III. Aus dem Institut für medizinische Diagnostik in Berlin.

Ueber den Nachweis von pflanzlichem Eiweiss auf biologischem Wege.

Von Dr. Alb. Kowarski.

Die Untersuchungen von Tschistowitsch, Bordet, Meyers, Uhlenhuth, Wassermann und Schütze u. a. haben bewiesen, dass durch Einverleibung von verschiedenen Eiweisslösungen thierischen Ursprungs in Versuchsthiere Sera erhalten werden, welche in den zur Vorbehandlung dieser Thiere benutzten Lösungen Niederschläge erzeugen. Diese sogenannte biologische Reaktion wurde von Wassermann und Uhlenhuth speziell für forensische Untersuchungen zum Nachweis von Menschenblut empfohlen, da Kaninchen, welche mit Menschenblut vorbehandelt sind, Sera liefern, welche in einer klaren Menschenblutlösung, aber nicht in anderen Blutarten Niederschläge hervorrufen. Mertens und Zülzer bewiesen, dass auch mit eiweisshaltigem Harn behandelte Kaninchen Sera liefern, welche in einer klaren Menschenblutlösung einen Niederschlag bilden. Dadurch wurde bestätigt, dass das Harneiweiss dem Blute entstammt.

Da die obengenannten Autoren nur mit Eiweisskörpern animalischer Herkunft (Blut, Eiweiss, Milch etc.) experimentirten, so schien es von Interesse, um den allgemeinen gesetzmässigen Charakter dieser Reaktion des thierischen Organismus zu bestätigen, nachzuprüfen, ob derselbe sich gegen pflanzliche Eiweisskörper in gleicher Weise verhält. Es war die Annahme eventuell nicht von der Hand zu weisen, dass ein Pflanzenfresser bei Einverleibung von Pflanzeneiweiss vielleicht keine spezifischen Antikörper bilden würde, weil dasselbe auf seinen Organismus eine nicht so starke Wirkung ausüben dürfte, wie die für ihn mehr fremdartigen thierischen Eiweisskörper.

Zur Immunisirung der Thiere benutzte ich eine aus Weizenmehl gewonnene Lösung, welche folgender Weise vorbereitet wurde: 50 g feinzermahlenen Weizenmehls wurden in einem Becherglase mit 150 ccm einer physiologischen Kochsalzlösung mittels eines Glasstabes gut durchgemischt und eine halbe Stunde stehen gelassen. Die Flüssigkeit wurde dann vom Bodensatz abgehoben und filtrirt, das Filtrat auf einem Wasserbade bis zum Gerinnen des aufgelösten Albumins erhitzt. Nach dem Erkalten wurde die Flüssigkeit einige Male durch einen Doppelfilter filtrirt, bis das Filtrat vollkommen klar abfloss. Die auf diese Weise gewonnene Flüssigkeit war eine Albumosenlösung, welche sämtliche für Albumosen charakteristischen Reaktionen zeigte (sie gab eine scharfe Biuretreaktion; mit Sulfosalicylsäure sowie Salpetersäure bildete sich eine starke Trübung, welche beim Erwärmen verschwand; die Albumosen wurden durch Ammonsulfat ausgefällt). Ihr Gehalt an Albumosen betrug ca. 0,5 %. Diese

Albumosenlösung wurde Kaninchen in die Ohrvene eingespritzt. Bei jeder Einpitzung wurden 8—10 ccm der Lösung benutzt. Nach den ersten Einspritzungen nahmen die Thiere merklich an Gewicht ab, aber nach 4—5 Einspritzungen blieb das Gewicht fast constant, und die Injektionen konnten jeden 3. Tag vorgenommen werden. Die Albumosenlösungen wurden zu jeder Injektion frisch bereitet. Die Immunisirung nahm 6—8 Wochen in Anspruch.

Die Thiere wurden dann geblutet, ihr Serum gemischt. Das Blutserum nun zeigte auf Zusatz der oben beschriebenen Albumosenlösung eine ziemlich starke Trübung, welche beim Stehen¹⁾ oder Centrifugiren einen weisslichen, kleinflockigen Niederschlag bildete. Die Trübung entstand immer sofort nach dem Zusammenbringen beider Flüssigkeiten. Die Reaktion trat viel deutlicher auf, wenn man die klare Albumosenlösung in geringer Menge zu einem grösseren Quantum Serum zufügte. Bei zahlreichen Controllversuchen mit normalem Kaninchenserum blieb die Flüssigkeit immer klar.

Der bei dieser biologischen Reaktion gewonnene Niederschlag wurde zur chemischen Untersuchung mit Alkohol und Aether ausgewaschen und in einer mit Natronlauge schwach alkalisirten 1%igen Kochsalzlösung aufgelöst. Die Lösung zeigte eine deutliche Biuretreaktion und alle anderen charakteristischen Albumosenreaktionen. Nachdem so bewiesen war, dass auch pflanzliche Eiweissarten eine Bildung von Antikörpern hervorrufen können, schien es interessant, nachzuprüfen, inwiefern diese Reaktion für Weizenalbumose spezifisch ist und wie sich das erhaltene Serum gegen Albumosen aus anderen Getreidearten verhält.

Die Prüfung wurde mit Roggen, Gerste, Hafer und Erbsen ausgeführt. Da aber das käufliche Mehl Mischungen verschiedener Getreidearten darstellen konnte, so wurden die entsprechenden Getreide aus einer Samenhandlung bezogen und im Laboratorium zermahlen. Die Roggen- und Gersten-Lösungen gaben ein deutlich positives Resultat, obwohl die Trübung viel geringer war, als mit Weizenmehl. Mit Hafer ist es nicht gelungen, ein positives Resultat zu erhalten. Die Erbsenlösung gab eine sehr schwach ausgesprochene Trübung. Es ist zu bemerken, dass bei der Beurtheilung der Resultate nur auf solche Trübungen und Niederschläge Werth zu legen ist, welche sofort oder einige Minuten nach der Mischung entstehen. Die Niederschläge, welche sich nach mehrstündigem Stehen in Thermostaten bilden, sind, wie wir uns oft überzeugen konnten, meist bakterieller Natur, da es bei der Vorbereitung der Lösungen sehr schwierig ist, vollkommen steril zu verfahren.

Bei diesen Untersuchungen konnte ich mich auch überzeugen, dass die biologische Eiweissreaktion, wie es schon Uhlenhuth u. a. angegeben haben, sehr empfindlich ist und deutlich positive Resultate bei starken Verdünnungen giebt.

Die hier mitgetheilten Thatsachen legen wohl die Vermuthung nahe, dass die pflanzlichen Eiweisskörper wahrscheinlich nicht so verschiedenartig sind, wie die animalischen.

Zum Schluss erlaube ich mir, Herrn Professor Dr. Kolle für die Anregung zu diesen Untersuchungen meinen besten Dank auszusprechen.