

effects on the transferred cells. This problem was not encountered in the dexamethasone or stress procedures because these treatments were initiated *after* the thermal injury was established.

This demonstration that exogenous or endogenous steroids inhibited passive transfer of EAE is complemented by the previous report of enhancement of passive transfer by adrenalectomy¹⁹. The responsiveness of the fully immunized rat lymphoid cell to the steroid level in its environment is in accord with the inhibition of transfer of tuberculin hypersensitivity by cortisone in guinea-pigs²⁰. However, the same steroid in the same species did not inhibit transfer of contact sensitivity to 2,4-dinitrochlorobenzene²¹. It remains for future research to clarify this discrepancy and to determine whether steroids have a direct effect on the specifically immunized lymphoid cells or interfere with a non-specific host component in the passive transfer recipient.

Zusammenfassung. Injektionen des Antientzündungssteroids Dexamethasone oder eine Hypersekretion des

endogenen Kortikosteroids als eine Reaktion zum unspezifischen Stress verhindern die zelluläre passive Übertragung allergischer Enzephalomyelitis. Deshalb kann angenommen werden, dass Steroide die enzephalitogene Wirkung von vollkommen immunisierten Lymphoidzellen verhindern.

S. LEVINE and R. STREBEL

Pathology Department, New York Medical College, Center for Chronic Disease, Bird S. Coler Hospital, Welfare Island, New York (N.Y. 10017, USA), 27 August 1968.

¹⁹ S. LEVINE and E. J. WENK, *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 121, 301 (1966).

²⁰ M. M. CUMMINGS and P. C. HUDGINS, *J. Immun.* 69, 331 (1952).

²¹ P. M. SEEBOHM, M. M. TREMAINE and W. S. JETER, *J. Immun.* 73, 44 (1954).

Etude de l'activité anticomplémentaire du sérum décomplémenté de rats hypo-, normo- et hyperglycémiques

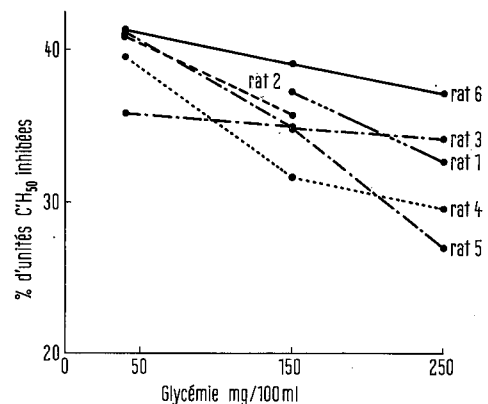
Les séra frais ou décomplémentés de plusieurs espèces animales¹⁻³, inclusivement le rat⁴, démontrent une activité anticomplémentaire. Dans le présent travail nous avons recherché, chez le rat une relation entre l'activité anticomplémentaire du sérum décomplémenté et l'état glycémique.

Méthodes. Un système hémolytique fut utilisé consistant de tampon veronal-saline au pH 7,5⁵; de complément lyophilisé de cobaye (Certified Blood Donor Service Inc.) reconstitué et dilué 1:400 et d'érythrocytes frais de mouton à 2,8% (Institut de Microbiologie, Université de Montréal) sensibilisés pendant 15 min à la température ambiante avec un volume égal de la dilution optimale d'hémolysine glycinée de lapin⁶ (Baltimore Biological Laboratory).

La titration du complément total fut faite par la méthode d'hémolyse à 50%⁶. Le pourcentage d'hémolyse fut déterminé au photocolorimètre (Klett-Summerson, 500-570 nm), après incubation de 30 min à 37°C d'un volume total de 2 ml, consistant de 0,4 ml d'érythrocytes sensibilisés et de 1,6 ml de différentes dilutions de complément dans le tampon. Les dilutions du complément furent obtenues en ajoutant des volumes de complément dilué 1:400 et du tampon en quantité inversement proportionnelle dans le volume total de 1,6 ml. Le titre du complément fut exprimé en unités C_H₅₀/ml du sérum de cobaye non dilué.

L'activité anticomplémentaire des séra de rats fut exprimée par le pourcentage d'inhibition de l'hémolyse à 50%. Le sérum fut préalablement décomplémenté en l'incubant à 56°C pendant 20 min et dilué 1:8 avec le tampon. Un volume constant de 0,4 ml de ce sérum fut substitué pour une partie du tampon dans 1,6 ml des différentes dilutions du complément. A ceci fut ajouté 0,4 ml d'érythrocytes sensibilisés. Le tout fut incubé et le degré d'hémolyse fut estimé comme auparavant. La différence entre les titres du complément de cobaye en absence et en présence du sérum de rat représentait

l'activité anticomplémentaire de ce sérum. Cette différence fut exprimée en pourcentage du titre du complément en absence du sérum de rat auquel on allouait la valeur de 100%.



Activité anticomplémentaire du sérum décomplémenté, en fonction de la glycémie chez 6 rats individuels. L'activité anticomplémentaire des séra décomplémentés diminue régulièrement en allant de l'état hypo à l'état hyperglycémique chez les rats étudiés.

¹ L. H. FROMMHAGEN et H. FUDENBERG, *J. Immun.* 89, 336 (1962).

² V. BECH, *Acta path. microbiol. scand.* 49, 107 (1960).

³ CH. L. CHRISTIAN, *J. Immun.* 84, 112 (1960).

⁴ CH. E. RICE et C. N. CROWSON, *J. Immun.* 65, 201 (1950).

⁵ E. A. KABAT et M. M. MAYEU, *Experimental Immunochimistry* 2nd edn (Charles C. Thomas, Springfield, Ill. 1964).

⁶ *Standardized Diagnostic Complement Fixation Method and Adaptation to Micro Test* (Public Health Monograph No. 74; U.S. Department of Health, Education and Welfare; Public Health Service).

Relation entre l'activité anticomplémentaire du sérum décomplémenté et les états glycémiques chez le rat

		No. de rats examinés	Poids corporel g (\bar{x})	Glycémie mg/100 ml (\bar{x})	Unités C'H ₅₀ inhibées % ($\bar{x} \pm$ S.E.)	P
Groupe I	hypoglycémique	5	287	40	$39,80 \pm 1,015$	GI:GII; $P < 0,01$ GI:GIII; $P < 0,01$
Groupe II	normoglycémique	6	327	150	$35,65 \pm 0,421$	GII:GIII; $P < 0,1$
Groupe III	hyperglycémique	5	318	250+	$32,14 \pm 1,682$	

Six rats mâles, Wistar, pesant 225–400 g furent soumis au cours de 3 semaines, consécutivement aux états hypo, normo et hyperglycémique. 4 ml de sang furent soutirés à la jugulaire, sous anesthésie à l'éther, une fois par semaine. Le sérum fut séparé et immédiatement mis en expérience. L'état hyperglycémique fut produit par l'injection de 8 mmoles de glucose/100 g de p.c. par voie s.c., 1 h avant la prise de sang. L'état hypoglycémique fut obtenu par un jeûne de 18 h suivi d'une injection de 1 μ /100 g de p.c. par voie s.c. d'insuline Zn (Connaught, 'Insulin Toronto') 1 h avant la prise de sang. La glycémie fut déterminée par le test du Dextrostix (Ames Co.).

Les moyennes, les erreurs standard et les valeurs P furent déterminées selon les méthodes usuelles⁷ pour chacun des 3 états glycémiques.

Résultats et discussion. Le sérum décomplémenté de rat inhibe l'hémolyse des érythrocytes de mouton en présence d'anticorps spécifiques, et du complément de cobaye. L'effet inhibiteur persiste jusqu'à une dilution du sérum de rat allant de 1:16 à 1:32. Au cours des expériences présentes la dilution de 1:8 fut employée.

L'état glycémique du rat détermine le degré d'activité anticomplémentaire dans le sérum décomplémenté. Le sérum provenant de rats hypoglycémiques démontre une activité anticomplémentaire plus forte que le sérum de rats normo ou hyperglycémique ($P < 0,01$). Le sérum de rat hyperglycémique démontre l'activité anticomplémentaire la plus faible (Tableau).

La relation inverse entre le degré d'activité anticomplémentaire des séra décomplémentés et le niveau de la glycémie s'observait chez tous les rats étudiés (Figure).

Une plus forte augmentation d'activité anticomplémentaire a lieu en allant de l'état normo à l'état hypoglycémique, qu'en allant de l'état hyper à l'état normoglycémique (Tableau).

Summary. The anticomplementary activity of decomplicated rat serum was determined using a technique of inhibition of guinea-pig complement in a 50% hemolysis system. The anticomplementary activity of the serum varies inversely to the glycemic state of the rats, being highest in the serum from hypo, and lowest in that of hyperglycemic animals.

V. W. ADAMKIEWICZ et I. M. JANKOWSKA

Département de Microbiologie et d'Immunologie,
Faculté de Médecine, Université de Montréal (Canada),
28 octobre 1968.

⁷ R. A. FISHER et F. YATES, *Statistical Tables for Biological Agricultural and Medical Researchers* 2nd edn (Oliver, London 1943).

Gewinnung präzipitierender Insulin-Antikörper von der Ziege, *Caper domesticus*

Die immunogene Eigenschaft des Insulins wurde durch die gelungene Erzeugung von Antiseren gegen verschiedene artspezifische Insuline bei einer Reihe von Tierarten unter Beweis gestellt^{1,2}, wobei jedoch nur selten präzipitierende Insulin-Antikörper auffindbar waren^{3–6}, so dass deren Existenz noch immer angezweifelt wird⁷.

Im Zusammenhang mit Untersuchungen zur Ätiopathogenese des Diabetes mellitus arbeiten wir an der chemischen und biologischen Charakterisierung von Insulin-Antikörpern (IAK), wozu sich die Bereitstellung grösserer Mengen präzipitierender IAK (PIAK) erforderlich macht. Wir versuchten deshalb, nachdem es uns auch gelungen war, PIAK gegen Rinderinsulin am Meeresschweinchen zu erzeugen, entsprechende Immunisierungen an der Ziege vorzunehmen.

Dazu gaben wir männlichen Ziegen (*Caper domesticus*, 20–30 kg) zehnfach rekristallisiertes Rinderinsulin (VEB

Berlin-Chemie) in komplettem Freundschens Adjuvans⁸. Die Injektionen wurden insgesamt viermal in Abständen von jeweils 4 Wochen verabreicht; die oft sehr protrahiert auftretenden hypoglykämischen Reaktionen beherrschten wir durch Glukosegaben (per os bzw. i.v.). 3 Wochen nach der letzten Insulinapplikation erfolgte die Entblutung durch Herzpunktion mit rascher Gewinnung des Serums, das bei -20°C zur Lagerung kam.

Während der Immunisierungsperiode fanden wiederholte Überprüfungen des IAK-Titers im Serum mittels des Agargel-Präzipitationstests nach OUCHTERLONY⁹ statt (Agargel 1,2%, Insulin bzw. Serum in Veronalpuffer pH 8,6).

Aus dem Ziegen-Antiinsulinserum (vorgeschlagener Terminus: GAIS = goat anti-insulin-serum) wurde das Immunglobulin nach der von Voss¹⁰ für die Gewinnung von γ -Globulinen aus Kaninchenimmenserum beschrie-