemistry* (Northern Publishing Co. Ltd., England 1957).

⁵ S. S. KRISHNA and K. N. SAXENA, *Physiol. Zool.* **35**, 66 (1962).

⁶ The authors are indebted to Prof. B. R. SESHACHAR for providing facilities for work and for making valuable suggestions in the preparation of this note.

The Suitability of Intracutaneous Infection in Guinea Pigs Induced by Virulent Tubercle Bacilli for the Use in Chemotherapeutic Trials

Intracutaneous infection of guinea pigs has been favoured by LESTER¹, RICHMOND and CUMMINGS², JENSEN et al.³ and, more recently, by BURACZEWSKA et al.⁴ for differentiation of various mycobacteria. Still more recently, this method was employed by DADDI⁵ in chemotherapeutic trials and it was reported to be suitable also for this purpose. It is the aim of this paper to present our own results with intracutaneous infection in guinea

pigs and an experience with a model chemotherapeutic trial.

¹ V. LESTER, *Acta Tuberc. Scand.* **13**, 251 (1939).

² L. RICHMOND and M. CUMMINGS, *Amer. Rev. Tuberc.* **62**, 632 (1950).

³ K. A. JENSEN, P. COLETOS, G. DADDI, E. FREERKSEN, and N. RIST, *Bull. Union int. Tuberc.* **24**, 81 (1954).

⁴ M. BURACZEWSKA, M. JANOWIEC, and B. TUSZYNSKA, *Gruzlica (Poland)* **23**, 195 (1960).

⁵ G. DADDI, *Isoxyl, a New Chemotherapeutic Agent* (Continental Pharma, Brussels 1961).