

das Phenol-Wasser-Verfahren⁶ gewonnenen Antigene konnten wir in allen Fällen mit Cetavlon⁷ herbeiführen. Cetavlon bildet bekanntlich mit Nucleinsäuren und sauren Polysacchariden in Wasser unlösliche Salze.

Aus den Cetavlon-salzen haben wir nach dem Abtrennen der Nucleinsäure saure Heteropolysaccharide isoliert und deren Bausteine chromatographisch und mit Hilfe spezifischer Farbreaktionen ermittelt. Als saure Komponente fungiert in den meisten Fällen Glucuronsäure, seltener Galacturonsäure. Die Polysaccharide enthalten ausserdem mindestens 2, maximal 4 weitere Bausteine. Glucose und Galactose sind am häufigsten, dann folgen Mannose, Rhamnose und Fucose. Oft sind mehrere Polysaccharide qualitativ aus den gleichen Bausteinen zusammengesetzt. So kommen in den 9 Klebsiella-Typen K12, 18, 19, 23, 36, 41, 45, 55 und 70 die gleichen Hauptbestandteile Glucuronsäure, Galactose, Glucose und Rhamnose vor. Da serologische Kreuzreaktionen unter diesen Stämmen nur zwischen K12 und K41 beobachtet wurden⁸, dürfte die serologische Spezifität dieser Antigene auf strukturellen Unterschieden beruhen. – In der Agargelpräzipitation reagieren die sauren Polysaccharide nur mit homologen Antiseren, während mit K-heterologen Seren, abgesehen von den bekannten Kreuzreaktionen, keine Präzipitationslinien gebildet werden. Die sauren Polysaccharide sind demnach die K-Antigene der Klebsiellen. Die bereits beschriebenen extrazellulären sauren Polysaccharide von Klebsiellen^{9,10} sind nach unseren Untersuchungsergebnissen als Träger der K-Spezifität anzusehen.

Die O-Antigene, die wir aus den Überständen der Cetavlonfällungen durch Ultrazentrifugation⁶ erhielten, haben demgegenüber eine ganz andere Zusammensetzung. Es handelt sich hierbei um Lipopolysaccharide, die offenbar nach einem ähnlichen, wenn nicht gleichen Prinzip aufgebaut sind wie z.B. die O-Antigene der Salmonellen¹¹. Wir stellten fest, dass die Lipopolysaccharide aller Klebsiella-Typen einer jeweiligen O-Gruppe die gleichen Zuckerbausteine enthalten. In allen untersuchten Klebsiella-O-Antigenen konnten wir 2-Keto-3-desoxyoctonsäure (KDO), Heptose und Glucosamin nachweisen, wobei wir nicht unterschieden haben zwischen lipoidalem und polysaccharidischem Glucosamin. Dazu kommen als weitere Bestandteile der untersuchten 9 O-Gruppen: Galactose, Glucose, Mannose, Ribose, Rhamnose und eine noch unbekannte Komponente. Bemerkenswert erscheint im Vergleich zur Zusammensetzung der O-Antigene anderer Enterobacteriaceen der relativ hohe Gehalt an Galactose

(ca. 30–45%) in den Klebsiella-O-Gruppen 1, 2, 6, 8 und 9, während Glucose generell nur sehr wenig gefunden wurde. Ob sich hieraus Konsequenzen allgemeinerer Art ergeben hinsichtlich der zur Diskussion stehenden gemeinsamen Polysaccharid-Basalstruktur¹¹ aller Enterobacteriaceen – eine eventuelle direkte Bindung von Galactose an die Heptosephosphat-Grundkette, wie sie für Klebsiella aerogenes A3 bereits vorgeschlagen wurde¹² – bleibt weiteren Untersuchungen, insbesondere der Isolierung und Analyse von Partialhydrolyseprodukten vorbehalten. – In der Agargelpräzipitation und der indirekten Hämagglutination zeigten alle hergestellten O-Antigene gegenüber K-heterologen gruppengleichen Antiseren übereinstimmendes serologisches Verhalten.

Somit besteht zwischen der serologischen Zuordnung der Klebsiellen und der chemischen Zusammensetzung ihrer Antigene ein enger Zusammenhang¹³.

Summary. The capsular (K) and somatic (O) antigens of 72 Klebsiella-type strains were isolated and investigated with respect to their chemical composition and their serological behaviour. The K antigens were found to be acidic heteropolysaccharides carrying serological K specificity. The O antigens are lipopolysaccharides which are O group-specific.

W. NIMMICH und W. MÜNTER

Mikrobiologisch-Immunologische Abteilung des Instituts für Medizinische Mikrobiologie und Epidemiologie der Universität, Rostock (DDR), 8. Mai 1967.

⁶ O. WESTPHAL und K. JANN, *Meth. Carbohydr. Chem.* 5, 83 (1965).

⁷ A. S. JONES, *Biochim. biophys. Acta* 10, 607 (1953).

⁸ P. R. EDWARDS und W. H. EWING, in *Identification of Enterobacteriaceae* (Burgess Publ. Comp., Minneapolis 1955), p. 164.

⁹ W. F. DUDMAN und J. F. WILKINSON, *Biochem. J.* 62, 289 (1956).

¹⁰ S. A. BARKER, A. B. FOSTER, S. J. PIRT, I. R. SIDDIQUI und M. STACEY, *Nature* 181, 999 (1958).

¹¹ O. LUDERITZ, A. M. STAUB und O. WESTPHAL, *Bact. Rev.* 30, 192 (1966).

¹² I. W. SUTHERLAND und F. J. WILKINSON, *Biochim. biophys. Acta* 117, 261 (1966).

¹³ Wir danken Frau Dr. I. ØRSKOV, Statens Seruminstitut Kopenhagen, für die Überlassung der Typenstämmen und Herrn Dr. KLEIST, Institut für Physiologische Chemie der Universität Rostock, für die Durchführung der Ultrazentrifugationen.

Age-Dependent Changes of Acid Mucopolysaccharide Excretion Patterns in Human Urine

Earlier investigations in children^{1,2} established the decrease with advancing age of urinary acid mucopolysaccharide (AMP) excretion/U of creatinine. No studies have been reported as yet showing the age dependent changes of AMP excretion patterns, although several reports have appeared concerning the different AMP contents at various ages^{3–5} of human cartilage and arterial vessels.

Materials and methods. 24 h urines were collected without preservatives from 37 healthy persons of different ages: 7 infants, 7 small children, 7 preadolescents (stage 1–2 according to TANNER⁶), 7 adolescents (stage 5) and 9

adults. The urine specimens were kept deep frozen until processing. The fractionation of AMP was achieved by the following procedure: dialysis of the total 24 h-urine against normal saline → precipitation with cetyltrimethylammonium bromide → washing of the precipitate with

¹ N. DI FERRANTE and C. RICH, *J. Lab. clin. Med.* 48, 491 (1956).

² W. M. TELLER, E. C. BURKE, J. W. ROSEVEAR and B. F. MCKENZIE, *J. Lab. clin. Med.* 59, 95 (1962).

³ M. B. MATHEWS and S. GLAGOV, *J. clin. Invest.* 45, 1103 (1966).

⁴ D. KAPLAN and K. MEYER, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 105, 78 (1960).

⁵ E. BUDDECKE, *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.* 318, 33 (1960).

⁶ J. M. TANNER, *Wachstum und Reifung des Menschen* (Thieme Verlag, Stuttgart 1962).

95% ethanol → column chromatography on Dowex 1 × 2 → colorimetric determination of hexuronic acid (carbazole) and/or neutral sugar (anthrone) contents of each fraction. The different peaks were pooled and their values expressed in percentages of total carbazole material eluted from the column. Details of the method employed have been reported elsewhere⁷.

Results and conclusions. The Table gives the results of AMP fractionations in urines of normal children of different ages and adults. Two changes of AMP patterns seem to be age dependent: with increasing age, the percentage of carbazole positive material in the heparitin sulphate (HS) fraction decreases, while the carbazole positive material in the chondroitin sulphate B (CSB)

fraction increases. These changes are significant at the level of $p < 0.01$ between group I (infants) and group V (adults). The percentages of carbazole positive material in the chondroitin sulphate A (and/or C) (CSA) fraction remains almost the same throughout life.

During the first 4 decades of life, the proportions of keratosulphate in human cartilage increase to a level of about 55% of total AMP, while the contents of chondroitin sulphate C (CSC) decline slightly (MATHEWS and GLAGOV⁸). In human aorta the total AMP contents increase during life on account of rising CSB and HS deposition. Hyaluronic acid (HA) and CSC decline during the same period (KAPLAN and MEYER⁴; BUDDECKE⁶).

Skin of pig embryos contains less CSB and more HA than skin from adult animals. In the latter LOEWI and MEYER⁸ found a sixfold increase of CSB and a decrease of HA from 78% in embryonic to 30% in adult pig skin.

Our findings of an age dependent decrease of HS excretion in urine cannot be correlated with the reported changes of AMP patterns in various tissues; however there may be some as yet unknown connection between the increasing urinary CSB excretion and the rising deposition of CSB in skin as age advances^{9,10}.

Zusammenfassung. Die sauren Mucopolysaccharide im Harn von 37 Normalpersonen verschiedenen Alters (Säuglinge bis Erwachsene) wurden säulenchromatographisch fraktioniert und einzeln bestimmt.

W. TELLER and CH. KRÜGER

Department of Pediatrics, University of Marburg (Germany), 8th May 1967.

⁷ W. TELLER and A. ZIEMANN, *Klin. Wschr.* 44, 1142 (1966).

⁸ G. LOEWI and K. MEYER, *Biochim. Biophys. Acta* 27, 453 (1958).

⁹ Note added in proof: Recently SPRANGER, TODT and WIEDEMANN reported similar results which were obtained by the same method (*Clinica chim. Acta* 17, 142 (1967)).

¹⁰ This study was supported by a grant from the Deutsche Forschungsgemeinschaft, Bad Godesberg.

Fractionation of acid mucopolysaccharides in urine of normal individuals

Groups of healthy persons	Age (years)	Carbazole positive material eluted from Dowex 1 × 2 column		
		HS-fr. ^a (%)	CSA-fr. ^b (%)	CSB fr. ^c (%)
I infants n = 7	1-2/12	40.7 ± 4.4	48.1 ± 5.1	11.3 ± 3.9
II small children n = 7	3-8	31.8 ± 7.0	57.5 ± 6.5	10.9 ± 2.7
III preadolescents n = 7	9-12	31.6 ± 7.1	57.7 ± 6.3	9.7 ± 2.3
IV adolescents n = 7	13-17	24.9 ± 3.8	58.9 ± 6.1	16.2 ± 3.6
V adults n = 9	22-64	28.2 ± 5.4	54.0 ± 4.3	19.1 ± 4.8

^a HS-fr. = heparitin sulphate-fraction; ^b CSA-fr. = chondroitin sulphate A-fraction (contains also chondroitin sulphate C); ^c CSB-fr. = chondroitin sulphate B-fraction.

The Effect of Steroid Treatment on Ovarian Dehydrogenases in the Rat. Histochemical Study

Ovarian dehydrogenases directly or indirectly related to steroid pathways have been histochemically investigated in the rat, in physiological and in numerous experimental conditions¹⁻¹¹.

In the present study ovarian 3β -hydroxysteroid dehydrogenase (3β -HSD), glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) and 20α -hydroxysteroid dehydrogenase (20α -HSD) of rats treated with progesterone and/or estradiol and with testosterone have been histochemically studied.

Eight groups, each of 5 Sprague-Dawley female rats weighing 200-250 g, were daily injected s.c. with the following steroids suspended in a standard medium: progesterone 1 mg (P_1) or 3 mg (P_3); testosterone 30 μ g (T_{30}) or 300 μ g (T_{300}); estradiol-benzoate 1 μ g (E_1) or 15 μ g (E_{15}); progesterone 3 mg + estradiol-benzoate 1 μ g ($P + E$). Controls received 0.2 ml daily of medium alone.

Vaginal smears were checked daily at 10.00 and the regularity of the estrus cycle was assessed for 15 days before the experiment. All treatments started at metestrus-diestrus phase. The animals were sacrificed by decapitation after 20 days of treatment.

Cryostatic sections of the ovaries were prepared as previously described¹¹ and were then incubated for the demonstration of the 3β -HSD⁴, G-6-PD¹² and 20α -HSD¹. For each group of animals the number of corpora lutea (C.L.) positive to the different reactions and the number of follicles with 3β -HSD activity in the granulosa cells were established and the amount of diformazan deposition in thecal and interstitial cells was scored in a blind study on a 0-2 plus scale.

In ovarian sections from control animals, intense 3β -HSD and G-6-PD occurred in the follicular thecal cells, in granulosa cells of maturing follicles, in the interstitial tissue and in all C.L. 20α -HSD activity was demonstrated exclusively in involuting C.L. In rats sacrificed at met-