

CHEMISCH WEEKBLAD

ORGAAN VAN DE NEDERLANDSCHE CHEMISCHE VEREENIGING EN VAN
DE VEREENIGING VAN DE NEDERLANDSCHE CHEMISCHE INDUSTRIE

Hoofdredacteur: Dr. W. P. JORISSEN, Leiden, Zoeterwoudsche Singel 18
(part. adres: Hooge Rijndijk 15, telefoon 1449, postrekening 3569).

Redactie-Commissie: Dr. A. Bloemen, Dr. C. A. Lobry de Bruyn, Dr. G. C. A. van Dorp
Dr. Ir. J. A. M. van Liempt en Dr. J. W. Terwen (secretaris).

N.V. D. B. CENTEN's Uitgevers-Maatschappij, Amsterdam C., O.Z. Voorburgwal 115, telefoon 48695,
postrekening 39514.

INHOUD: Mededeelingen van het Secretariaat der Nederlandsche Chemische Vereeniging. — Contributie 1937. — Sectie voor Kolloidchemie. — Aangeboden betrekkingen. — Dr. A. Tasman, Over het bepalen, reinigen en concentreren van antige-
nen en antistoffen. — Boekaankondigingen. — Chemische kringen. — Personalie, enz. — Ter bespreking ontvangen boeken. — Correspondentie, enz. — Gevraagde betrekkingen. — Vraag en aanbod. — Ir. H. D. Steenberghe, Ingezonden. — Economische berichten.

**MEDEDEELINGEN VAN HET SECRETARIAAT DER
NEDERLANDSCHE CHEMISCHE VEREENIGING**
(Willem Witsenplein 6, 's-Gravenhage, telefoon 774520,
postrekening 7680).

Nieuwe leden.

De in het Chemisch Weekblad van 23 Januari 1937 onder 104-106 genoemde candidaat-leden zijn thans aangenomen als gewone of buitengewone leden.

Candidaat-leden:

- 136: Levi (Prof. G. R.), Milano (It.), Viale Romagna 37, prof. a. h. Instituto di Chimica Generale; voorgesteld door Dr. C. A. Lobry de Bruyn te Amsterdam en Dr. T. van der Linden, den Haag.
- 137: 's-Gravesande (Mej. J. S. M. L.), chem. cand., Leiden, Witte Singel 99; voorgesteld door drs. J. M. Stevels te Leiden en drs. E. J. Arlman, den Haag.
- 138: Polak (drs. J. J.), Amsterdam-C., Prinsengracht 11031; voorgesteld door Mej. Dr. E. Dingemanse en Dr. H. G. K. Westenbrink, beiden te Amsterdam
- 139: Page (Mr. B. S.), M. A., Librarian Armstrong College, Newcastle upon Tyne; voorgesteld door Dr. C. A. Lobry de Bruyn te Amsterdam en Dr. T. van der Linden, den Haag.

Veranderingen aan te brengen in de ledenlijst 1936.

- Blz. 32: Burg (Ir. J. van der), den Haag, Corn. Houtmanstraat 29.
- " 33: Cats (Ir. A.), Leeuwarden, Harlingerstraatweg 64 b.
- " 64: Monchy (Dr. M. M. de), Oss (N. Br.), Floraliestraat 53.
- " 66: Noyons (Dr. E. C.), Eindhoven, Guido Gezellestraat 44.
- " 82: Tilman (Dr. G.), Amsterdam-Z., Jac. Obrechtstraat 69.
- " 87: Wagendonk (drs. W. J. van), Utrecht Merwedekade 121, ass. org. chemie R. U.
- " 91: Zaaljer (Mej. Ir. M.), Doorn, Sparrenlaan 37.

Adresveranderingen, enz. van (candidaat-)leden, wier namen nog niet in de ledenlijst zijn opgenomen.

- Blz. 58: Lehr (drs. J. J.), Wageningen, Hamelakkerlaan 24.
- " 68: Overweg (Ing. J. W.), Zürich, Zw., Nelkenstrasse 7.
- " 86: Vos (A. S.), chem. stud., Delft, Spoorsingel 2 A.

* * *

De Secretaris is iederen Maandagmiddag van 1.30 tot 3 uur aan bovenstaand adres te spreken. Het Bureau is in den regel geopend iederen werkdag van 9-12 en van 1.30 tot 4.30 uur, des Woensdags en des Zaterdags van 9-12 uur.

Dr. T. VAN DER LINDEN,
den Haag, telefoon 117941.
(na 6 u. n.m.)

Contributie 1937.

De aandacht wordt gevestigd op art. 5 van het Huishoudelijk Reglement, waarin is vastgelegd, dat de jaarlijksche contributies invorderbaar zijn van 1 Januari af.

Aan gewone leden in Nederland, Ned. Oost- en West-Indië, die geen reductie op de contributie genieten, aan buitengewone en aan huisgenoot-leden wordt daarom verzocht, het door ieder verschuldigde bedrag (resp. f 15.—, f 10.— en f 5.— zonder Recueil, f 21.—, f 14.— en f 11.— met Recueil), zoo spoedig mogelijk te voldoen door overschrijving op postrekening 7680 der Ned. Chem. Ver. te 's-Gravenhage.

De penningmeester doet een ernstig beroep op de leden, in het belang der Vereeniging te willen medewerken aan een vlotte inning van de verschuldigde contributies.

Sectie voor Kolloidchemie.

Symposium over hydrophobe kolloïden.

Het ligt in de bedoeling van de Sectie voor kolloidchemie der Ned. Chem. Vereeniging om op 5 en 6 November 1937 een symposium te organiseren met als onderwerp:

Dynamica der hydrophobe suspensies en emulsies.

Hier zullen besproken worden de vraagstukken, welke een inzicht verschaffen in de stabiliteitsvoorwaarden der genoemde systemen en zal dus tevens het mechanisme der vlokking en der dispergeering worden behandeld.

Dank zij de gastvrijheid van Prof. Dr. H. R. Kruyt kan dit symposium te Utrecht in het van 't Hoff-Laboratorium plaats vinden.

Verscheidene sprekers hebben hun medewerking reeds toegezegd. Binnenkort zullen nadere gegevens bekend worden gemaakt.

De Secretaris,

R. HOUWINK,
Uiverlaan 7, Eindhoven.

Aangeboden betrekkingen, werk, subsidies, enz. **)

Handelszaak zoekt voor de oprichting eener fabriek een Dr. in de scheikunde of scheik. ing. als technisch mede-directeur. Zie verder de adv. in No. 11.

* * *

Research-instelling op toegepast-chemisch terrein (in Z.-H.) zoekt een scheikundig ingenieur of doctor i. d. chemie als secretaris. Naast chemische kennis, uitnemende kennis van talen en organisatorisch talent vereischt. Zie verder de adv. in No. 11.

Gevraagde betrekkingen.

Zie blz. 243.

**) Men raadplege ook steeds de advertenties.

615.37

OVER HET BEPALEN, REINIGEN EN
CONCENTREEREN VAN ANTIGENEN
EN ANTISTOFFEN,

door
A. TASMAN.

Inleiding.

Indien men een mensch of dier een „soortvreemde” (niet tot de eigen soort behorende) stof inspuit, zal dit organisme deze soortvreemde stof, welke vaak een nadeeligen invloed op het desbetreffende organisme uitoefent, onschadelijk trachten te maken. Dit geschiedt in de eerste plaats door afbraak, resp. uitscheiding van deze stof. Daarnaast treedt in vele gevallen de vorming van z.g. *antistoffen* op, welke in hun physiologische werking op de een of andere wijze tegengesteld zijn aan de eerstgenoemde stoffen, die, op grond van hun vermogen om antistoffen op te kunnen wekken, met den naam *antigenen* aangeduid worden.

Als *antigeen* kunnen zeer verschillende stoffen fungeren. Zoowel suspensies van bacteriën (de z.g. „vaccins”¹⁾), roode bloedlichaampjes van mensch of dier, als zeer in het algemeen allerlei eiwitoplossingen, hebben het vermogen om, eenmaal in het dierlijk organisme gebracht, daar antistoffen op te wekken.

Betreffende aard en werking van antigenen en antistoffen is nog betrekkelijk weinig bekend. Vast staan echter de volgende feiten²⁾:

1. Antigenen zijn in ieder geval colloïdale stoffen. Zij zijn of zelf eiwitten, of op de een of andere wijze aan eiwitten gebonden. Enkele uitzonderingen op dezen regel zullen later behandeld worden.

2. De antigene werking, d.w.z. de opwekking van antistoffen treedt, behoudens enkele uitzonderingen, alleen dan op, wanneer het antigeen niet via het maag-darmkanaal, doch parenteraal door inspuiting in of onder de huid, in de spieren, in de buikholte of direct (intraveneus) in de bloedbaan gebracht wordt.

3. Het lichaam reageert op een bepaalden antigeenprikkel op nog vrijwel onbekende wijze door de vorming van *specifieke* antilichamen. D.w.z. dat deze antistoffen, zoowel in het lichaam als daarbuiten (waarover later meer) in hoofdzaak slechts met het bijbehorende antigeen in reactie treden. Betreffende het vraagstuk van deze *serologische specificiteit* zie o.a. van Veen³⁾ en Landsteiner⁴⁾.

4. Indien men een individu (mensch of dier) het een of ander antigeen inspuit, noemt men deze

¹⁾ De naam „vaccin” stamt uit den tijd van Jenner, die de enting tegen de pokken toepaste. Sindsdien noemt men in het algemeen alle stoffen, die voorbehoedend bij den mensch of het dier ingespoten worden, met het doel dezen door de productie van antistoffen tegen latere infecties te beschermen, „vaccins”. Meer in het bijzonder slaat dit op suspensies van gedoode bacteriën (bijv. typhus-vaccin).

²⁾ Zie voor meer bijzonderheden, speciaal de chemische zijde van dit vraagstuk belichtende, o.a. H. G. Wells, *The Chemical Aspects of Immunity*, 2nd Ed., Chem. Catal. Comp., New York, 1929; C. H. Brown, *Immunochemical Studies*, Constable and Co., London, 1925 en J. R. Marrack, *The Chemistry of Antigens and Antibodies*, H. M. Stat. Office, London, 1934.

³⁾ A. G. van Veen, *Chem. Weekblad* 31, 567 (1934).

⁴⁾ K. Landsteiner, *Die Spezifität der serologischen Reaktionen*; Springer, Berlin, 1933.

bewerking *immuniseeren*. Het resultaat van deze immunisatie uit zich bij het betreffende organisme in het optreden van een *immunitet*, m.a.w. het individu is in meerdere of mindere mate *immuun* t.o.v. het bij de immunisatie gebruikte antigeen. Deze immunitet is tweeledig en bestaat uit een *humorale* en een *cellulaire* immunitet. Onder de eerste verstaat men het vrij in de bloedbaan circuleren van de door den antigeenprikkel opgewekte antistoffen. Indien, men een op bepaalde wijze geïmmuniseerden mensch of dier bloed afneemt en dit bloed laat stollen, zijn in de zich boven de samengetrokken bloedkoek afscheidende bloedwei (*serum*), de specifieke antistoffen op verschillende wijze aantoonbaar.

Onder *cellulaire immunitet* verstaat men het verschijnsel, dat bepaalde lichaamscellen van een geïmmuniseerd individu geruimen tijd na de immunisatie, zelfs indien in het serum geen antistoffen meer aan te toonen zijn, in een zoodanigen toestand verkeerden, dat één enkele antigeenprikkel (bijv. in den vorm van een prophylactische vaccininspuiting of een besmetting met virulente ziektekiemen) een overvloedige antistofproductie tengevolge heeft (waarbij de binnengedrongen ziektekiemen ook nog op andere wijze onschadelijk gemaakt kunnen worden).

Indien men vloeibare voedingsbodems van bepaalde samenstelling (bijv. vleeschbouillon) ent met een cultuur van diphtherie- of tetanusbacteriën, scheiden zich gedurende den groei van deze micro-organismen bepaalde gifstoffen af, die als zoodanig *toxinen* genoemd worden. Zoo kent men, naast vele andere diphtherie- en tetanustoxine. Deze gifstoffen zijn met de bouillon, waarin zij gevormd zijn, door filtratie van de bacteriën te scheiden en blijken eveneens antigene eigenschappen te bezitten. Immuniseert men bijv. een paard met langzaam stijgende doses van genoemde toxinen, dan blijkt er in het lichaam van dit dier een vorming van de specifieke antistoffen op te treden, die daarom den naam *antitoxinen* hebben gekregen. Men spreekt dus van *diphtherie-toxine* en *-antitoxine*, resp. *tetanustoxine* en *-antitoxine*.

Zooals bekend verondersteld mag worden, worden voorbehoedende entingen tegen diverse ziekten op ruime schaal toegepast. Als voorbeeld mogen genoemd worden de enting tegen typhus, cholera, pokken, pest (vaccin-Ott en) en diphtherie. De enting tegen diphtherie wordt in hoofdzaak uitgevoerd met het zoogen. diphtherie-*anatoxine*. Dit is een product, dat bereid wordt uit diphtherie-toxine, door deze vloeistof met 0.4 % formol gedurende 4—5 weken bij 39° te bewaren. Als gevolg hiervan gaan de giftige eigenschappen van het diphtherie-toxine geheel verloren, terwijl de antigeenfunctie voor het allergrootste deel behouden blijft. Dit product kan dus zonder bezwaar voor de enting van kinderen toegepast worden⁵⁾.

In al deze gevallen worden gezonde personen met een bepaald vaccin geïmmuniseerd om hen immuun of onvatbaar voor de corresponderende ziekte te maken. Deze immunitetstoestand is dus een *actieve*, zelf verkregene. Het organisme heeft *zelf* de antistoffen ge-

⁵⁾ De naam „anatoxine” stamt van Ramon. Glenny beweert echter reeds veel eerder een dergelijk product gevonden te hebben en spreekt van „toxoid”. De naam „toxoid” wordt algemeen gebruikt voor die stof (of stoffen), welke op de een of andere wijze uit toxine ontstaan en hiermede physiologisch alleen verschillen wat de giftigheid betreft. Ieder toxine (bijv. diphtherie- of tetanustoxine) gaat op den duur voor een meer of minder groot gedeelte in toxoid over.

vormd, die dus, gebonden aan de *soorteigen* lichaams-eiwitten, langen tijd blijven bestaan en derhalve, tezamen met de reeds eerder genoemde cellulair-immuniteit geruimen tijd bescherming tegen infectie verleen. Daar gewoonlijk echter meer antigeen-injecties met zekere tijdsintervallen gegeven moeten worden, duurt het vaak een zekeren tijd, vóórdat een voldoende actieve immuniteit verkregen is. In sommige gevallen is het echter niet mogelijk, zolang te wachten. Indien een patiënt diphtherie heeft of zoodanige verwondingen heeft opgelopen, dat men een infectie met tetanusbacillen moet veronderstellen, kan men niet wachten totdat de patiënt zichzelf actief van antistoffen voorzien heeft, doch moet hem onmiddellijk een groote hoeveelheid antistof, in dit geval antitoxine, toegediend worden.

Men spuit hem nu z.g. *diphtherie-* of *tetanusserum* in. Dit is serum, gewonnen van paarden, schapen of runderen, welke van te voren in hooge mate tegen de desbetreffende ziekten geïmmuniseerd zijn en dus groote hoeveelheden antistoffen in hun bloed bevatten. Ook ter onmiddellijke bescherming van „contactpersonen” (bijv. kinderen in een gezin, waarvan een der leden lijdt aan diphtherie) past men deze werkwijze toe. In dit laatste geval spuit men dus het voorbehoedende antitoxine in, gebonden aan soortvreemd eiwit (paard of schaap). De verkregen *passieve* immuniteit is derhalve een kortdurende en moet zoo mogelijk t.z.t. door een actieve vervangen worden.

Antigenen en antistoffen kunnen buiten het lichaam, dus *in vitro* op verschillende manieren met elkander in reactie treden. Bij het uitvoeren van deze reacties maakt men in de eerste plaats gebruik van het principe van de reeds eerder genoemde specificiteit. D.w.z. ook buiten het lichaam reageert een bepaald antigeen in meerdere of mindere mate, meestal zelfs uitsluitend met het specifieke antilichaam. Deze reactie kan op verschillende wijzen tot uiting komen.

1. De schadelijke werking voor een proefdier van een bepaald antigeen (bijv. diphtherietoxine t.o.v. *caviae*) wordt uitsluitend door het specifieke antiserum (antitoxisch diphtherieserum) onwerkzaam gemaakt. Deze reactie vindt dus bijv. niet plaats, indien men het diphtherietoxine vóór de inspuiting in plaats van met diphtherieserum, met tetanusserum mengt en omgekeerd.

2. Indien men een suspensie van bepaalde bacteriën samenbrengt met het serum van een tegen deze bacterie geïmmuniseerd dier, worden deze bacteriën *geagglutineerd*, d.w.z. samengeklonterd.

Men kan het desbetreffende serum vaak sterk verdunnen (bijv. 1000 maal), zonder dat aan de duidelijkheid van de reactie afbreuk wordt gedaan, m.a.w. er is vaak slechts zéér weinig antistofhoudend serum noodig om de reactie uit te voeren.

3. De meeste opgeloste antigenen vertoonen, met het bijbehorende antiserum in bepaalde verhoudingen samengebracht, een zoogen. *precipitatie-reactie*. Hierbij scheidt zich een complex van antigeen en antistof, tezamen met eiwitten uit één of beide componenten afkomstig, als vlokken uit het oorspronkelijk heldere mengsel af.

4. Indien men bijv. een konijn immuniseert met schapenbloedlichaampjes (erythrocyten), heeft het

serum van dit konijn de eigenschap om deze schapenbloedlichaampjes, in samenwerking met een bepaalde stof, welke zich o.a. in versch serum bevindt en *complement* genoemd wordt, op te lossen, waardoor de roode bloedkleurstof vrij komt (*haemolyse*). Op deze in wezen tamelijk ingewikkelde reactie, waarbij ook het verschijnsel der complementbinding een rol speelt, zal hier niet verder ingegaan worden.

Uit het bovenstaande blijkt voldoende, welk een enorm praktisch belang er verbonden is aan de groote verscheidenheid der antigeen-antistofreacties. Het behoeft geen nader betoog, dat bijv. voor de toepassing van antitoxische sera (bijv. diphtherie- en tetanusserum) een *juiste kennis van hun gehalte aan antitoxine* ten zeerste gewenscht is. Ook voor tal van diagnostische onderzoeken ter bepaling van den aard van een of ander infectieproces is een dergelijke kennis der antigeen- en antistofconcentraties in de gebruikte reagentia onmisbaar.

Doch ook uit zuiver wetenschappelijk oogpunt bekeken, verdient een dergelijke beschouwingswijze ten volle de aandacht. Indien men bijv. een mengsel van kippen- en paardeneiwit heeft, is langs chemischen weg een kwantitatieve bepaling van deze twee eiwitten, zool niet onuitvoerbaar, dan toch in ieder geval buitengewoon ingewikkeld. Zooals uit het vervolg blijken zal, bezit men in de boven aangeduide serologische reacties een betrekkelijk eenvoudig hulpmiddel om dit vraagstuk op te lossen.

Tenslotte zal het duidelijk zijn, dat ook de *reiniging en concentratie van de diverse antigenen en antistoffen*, zeer belangrijk is. Practisch beschouwd komt het hierop neer, dat men van deze gezuiverde en geconcentreerde producten den patiënten vaak geringere (volume-) hoeveelheden hoeft in te spuiten, met als gevolg een in geringere mate optreden van allerlei min of meer onaangename bijverschijnselen. Doch vooral theoretisch zijn hier groote belangen mee gemeid. Het spreekt wel vanzelf, dat men ter bestudering van de nog in zoovele opzichten duistere reacties der antigenen met hun specifieke antistoffen, trachten moet deze producten in zoo zuiver mogelijken vorm af te scheiden. In hoeverre (resp. hoe weinig) men hierin nog geslaagd is, zal uit het vervolg blijken.

Gezien den grooten omvang van het aangeduide gebied, is het niet mogelijk om bij de behandeling van deze vraagstukken in een tijdschriftartikel, naar volledigheid te streven. Veelmeer zal getracht worden aan de hand van verschillende voorbeelden die, hetzij practisch, hetzij theoretisch op den voorgrond treden, het wezen van enkele dezer reacties en processen duidelijk te maken.

Hoewel zeker niet van practisch, zoowel als theoretisch belang ontbloot, zullen terwille van deze noodzakelijke beperkingen, op enkele uitzonderingen na, alle verschijnselen, welke met *bacterieele antigenen* samenhangen (agglutinatie, bacteriolysis, bepaling van het „antigeenspectrum” van diverse bacteriegroepen en -stammen enz.) achterwege gelaten worden.

Bepaling van antigeen- en antistofconcentraties.

a. *Diphtherietoxine, -antitoxine en -anatoxine*. In 1884 ontdekte Loeffler den diphtheriebacil, enkele jaren later publiceerden Roux en Yersin hun ontdekking van het diphtherietoxine en in 1890 konden Behring en Kitasato mededeeling doen

van hun geslaagde pogingen om diphtherie-antitoxine te bereiden, door paarden op zeer voorzichtige wijze met het diphtherietoxine (aanvankelijk onder toevoeging van joodtrichloride) te immuniseeren. In den beginne waren de resultaten van de toepassing van antitoxine weinig bemoedigend. Pas toen men over betere immunisatiemethoden en dienovereenkomstig hoogwaardiger antitoxische sera beschikte, ging de letanteit der diphtheriepatiënten aanzienlijk acnteruit. Dat de door Paul Ehrlich ingevoerde standaardisatie en titratiemethoden hierbij een belangrijke rol gespeeld hebben, behoeft geen nader betoog.

Oorspronkelijk ging Ehrlich uit van een onder gunstige voorwaarden bewaard diphtherietoxine en bepaalde hiervan de *Dosis letalis minima* (D.l.m.) d.i. de kleinste hoeveelheid toxine welke, met zoutsolutie tot een volume van 4 cm³ aangevuld, bij een cavia van 250 gram subcutaan ingespoten, dit dier juist in 4 dagen doodt. Vanzelfsprekend moet men een groot aantal caviae gebruiken om de individuele verschillen in gevoeligheid uit te drukken. Prigge⁶⁾ toonde aan, dat bij gebruik van door *inteeft* verkregen diermateriaal de individuele verschillen in gevoeligheid zeer sterk verminderen. Ten opzichte van een eenmaal door zijn D.l.m.-waarde gestandaardiseerd toxine, vergeleek Ehrlich nu verschillende antitoxische sera. Als *antitoxine-eenheid* nam Ehrlich aan die hoeveelheid antitoxine, welke de giftige werking van 100 D.l.m. toxine juist neutraliseerde. Kort daarna bleek hem echter, dat, in vacuum gedroogd en in geëvacueerde ampullen bewaard, diphtherieserum zich veel langer onveranderd laat bewaren dan op overeenkomstige wijze behandeld toxine. Tegenwoordig gebruikt men dan ook als uitgangstandaard („oertiterstof”) een z.g. *standaardserum*, dat in gedroogden vorm in geëvacueerde ampullen bewaard wordt. Van een dergelijk serum wordt een bepaalde hoeveelheid in 60 %-ige glycerine opgelost, zoodanig, dat, indien men 1 cm³ van deze oplossing met zoutsolutie tot 10 cm³ verdunt, deze laatste verdunning per cm³ 1 *Internationale Antitoxine Eenheid* (A.E.) bevat. Dergelijke preparaten worden o.a. door het Staats Serum Instituut te Frankfort a.Main en de hygiënische commissie van den Volkenbond afgeleverd.

Men kan nu voor de eigenlijke titraties op twee verschillende manieren te werk gaan⁷⁾. Van een bepaald diphtherietoxine (dat reeds geruimen tijd in de ijskast bwaard moet zijn geworden, zoodat er praktisch geen veranderingen meer in plaats grijpen) kan men of de *L₀* (*Limes-Nul*)- of de *L₊* (*Limes-dood*)-waarde bepalen.

Onder eerstgenoemde grootheid vestaat men die hoeveelheid toxine, welke met 1 A.E. in 4 cm³ totaal volume samengebracht en bij een cavia van 250 gram onderhuids ingespoten, bij dit dier in 4 dagen geenerlei diphtherische verschijnselen teweeg brengt. De tweede grootheid geeft aan die hoeveelheid toxine, welke op overeenkomstige wijze gemend met 1 A.E., na subcutane inspuiting een cavia juist in vier dagen doodt. In de praktijk is de *L₀*-eenheid volledig ver-

laten en maakt men bij titraties uitsluitend gebruik van de *L₊*-dosis.

Heeft men nu eenmaal een bepaald diphtherietoxine t.o.v. een geijkt standaardserum ingesteld, dan kan men, met dit toxine als basis sera van onbekende sterkte titreeren. Men bepaalt dan die serumverduunning, welke zich t.o.v. genoemd toxine als 1 A.E. gedraagt en kan alsdan op eenvoudige wijze het aantal A.E. per cm³ berekenen. Dat bij deze titraties steeds de noodige contrôles t.o.v. het geijkte standaardserum verricht moeten worden, spreekt vanzelf. Ter illustratie diene, dat van een goed toxine de D.l.m. ongeveer 0.001 cm³, de *L₊*-dosis ongeveer 0.115 cm³ en de antitoxiniters van de door het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid uitgegeven twee series antitoxisch diphtherieserum (van paarden afkomstig) resp. 300 en 600 A.E. per cm³ bedragen.

Hoewel deze methode in de handen van een nauwkeurig werker steeds goede en betrouwbare resultaten oplevert, kleeft haar als grootste bezwaar aan de betrekkelijke kostbaarheid. Het spreekt toch vanzelf, dat men voor nauwkeurige titraties van vele dieren gebruik moet maken, die na een eenmalige behandeling, ook al overleven zij de proef (bijv. als de titer van het te titreeren serum te laag geschat is), voor een volgende bepaling onbruikbaar geworden zijn. Overleven zij n.l. de vergiftiging met diphtherietoxine (al of niet gemengd met antitoxisch serum), dan zijn zij dusdanig immuun geworden, dat ze niet meer als „versche” caviae gelden kunnen. Een ander bezwaar bestaat in het feit, dat men minstens vier dagen wachten moet, alvorens het resultaat van een bepaalde titratieproef met zekerheid afgelezen kan worden.

Glenny en Llewelyn-Jones⁸⁾ werkten een *intracutane* titratiemethode uit, welke in principe op het bovenstaande berust, met dit verschil, dat de doses der reagerende bestanddeelen veel kleiner genomen worden. Als „antitoxine-eenheid” dient hier een hoeveelheid serum, overeenkomende met 1/500 A.E., welke zich, gemengd met een bepaalde hoeveelheid toxine, in 0.2 cm³ bevindt. Men bepaalt nu van het voor de latere titraties te gebruiken toxine de z.g. *minimale reactiedosis* (M.R.D.), d.i. de kleinste hoeveelheid toxine, welke met 1/500 A.E. in 0.2 cm³ gemengd en in de huid van een geschoren cavia gespoten, daar nog juist een duidelijke roodheid veroorzaakt. Is deze M.R.D. eenmaal bepaald, dan kan met dit toxine weer een reeks onbekende sera getitreerd worden. Het groote voordeel van deze methode is gelegen in het feit, dat men één cavia vele van dergelijke intracutane injecties tegelijk toe kan dienen en derhalve een enorme besparing van diermateriaal bereikt. Een bijkomstig voordeel is de bekorting van den observatietijd van vier tot twee dagen. Door anderen (bijv. Jensen⁹⁾) is deze methode voor het gebruik op konijnen uitgewerkt.

Voor seriewerk leveren deze methoden echter, vooral uit hoofde hunner kostbaarheid, groote bezwaren op. De in 1923 door Ramon¹⁰⁾ gevonden *quantitative uitvlokreactie* is dan ook als een groote vooruitgang te beschouwen. Deze reactie komt op het volgende neer. Indien men een reeks kleine reageerbuizen vult met een bepaalde hoeveelheid (bijv. 5 cm³

⁶⁾ R. Prigge, Z. Hyg. Infektionskrankh. 119, 186 (1937).

⁷⁾ Arbeiten aus dem Staatsinstitut für experimentelle Therapie und dem Georg Speyer-Hause zu Frankfurt a.M., Heft 31: R. Otto und H. Hetsch, Die Prüfung und Wertbemessung der Sera und Impfstoffe u.s.w.; Jena, Gustav Fischer, 1935.

⁸⁾ A. T. Glenny en M. Llewelyn-Jones, J. Path. Bact. 34, 143 (1931).

⁹⁾ C. Jensen, Compt. rend. soc. biol. 108, 337 (1931).

¹⁰⁾ G. Ramon, Ann. inst. Pasteur 21, 1001 (1923).

in alle buizen) van eenzelfde toxine en aan deze buizen opklimmende hoeveelheden (bijv. 0.10—0.12—0.14—0.16—0.18—0.20—0.22 cm³) van een bepaald diphtherieserum toevoegt, zal men na eenigen tijd in één der buizen een lichte uitvlokking op zien treden. Deze vlokking beperkt zich echter niet tot één buis. Eenigen tijd (afhankelijk van de gebruikte reagentia) nadat men de eerste („initiale”) vlokking waargenomen heeft, zal men in de buisjes onmiddellijk rechts en links van het eerste buisje eveneens een dergelijke vlokking op zien treden, enz. De vlokking breidt zich dus over de geheele reeks (tenminste als die niet te groot genomen wordt) naar links en rechts van het primair vlokkende buisje uit. Het komt echter aan op de waarneming van deze initiale vlokking. Centrifugeert men n.l., nadat het mengsel van diphtherietoxine en anti-toxine in dit buisje volledig uitgevlokt is, deze vlokken van de bovenstaande vloeistof af, dan blijkt deze laatste noch toxine, noch antitoxine te bevatten, m.a.w. de beide bestanddeelen antigeen en antistof hebben elkaar juist geneutraliseerd. Onderzoekt men op overeenkomstige wijze de andere buisjes van de geheele uitgevlokte reeks, dan blijken de bovenstaande vloeistoffen niet neutraal te zijn. De buisjes rechts in bovengenoemde reeks blijken, op deze wijze onderzocht, een (naar rechts toenemende) overmaat antitoxine te bevatten, terwijl de bovenstaande vloeistoffen in de „linker”-buisjes een (naar links toenemend) toxine-overschot vertoonen.

Kent men nu de antitoxinetiter van het gebruikte serum (door middel van een dierproef bepaald) dan kan men met behulp van een uitvlokkproef de antigeenconcentratie (zie verder onder) van het gebruikte toxine bepalen. Nemen we bijv. aan, dat in onze reeks het vierde buisje de initiale vlokking vertoonde en het gebruikte serum 500 A.E. per cm³ bevatte. De in het „initiale buisje” aanwezige hoeveelheid serum bevatte dus $\frac{16}{100} \times 500 = 80$ A.E. De in het buisje eveneens aanwezige hoeveelheid diphtherietoxine moet dus een zoodanige hoeveelheid antigeen bevatten, dat deze juist 80 A.E. binden kan. Deze antigeenhoeveelheid stellen we nu gelijk aan 80 Antigeen Eenheden. Daar deze 80 eenheden zich in 5 cm³ bevonden, bevatte het gebruikte toxine dus per cm³ 16 antigeeneenheden of, zooals men het gewoonlijk uitdrukt, het toxine heeft een „antigenwaarde” (A.W.) = 16. Het is nu zonder meer duidelijk, dat, indien men eenmaal een bepaald toxine t.o.v. een nauwkeurig getitreerd serum „uitgevlokt” heeft, d.w.z. deszelfs A.W. bepaald heeft, men met dit toxine op zeer eenvoudige wijze een groote reeks sera met onbekende antitoxinetiters titreren kan. Aanvankelijk voerde men de reactie bij kamertemperatuur uit, tegenwoordig plaatst men de proefbuisjes gewoonlijk in een waterbad van 50° C, waardoor de uitvloktijden enorm bekort worden. Met behulp van deze reactie is het bijv. mogelijk, om het resultaat van een bepaalde immunisatie, welke men een paard laat ondergaan, stap voor stap te volgen. Men hoeft dan dit dier op elk gewenscht moment slechts een kleine hoeveelheid bloed af te nemen en kan van het zich na stolling afscheidende serum op eenvoudige en snelle wijze de antitoxinetiter bepalen; een onderzoek dat, met dierproeven uitgevoerd, enorme kosten met zich mee zou brengen. Bovendien is het resultaat van een dergelijke „in-vitro”-titratie onmiddellijk bekend, wat vaak van zeer groot practisch belang is.

Omgekeerd kan men met een bepaald serum, waarvan de titer bekend is, van een zeer groot aantal toxinemonsters de A.W. bepalen. Dit vindt bijv. toepassing bij de bereiding in 't groot van diphtherietoxine. Men kan hierbij dus op eenvoudige, weinig kostbare wijze den inhoud van alle afzonderlijke cultuurkolven op hun A.W. onderzoeken en de „slechte” (lage A.W.) van de „goede” scheiden.

Doch deze uitvlokkreactie bezit nog een ander groot voordeel. In de inleiding is reeds een en ander medegedeeld over het z.g. *Diphtherieanatoxine*, een product afkomstig van diphtherietoxine, dat de antigeene (d.w.z. antistof-opwekkende) werking behouden heeft, doch de giftige werking van het toxine mist. Dit product wordt hier te lande en elders (speciaal in Frankrijk en Denemarken) op zeer ruime schaal voor de immunisatie van kinderen tegen diphtherie gebruikt. Omtrent de reacties, welke bij den overgang van toxine tot toxoid een rol spelen, tast men nog vrijwel in het duister (zie o.a. Hewitt¹¹), Bunney¹²), Veluz¹³), Gubareff en Bystrenin¹⁴), Schmidt¹⁵), Levaditi, Loiseau, Païc, Philippe en Haber¹⁶), Eisler en Gottdenker¹⁷)).

Het spreekt vanzelf, dat men getracht heeft van het voor de entingen te gebruiken anatoxine een zekere immunisatiewaarde vast te stellen. Nu blijkt een uit diphtherietoxine verkregen anatoxine op geheel overeenkomstige wijze met antitoxisch serum te vlokken als met het uitgangspunt (toxine) het geval was. Men kan dus op dezelfde manier, als voor de titratie van diphtherietoxine beschreven is, van diverse anatoxinemonsters de A.W. bepalen.

Hierbij moet echter nadrukkelijk op het volgende gewezen worden. Datgene, waar het bij de toepassing van een bepaald anatoxine voor de immunisatie op aankomt, de *immuniseerende waarde*, is een eigenschap, welke zich slechts *in vivo*, in het lichaam van het behandelde individu, (mensch of proefdier) openbaart. Principieel is deze eigenschap *niet* door een proef *in vitro* te bepalen. Betreffende dit vraagstuk heeft zich in de literatuur een markante tegenstelling ontwikkeld tusschen de Franche school (Ramon en medewerkers) enerzijds en tal van onderzoekers anderzijds. Ramon houdt nog steeds vol, dat de immuniseerende waarde van een bepaald anatoxine quantitatief weergegeven wordt door de *in vitro* bepaalde A.W., terwijl bijv. Fischer¹⁸) de volgende stelling verdedigt: „...dass der Flockungswert nach Ramon keine Anhaltungspunkte für die Immunisierungswert der Formoltoxoiden (= anatoxine) geben kann... Als direkter Immunisierungswert soll im Folgenden stets die Verhältniszahl verstanden werden, die den Quotienten wiedergibt zwischen der Anzahl Tiere, die durch die Immunisierung gegen die Einverleibung einer bestimmten Anzahl D.l.m., nach einer bestimmten Zeitspanne geschützt sind und der Anzahl Tiere, die dieser

¹¹) L. F. Hewitt, Biochem. J. 24, 983 (1930).

¹²) W. E. Bunney, J. Immunol. 20, 47 (1931).

¹³) L. Veluz, Compt. rend. soc. biol. 111, 289 (1932).

¹⁴) E. Gubareff en A. Bystrenin, Biochem. Z. 255, 92 (1932).

¹⁵) S. Schmidt, Z. Immunitätsf. 78, 27 (1933).

¹⁶) C. Levaditi, G. Loiseau, M. Païc, M. Philippe en P. Haber, Compt. rend. soc. biol. 116, 609 (1934).

¹⁷) M. Eisler en F. Gottdenker, Wiener klin. Wochenschr. 50, 54 (1937).

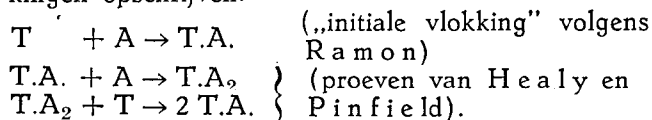
¹⁸) W. Fischer, Z. Immunitätsf. 74, 423 (1932).

Prüfung auf Immunität unterzogen werden". Dat o.a. de wijze van immuniseeren voor de totstandkoming van een bepaalde immuniteit een groote rol speelt, demonstreeren bijv. de proeven van Timmerman en Brandwijk¹⁹⁾. Zij vonden dat, indien men twee groepen caviae met resp. verdund en onverdund anatoxine inspoot, zoodanig, dat beide groepen per dier eenzelfde hoeveelheid „antigeneenheden" (d.w.z. door uitvlokking bepaald) ingespoten kregen, de met verdund anatoxine behandelde dieren een hooger graad van immuniteit bereikten dan de met onverdund anatoxine behandelde dieren.

In het algemeen gaat het echter wel op, dat een anatoxine met een hooge A.W. beter immuniseert dan een op overeenkomstige wijze toegediend anatoxine met een lage A.W. Voor een algemeene oriëntering heeft de bepaling van de A.W. dus praktisch zeker betekenis; uiteindelijk moet echter een immunisatieproef in vivo over de bruikbaarheid van een bepaald anatoxinepreparaat beslissen. Dergelijke proeven worden in het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid steeds verricht, voordat een bepaald anatoxine voor de immunisatie van kinderen afgegeven wordt.

Tenslotte zij nog medegedeeld, dat deze uitvlokreactie praktisch alleen mogelijk is met behulp van antitoxisch diphtherieserum van paarden afkomstig. Op analoge wijze van schapen gewonnen diphtherieserum vlokt weliswaar met diphtherietoxine, doch de uit de „initiale" vlokking berekende antitoxinetiter klopt niet met die, volgens de dierproef bepaald (Schmidt en Jensen²⁰⁾).

Over het eigenlijke mechanisme der uitvlokreactie is in den loop der jaren na haar ontdekking door Ramon een nog steeds toenemende literatuur verschenen. In de eerste plaats is uit tal van onderzoeken gebleken, dat de eigenlijke „vlokken" voor het allergrootste deel, zooal niet geheel, bestaan uit van het serum afkomstig globuline (Coppo²¹⁾). Men moet zich den gang van zaken ongeveer aldus voorstellen. Primair vormt zich een complex van het antigeen (toxine of anatoxine) met het specifieke antilichaam (antitoxine). Dit complex, voor te stellen door de formule T.A., adsorbeert serumglobuline in met den tijd toenemende mate, waardoor de combinatie antigeen-antistof tenslotte macroscopisch zichtbaar wordt. In het z.g. neutrale punt, de „initiale" vlokking, bestaan deze vlokken inderdaad uit één aequivalent toxine (of anatoxine) + één aequivalent antitoxine. Er zijn echter ook complexen bekend, die op één aequivalent toxine twee aequivalenten antitoxine bevatten (Healy en Pinfield²²⁾). Deze laatstgenoemde verbindingen, voor te stellen door het symbool T.A₂ gaan in tegenwoordigheid van een overmaat toxine weer in den vorm T.A. over. We kunnen voor een en ander dus de volgende vergelijkingen opschrijven:



¹⁹⁾ W. Aeg. Timmerman en A. C. Brandwijk, Leenwenhoek 3, 28 (1936); Brit. J. Exp. Path. 17, 252 (1936).

²⁰⁾ S. Schmidt en C. Jensen, Compt. rend. soc. biol. 108, 566 (1931).

²¹⁾ M. Coppo, Compt. rend. soc. biol. 119, 175 (1935).

²²⁾ M. Healy en S. Pinfield, Brit. J. Exp. Path. 16, 535 (1935).

Uitvoerig is ook nagegaan het verband tusschen den uitvloktijd van het T.A.-complex en de waterstof-ionenconcentratie (Ionescu, Damboviceaux²³⁾ en Schmidt²⁴⁾), de aanwezigheid van electrolyten (Schmidt²⁵⁾, Leulier, Sédallian en Clavel²⁶⁾), dehydrateerende stoffen (Freund²⁷⁾), de toevoeging van vreemde eiwitten (Bunney en Kiamil²⁸⁾). Verder verdient nog vermelding een, overigens weinig geslaagde poging van Moerch²⁹⁾ om het verband tusschen de verschillende grootheden, welke bij de uitvlokreactie een rol spelen, n.l. de antigeenwaarde (A.W.) van het gebruikte toxine of anatoxine, de antitoxinetiter van het serum en den uitvloktijd door één bepaalde formule weer te geven. De bedoelde formule, $K_t \cdot a^m = K$, waarin K_t = uitvloktijd; a = A.W. van het gebruikte toxine of anatoxine; m = constante, wisselend voor diverse toxinen en anatoxinen; K = constante, afhankelijk van de antitoxinetiter van het gebruikte serum, maar tevens voor ieder serum wisselend, legt tenslotte geenerlei praktisch bruikbaar verband tusschen de genoemde grootheden. Het spreekt ook wel vanzelf, dat een biologische reactie, waarvan het wezen nog zoo weinig doorgrond is, zich moeilijk voor een mathematische behandeling leent.

De praktische bruikbaarheid echter van de uitvlokreactie moge, behalve uit het boven reeds medegedeelde, o.a. blijken uit de onderstaande tabel, die de overeenkomst in antitoxinetiters van verschillende sera, volgens beide methoden bepaald, weergeeft (Schmidt³⁰⁾).

Serum nr.	Titer in A. E./cm ³ bepaald		Serum nr.	Titer in A. E./cm ³ bepaald	
	in vivo	in vitro		in vivo	in vitro
1	300	325	10	450	450
2	450	475	11	400	400
3	375	375	12	250	250
4	250	275	13	275	250
5	< 200	190	14	350	400
6	< 200	190	15	200	200
7	300	350	16	500	500
8	400	450	17	350	350
9	450	450	18	300	300

De vele honderden titraties, welke gedurende de jaren na Ramon's publicatie in het voormalige Rijks Serologisch Instituut en het Rijks Instituut voor de Volksgezondheid te Utrecht, op beide wijzen verricht zijn, geven een overeenkomstig resultaat te zien. Een enkele maal treedt een uitzondering op en worden de beide titers verschillend gevonden, doch deze gevallen zijn dermate zeldzaam, dat hieraan praktisch geen betekenis gehecht behoeft te worden. Van wetenschappelijk standpunt bezien, zijn deze „abnormale" sera echter de aandacht ten volle waard

²³⁾ C. Ionescu—Mihaesti en A. Damboviceaux, Compt. rend. soc. biol. 91, 504 (1924).

²⁴⁾ S. Schmidt, Compt. rend. soc. biol. 103, 624, 625 (1930).

²⁵⁾ S. Schmidt, Z. Immunitätsf. 66, 292 (1930).

²⁶⁾ A. Leulier, P. Sédallian en Mme Clavel, Compt. rend. soc. biol. 108, 80 (1931).

²⁷⁾ J. Freund, J. Immunol. 21, 127 (1931).

²⁸⁾ W. E. Bunney en M. Kiamil, J. Immunol. 20, 433 (1931).

²⁹⁾ J. R. Moerch, Compt. rend. soc. biol. 108, 545, 558, 562 (1931).

³⁰⁾ S. Schmidt, Compt. rend. soc. biol. 88, 105 (1923).

(zie Healy en Pinfield, loc. cit.). De uiteindelijke controle van de voor uitgifte bestemde sera geschiedt echter steeds met behulp van de dierproef.

b. *Tetanustoxine* en *Tetanusanitoxine*. De waardebepaling van deze producten geschiedt biologisch op witte muizen en caviae. Voor het *tetanustoxine* bepaalt men op overeenkomstige wijze als voor het diphtherietoxine beschreven is, de kleinste hoeveelheid, welke bijv. een witte muis van ca. 15 gram in vier dagen doodt. Een goed *tetanustoxine* heeft een D.I.m. = 0.00001 cm³. Voor de titratie van het antitoxische serum maakt men primair ook weer gebruik van een standaardserum, dat in opgelosten of gedroogden vorm afgeleverd wordt. De inhoud van een dergelijke ampul serum wordt weer zoodanig verdund, dat 1 cm³ van deze oplossing 1 Internationale Antitoxine Eenheid bevat. Hierop stelt men nu een gedroogd toxine in. Dit gedroogde toxine is door uitzouten van een vloeibaar bacteriefiltraat verkregen en later in vacuum boven P₂O₅ gedroogd en wordt in geëvacueerde ampullen bij lage temperatuur bewaard. Voor iedere bepaling wordt hiervan een zekere hoeveelheid in zoutsolutie opgelost. Heeft men eenmaal een toxine t.o.v. een standaardserum geijkt, dan kunnen hiermede weer tal van titraties van onbekende sera verricht worden, op ongeveer dezelfde wijze, als voor het diphtherieserum beschreven is. (Voor bijzonderheden zie eveneens Otto und Hetsch, loc. cit.)

Men heeft zich veel moeite gegeven om ook voor de combinatie *tetanustoxine*-*tetanuserum* een bruikbare uitvlokreactie te vinden. Hoewel van Fransche zijde beweerd wordt, dat men daar de voorwaarden voor een dergelijke, in de praktijk bruikbare reactie zou hebben gerealiseerd. (Ramon en Descombey³¹⁾), is men er hier te lande en elders niet in geslaagd een zoodanige proefopstelling te vinden, welke constante en voor praktisch gebruik voldoende nauwkeurige resultaten oplevert (Botenga³²⁾), alwaar vele literatuuropgaven te vinden zijn, en (Pondman³³⁾). Men is dus voor het *tetanustoxine* en antitoxine, jammer genoeg, nog uitsluitend op biologische ijkingsmethoden aangewezen.

c. *Mengsels van verschillende eiwitten*. Met behulp van de precipitatiereactie is het eveneens mogelijk, de concentratie van verschillende eiwitten naast elkaar te bepalen. In de inleiding is reeds gewezen op het feit, dat een der wijzen om buiten het lichaam van het proefdier de aanwezigheid van antigeen of antistof aan te toonen, bestaat in de z.g. *precipitatiereactie* (waartoe in wezen ook de Ramon-reactie behoort). Spuit men een proefdier, bijv. een konijn met geregelde tusschenpoozen kleine hoeveelheden menschen serum in, dan zal in het lichaam van dit dier de anti-stof tegen menscheiwit gevormd worden. Ontneemt men dit dier na zekeren tijd bloed, dan zal het hiervan afkomstige serum, in bepaalde verhoudingen met menschen serum samengebracht, een precipitatie vertoonen, d.w.z. er ontstaat een meer of minder volumineus neerslag. Aangezien deze reacties in

hooge mate specifiek zijn, hebben zij zoowel kwalitatief als quantitatief een ruime toepassing gevonden. Men denke slechts aan de toepassing op forensisch gebied ter bepaling van den aard van bijv. op kledingstukken gevonden bloedvlekken.

Indien deze bloedvlekken van een mensch afkomstig zijn, zal een oplossing hiervan (die slechts sporen van dit bloed behoeft te bevatten) alléén met het serum van tegen menscheiwit geïmmuniseerde konijnen een neerslag geven en geen precipitatie vertoonen met het serum van konijnen, die bijv. met runder-, varkens-, of paardeneiwit ingespoten zijn. Verder kan men op deze wijze de verwantschap van verschillende dieren aantonen, daar bijv. serum van tegen ratteneiwit geïmmuniseerde konijnen zoowel met ratten- als met muizenserum reageert. Zoo blijkt ook de verwantschap van den ezel met het paard enz.

Evenals bij de vlokkingreactie van Ramon het geval was, blijkt er ook bij deze reactie een bepaalde verhouding tuschen antigeen en antistof te bestaan, welke de optimale uitvlokking geeft. Indien men de beide reagentia in deze verhouding mengt, blijkt er in de bovenstaande vloeistof noch antigeen, noch antistof meer aantoonbaar te zijn. Tot zoover gaan dus beide reacties parallel. Bij de Ramon-reactie is het onverschillig of men de antigeenhoeveelheid in alle proefbuisjes constant neemt en hier opklimmende of afdalende hoeveelheden antiserum aan toevoegt of omgekeerd, aan gelijke hoeveelheden serum, wisselende toxine-hoeveelheden toevoegt. In beide gevallen treedt de initiale vlokking in het overeenkomstige buisje op.

Dit blijkt bij de nu nader te bespreken groep van precipitatiereacties niet het geval te zijn. Indien men bijv. paardenserum (als antigeen) titreert tegen paardenserum-precipiteerend-konijnenserum (als antistof), houdt men bij alle proeven de hoeveelheid antiserum constant en voegt hieraan dalende hoeveelheden antigeen toe (Dean en Webb³⁴⁾, Taylor, Adair en Adair³⁵⁾). Men bepaalt nu allereerst van het van verschillende proefdieren gewonnen precipiteerende serum de *antigeen-antiserum-verhouding*. Men voegt dus, om bij het boven gekozen voorbeeld te blijven, aan constante hoeveelheden verdund konijnenserum dalende hoeveelheden van een bepaalde paardenserumverdunding toe (met zoutsolutie het volume van alle reactiemengsels gelijk makende) en constateert vervolgens in welk buisje het eerst een precipitatie optreedt. Zoo heeft bijv. een bepaald, van een geïmmuniseerd konijn afkomstig serum een antigeen-antiserumverhouding gelijk aan 1:20, en serum van een ander, eveneens behandeld konijn een antigeen-antiserumverhouding gelijk aan 1:40. Anders uitgedrukt beteekent dit dus, dat in het eerste geval één deel paardenserum optimaal reageert met 20 deelen en in het andere geval met 40 deelen konijnenserum. Dit wil niet zeggen, dat in het tweede geval door een bepaalde hoeveelheid antigeen (paardenserum) tweemaal zooveel antistof (in het konijnenserum aanwezig) gebonden wordt. De hoeveelheden antistof, welke met éézelfde hoeveelheid antigeen reageeren, zijn in beide gevallen gelijk, zij bevinden

³¹⁾ G. Ramon en P. Descombey, Compt. rend. soc. biol. 95, 434 (1926).

³²⁾ S. J. P. Boenga, Actieve onvatbaarmaking tegen tetanus; Diss. Utrecht, 1931.

³³⁾ Niet gepubliceerde proeven van A. B. F. A. Pondman in het voormalige Rijks Serologisch Instituut te Utrecht.

³⁴⁾ H. R. Dean en R. A. Webb, J. Path. Bact. 29, 473 (1926).

³⁵⁾ G. L. Taylor, J. Hyg. 31, 56 (1931); 33, 12 (1933).

³⁶⁾ G. L. Taylor, G. S. Adair en M. E. Adair, J. Hyg. 34, 118 (1934); 35, 69, 169 (1935).

zich echter in verschillende hoeveelheden serum, afkomstig van behandelde konijnen. Een konijnenserum, dat t.o.v. paardenserum een titer 1 : 20 heeft, is dus 2 maal zoo sterk als een dito serum met een titer 1 : 40. Het eene dier produceert nu eenmaal meer antistof dan een soortgenoot, indien beide op dezelfde wijze geïmmuniseerd worden.

Heeft men nu eenmaal verschillende proefdieren (meestal worden hiervoor konijnen gebruikt, maar principieel leenen zich ook andere dieren voor dergelijke experimenten) met verschillende antigenen geïmmuniseerd en van de van deze dieren afkomstige sera de *antigeen-antiserumverhouding* bepaald, dan kunnen deze sera gebruikt worden om de concentratie van een of meerdere van deze antigenen in mengsels te bepalen. Als voorbeeld zij hier gekozen de bepaling van de concentratie van *gekristalliseerd ei-albumine in kippeneiwit*. Taylor, Adair en Adair³⁷⁾ immuniseerden een reeks konijnen met een 1 %-oplossing van genoemd antigeen en bepaalden nu de antigeen-antistofverhouding van de sera dezer dieren zoowel t.o.v. een 1 %-albumine-oplossing als t.o.v. versch. *onverdund* kippeneiwit. Het quotient van deze twee verhoudingen leverde dan de gevraagde concentratie van ei-albumine in kippeneiwit. Het protocol van een hunner proeven luidde als volgt:

Antiserum	Antigeen-antiserumverh. ten opzichte van :		% albumine in kippeneiwit
	kippeneiwit	1 % album. opl.	
1714 B	1 : 224	1 : 32	224/32 = 7.00
1716 B	1 : 189	1 : 24	189/24 = 7.87
1720 B	1 : 208	1 : 30	208/30 = 6.93
1722 B	1 : 345	1 : 48	345/48 = 7.19
1716 A	1 : 207	1 : 30	207/30 = 6.90
1722 B ₁	1 : 261	1 : 35	261/35 = 7.46
1717 A	1 : 441	1 : 61	441/61 = 7.23
1757 A	1 : 534	1 : 69	534/69 = 7.44

De gemiddelde waarde bedroeg 7.29 %.

Ter verduidelijking van de berekening der waarden in de vierde kolom diene de volgende redeneering. Voor serum 1714 B geldt:

1 deel kippeneiwit reageert optimaal met 224 deelen antiserum.
1 " antiserum " " " 1/224 " kippeneiwit.
1 " albumineopl. " " " 32 " antiserum.
1 " antiserum " " " 1/32 " albumineoploss.

1/224 deel kippeneiwit moet dus evenveel antigeen bevatten als 1/32 deel van een 1 %-oplossing van ei-albumine. 1 deel kippeneiwit bevat dus $224/32 \times 1\% = 7.00\%$ ei-albumine. Bij vergelijking van de gemiddelde waarde, 7.29 % met de resultaten van andere onderzoekers (op geheel andere wijze verkregen), blijkt een zeer goede overeenstemming.

Conc. van ei-albumine in versch kippeneiwit	Onderzoeker
6.0 %	Hopkins ³⁸⁾
8.5 %	Wu en Ling ³⁹⁾
7.29 %	Taylor, Adair en Adair

³⁷⁾ G. L. Taylor, G. S. Adair en M. E. Adair, J. Hyg. 32, 340 (1932).

³⁸⁾ F. G. Hopkins, J. Physiol. 25, 306 (1900).

³⁹⁾ H. Wu en S. M. Ling, Chinese J. Physiol. 1, 431 (1927).

Eenzelfde techniek werd door Taylor, Adair en Adair toegepast voor de bepaling van het globulinegehalte van normaal paardenserum, waarbij, in vergelijking met andere onderzoekers, eveneens goede resultaten verkregen werden.

Globuline concentratie in paardenserum	Onderzoeker
4.57 %	Hammersten ⁴⁰⁾
4.07 %	Gibson en Banzhaf ⁴¹⁾
4.46 %	Taylor, Adair en Adair

Tenslotte zij nog gewezen op een onderzoek van Taylor⁴²⁾, waarbij genoemde onderzoeker met de bovenbeschreven techniek aantoonde, dat de globuline-albumine-verhouding van paardenserum, afkomstig van tegen diphtherie geïmmuniseerde dieren, zich gedurende de immunisatie ten gunste van het globuline wijzigt.

Reiniging en concentratie van antistoffen.

De reiniging en concentratie van antistoffen heeft zoowel practisch als theoretisch groot belang, waarop reeds in de inleiding de aandacht gevestigd is. Daar de antistoffen steeds in levende dierlijke cellen gevormd worden⁴³⁾, komen zij dus ten allen tijde voor, gebonden aan, of in ieder geval gemengd met groote hoeveelheden eiwit. Reeds zeer kort na de ontdekking en toepassing der antitoxische sera heeft men getracht de antitoxinedragende eiwitfracties op de een of andere wijze van de begeleidende, onwerkzame eiwitten af te zonderen. Bij diverse uitzoutingsproeven bleek in het algemeen de antistofdragende eiwitfractie tot de globulinen te behooren (Ornstein⁴⁴⁾).

Een der eerste, langen tijd in gebruik gebleven methoden, afkomstig van Pinkus⁴⁵⁾, (Mac Conkey⁴⁶⁾, Verveen⁴⁷⁾), berustte op de uitzouting van de globulinen door watervrij natriumsulfaat, waarbij deze globulinen dan door middel van verzadiging met keukenzout in eu- en pseudoglobuline gescheiden werden. Tegenwoordig wordt vrijwel algemeen de methode van uitzouting met ammoniumsulfaat toegepast. In principe komt dit hierop neer, dat men eerst door een voorloopige proef nagaat, welke fractie relatief de grootste hoeveelheid antitoxine draagt (Moersch⁴⁸⁾, Mollie Barr⁴⁹⁾) en daarna de geheele hoeveelheid dienovereenkomstig uitzout. Het verkregen neerslag wordt afgefiltreerd, gedroogd en gedialyseerd t.o.v. stroomend leiding- of gedestilleerd water en tenslotte (voor therapeutisch gebruik) van een conserveermiddel voorzien. Dergelijke gezuiverde sera, die terecht liever „antitoxine-oplossingen” genoemd worden, hebben echter het bezwaar, dat zij na langdurig bewaren vaak een neer-

⁴⁰⁾ O. Hammersten, Arch. ges. Physiol. 17, 413 (1878).

⁴¹⁾ R. B. Gibson en E. J. Banzhaf, J. Exp. Med. 12, 411 (1910).

⁴²⁾ G. L. Taylor, J. Hyg. 35, 174 (1935).

⁴³⁾ Ook in weefselcultures is de vorming van antistoffen waargenomen.

⁴⁴⁾ O. Ornstein, Z. Immunitätsf. 57, 507 (1928).

⁴⁵⁾ S. N. Pinkus, J. Physiol. 27, 57 (1900).

⁴⁶⁾ A. T. Mac Conkey, J. Hyg. 22, 413 (1924).

⁴⁷⁾ A. N. Verveen, Onderzoekingen over serumzuivering. Diss. Utrecht, 1928.

⁴⁸⁾ J. R. Moersch, Compt. rend. soc. biol. 108, 549 (1931).

⁴⁹⁾ Mollie Barr, J. Path. Bact. 35, 913 (1932).

slag vertoonen. Door Tillmann, Gerlough en White⁵⁰) is een tamelijk ingewikkelde methode uitgewerkt, waardoor, ten koste van niet onbelangrijke verliezen, dit bezwaar ondervangen wordt. Verder verdient nog vermeld te worden, dat men soms aan de uitzouting met ammoniumsulfaat een electrodialyse vooraf laat gaan, waardoor de „euglobulinen” neerslaan (zie Verveen, loc. cit. en Eisler en Spiegel-Adolf⁵¹). Het resultaat van elk dezer werkwijzen is dus steeds een eiwithoudende antitoxine-oplossing, welke t.o.v. het uitgangsserum een zekere „reiniging” heeft ondergaan. D.w.z. de verhouding antitoxine/eiwit is t.o.v. het uitgangproduct (z.g. „natuurlijk” serum) gestegen. Bij de serumzuivering (uitzouten door middel van ammoniumsulfaat) welke in het R.I.V. op diphtherie- en tetanusserum toegepast wordt, wordt gewoonlijk een reinigingsfactor 1.5—1.8 verkregen. De eigenlijke concentratie is natuurlijk van secundair belang. Men heeft deze praktisch geheel in de hand door het eindvolume van de antitoxine-oplossing willekeurig te varieren.

Men houdt echter steeds een eiwitoplossing en het is tot op heden niet gelukt, om op de een of andere wijze antilichamen als zoodanig zuiver af te scheiden. Dat het daartoe aan pogingen niet ontbroken heeft, moge blijken uit de publicaties van Linderström-Lang en Schmidt⁵²), Wernicke en Modern⁵³), Turner⁵⁴), Tasman en Brandwyk⁵⁵), Hansen⁵⁶) en Velluz⁵⁷). Ten overvloede zij hier nog een uitspraak van Marrack (loc. cit.) aangehaald: „In some cases a fraction may be obtained which contains a small proportion of the antibody in a state of considerably greater purity; always however it contains abundant protein The more recent work on these lines, therefore, does not indicate that antibodies can be separated from proteins.”

Bij de bepaling van de antitoxinetiter van de gezuiverde diphtheriesera, van paarden afkomstig stuit men vaak op de moeilijkheid, dat hiervoor de zoo gemakkelijke uitvlokreactie van Ramon onbruikbaar blijkt te zijn. Het mengsel van toxine en antitoxine (gezuiverd serum) vlokt in het geheel niet. Dit blijkt zijn oorzaak te vinden in het feit, dat bij deze zuivering de euglobulinen voor het allergrootste deel verwijderd worden (Stodel en Bourdin⁵⁸). Zonder nu nader in te gaan op de vraag in hoeverre een onderscheiding in „eu-” en „pseudoglobuline” in het algemeen gewettigd is, kan volstaan worden met de mededeeling, dat genoemd bezwaar opgeheven wordt, indien men aan het gezuiverde serum euglobuline toevoegt. Dit kan geschieden door dit gezuiverde serum

te mengen met z.g. „normaalserum” (afkomstig van paarden, in wier serum geen antitoxine aantoonbaar is) of ongezuiverd diphtherieserum van bekende antitoxinetiter. Uit de via de vlokingsreactie bepaalde titer van het mengsel, kan men dan op eenvoudige wijze het antitoxinegehalte van het gezuiverde product berekenen en een dierproef is dan tenslotte alleen nog maar ter controle noodig. Voor de bepaling van de antitoxineconcentratie van andere gezuiverde sera (schapendiphtherieserum, tetanusserum enz.) is steeds een meer of minder uitgebreide dierproef onontbeerlijk.

Tenslotte mag hier niet onvermeld blijven de bereiding van het z.g. *Felton-serum*, dat bij de behandeling van ernstige pneumoniepatiënten in de laatste jaren in Amerika op den voorgrond getreden is. Door type-specifiek serum (d.i. antiserum van paarden afkomstig, welke met bepaalde typen van pneumococcen geïmmuniseerd zijn) afwisselend met alcohol, gedestilleerd water en verdunde zuren te behandelen, slaagden Felton en medewerkers⁵⁹) er in om genoemd serum zeer vergaand te zuiveren, zoodat de betreffende antistoffen in zeer geconcentreerden en relatief zuiveren vorm therapeutische toepassing konden vinden (zie o.a. Pondman⁶⁰). Overigens schijnt Felton zijn methode nog niet definitief vastgelegd te hebben. Een bezwaar van deze techniek is echter de kostbaarheid, omdat van groote hoeveelheden uitgangsmateriaal gebruik gemaakt moet worden, daar de verliezen bij dit zuiveringsproces groot zijn.

Reiniging en concentratie van antigenen.

Op het groote praktische en theoretische belang van de verkrijging van gezuiverde en geconcentreerde antigenen is reeds in de inleiding gewezen. Om verwarring te voorkomen, zij hier nogmaals vermeld, dat als antigenen uitsluitend die stoffen beschouwd worden, welke parenteraal in het dierlijk organisme gebracht, daar de vorming van specifieke antistoffen veroorzaken. Al die stoffen, welke wel in vitro met antistoffen op meer of minder specifieke wijze in reactie kunnen treden (zie o.a. Van Veen, loc. cit.) en vaak met den naam *haptenen* aangeduid worden (Ehrlich, Landsteiner), vallen dus buiten deze groep van verbindingen.

Tengevolge van de in de inleiding reeds aangeduide noodzakelijkheid van beperking, zal in het vervolg van dit artikel in hoofdzaak sprake zijn van de zuivering van *toxinen* en *anatoxinen*, waarbij uiteraard het *diphtherietoxine* een voornaam plaats inneemt. Gedurende de laatste jaren is de immunisatie tegen diphtherie in vele landen (speciaal Frankrijk, Denemarken en Holland) sterk toegenomen en wordt hier in hoofdzaak diphtherieanatoxine voor gebruikt. De bereiding in het groot van diphtherietoxine is echter een proces, dat men nog weinig in de hand heeft, zoodat het niet gelukt om regelmatig diphtherietoxine van hooge antigeenwaarde (A.W.) te bereiden. Hetzelfde geldt dus m.m. voor diphtherieanatoxine.

⁵⁰) D. Tillman, Gerlough en Woodford White, J. Immunol. 22, 331 (1932).

⁵¹) M. Eisler en M. Spiegel-Adolf, Biochem. Z. 204, 28 (1929).

⁵²) K. Linderström-Lang en S. Schmidt, Compt. rend. soc. biol. 103, 618 (1930); Compt. rend. Lab. Carlsberg 18, 1 (1930).

⁵³) R. Wernicke en F. Modern, Compt. rend. soc. biol. 103, 1277 (1930).

⁵⁴) G. Turner, J. Lab. Clin. Med. 15, 720 (1930).

⁵⁵) A. Tasman en A. C. Brandwyk, J. Lab. Clin. Med. 16, 1087 (1931).

⁵⁶) A. Hansen, Compt. rend. soc. biol. 108, 570 (1931).

⁵⁷) L. Velluz, Compt. rend. soc. biol. 108, 709 (1931).

⁵⁸) G. Stodel en A. Bourdin, Compt. rend. soc. biol. 110, 32, 33 (1932).

⁵⁹) Felton, J. Infectious Diseases 37, 199, 309 (1925); 38, 145 (1926); 42, 248, 256 (1928); 43, 543 (1928); J. Am. Med. Assoc. 94, 1893 (1930); J. Immunol. 19, 485, 511 (1930); 21, 341, 357 (1931); Felton en Bailey, J. Infectious Diseases 38, 131 (1926); J. Immunol. 11, 197 (1926); Felton en Kaufmann, J. Infectious Diseases 49, 337 (1931).

⁶⁰) A. B. F. A. Pondman, Maandschr. Kindergeneesk. 2, 427 (1933).

Bovendien blijken oudere kinderen (8 jaar en ouder) soms meer of minder sterk op de anatoxine-inspuitingen te reageren. Deze reacties zijn naar alle waarschijnlijkheid te wijten aan begeleidende, stikstofhoudende producten, welk in het ruwe antigeen aanwezig zijn, met het immunisatorisch werkzame bestanddeel waarschijnlijk echter in geenerlei verband staan. Uit het bovenstaande blijkt voldoende het groote praktische belang, dat aan een goede zuiveringstechniek verbonden is.

Ter beoordeeling van het resultaat van de een of andere zuivering beschouwt men meestal, overeenkomstig hetgeen bij de serumzuivering vermeld is, de verandering van het quotient $\frac{\text{antigeenconcentr.}}{\text{totaal stikstof}^{61}}$.

Onder het begrip *reinigingsfactor* zullen we dus ook hier verstaan

$$\frac{(\text{antigeenconcentratie})}{(\text{totaal stikstof})} : \frac{(\text{antigeenconcentratie})}{(\text{totaal stikstof})}$$

gezuiverd product uitgangproduct.

Dat bij de beoordeeling van een of ander zuiveringsprocedé, speciaal met het oog op een toepassing in het groot, ook de *opbrengst* belangrijk is, spreekt vanzelf.

Daar de toxinen zich in sommige opzichten gedragen als enzymen (adsorbeerbaarheid, werkzaamheid in vaak zeer geringe concentraties), lag het voor de hand, dat men voor de zuivering van deze stoffen gebruik maakte van de ervaringen, welke Willstätter, Waldschmidt-Leitz e.a. verkregen bij hun zuiveringsproeven van enzymen. Aangezien echter in de latere jaren het eiwitkarakter van de antigenen meer op den voorgrond getreden is, zijn ook diverse uitzout- en precipitatieprocedés onder de reinigingsmethoden te vinden.

a. *Diphtherietoxine- en -anatoxine*. Bij de zuivering van diphtherietoxine en -anatoxine is het resultaat hiervan zeer eenvoudig na te gaan met behulp van de vlokingsreactie van Ramon, daar op enkele uitzonderingen na, de gezuiverde antigeenoplossingen evengoed „vlokken” als de uitgangproducten, mits men zorgt voor een voldoende electrolytconcentratie (bijv. na de dialyse 0.85 % NaCl toevoegen).

Door velen is een zuiveringsmethode toegepast, berustende op de adsorptie aan aluminiumhydroxydesuspensie (Linderström-Lang en Schmidt⁶²), Schmidt⁶³), Schmidt en Hansen⁶⁴), Schmidt, Hansen en Kjaer⁶⁵), Maschmann, Küster en Fischer⁶⁶). De door de verschillende onderzoekers beschreven techniek komt in hoofdzaak op het volgende neer. Men bereidt eerst een suspensie van z.g. „ γ -aluminiumhydroxyde” volgens Willstätter en Kraut⁶⁷), welke door

herhaaldelijk uitwasschen zooveel mogelijk van electrolyten gezuiverd wordt. Aan het te reinigen toxine of anatoxine wordt 10—20 % van deze suspensie toegevoegd, welke het in de oplossing aanwezige antigeen adsorbeert. Het neerslag wordt afgecentrifugeerd, gewasschen en daarna geëluëerd met een verdunde oplossing van natriumphosfaat. Het aanvankelijk aan het neerslag geadsorbeerde antigeen gaat hierbij in oplossing en kan vervolgens door dialyse van de nog aanwezige zouten bevrijd worden. Diphtherietoxine en anatoxine laten zich n.l. zonder eenig verlies dialyseren, zulks in tegenstelling met tetanustoxine, dat volgens diverse literatuuropgaven (Maschmann⁶⁸), sterk door het dialysemembraan (collodion, cellophaan of perkament) geadsorbeerd wordt.

Uit wetenschappelijk oogpunt beschouwd, geeft deze methode goede resultaten. De reinigingsfactoren zijn soms hoog (varieerende tusschen 20 en 40) en de verkregen producten vertoonen goede immuniseerende eigenschappen. Een groot nadeel is echter de betrekkelijke wisselvalligheid. Er moet zeer precies op de p_H der te reinigen toxine- resp. anatoxineoplossingen gelet worden en steeds verse suspensies gebruikt worden (Schmidt⁶⁹), Tasman en van Waasbergen⁷⁰).

Men heeft ook op verschillende wijzen getracht het te zuiveren antigeen te adsorberen aan een neerslag, dat men in de oplossing van het antigeen liet ontstaan. Hiervoor leenen zich zeer goed de zouten van sommige metalen. Op betrekkelijk groote schaal is hiervoor aluin en aluminiumsulfaat toegepast. (Glenny⁷¹), Glenny en Mollie Barr⁷²), Tasman en Pondman⁷³), Tasman en van Waasbergen⁷⁴), Ando, Komiyama en Manako⁷⁵). Toevoeging van 1—2 % aluin of aluminiumsulfaat aan toxine- en anatoxineoplossingen doet hierin een volumineus neerslag ontstaan, dat eveneens het antigeen meeneemt. De verdere verwerking geschiedt op overeenkomstige wijze, als voor de adsorptie aan aluminiumhydroxyde beschreven is. De resultaten zijn veel constanter, mislukkingen komen zelden voor, de verkregen producten immuniseeren goed, doch de verkregen reiniging staat in het algemeen ten achter bij die, welke via een adsorptie aan aluminiumhydroxyde bereikt wordt. Op analoge wijze werd gewerkt met Ca-, Ba- en Sr-phosfaat (Ohya⁷⁶), magnesiumhydroxyde (Ecker en Weed⁷⁷), ijzerhydroxyde, zinksulfaat, zirkoonoxychloride, thoriumacetaat, uranylacetaat (Smith⁷⁸),

⁶⁸) E. Maschmann, Z. physiol. Chem. 201, 219 (1931).

⁶⁹) S. Schmidt, Biochem. Z. 278, 257 (1935).

⁷⁰) A. Tasman en J. P. van Waasbergen, Ned. Tijdschr. Hyg. Microbiol. Ser. 7, 48 (1932); Z. Immunitätsf. 75, 164 (1932).

⁷¹) A. T. Glenny, Brit. Med. J. 270 (1930).

⁷²) A. T. Glenny en Mollie Barr, J. Path. Bact. 34, 118, 131 (1931).

⁷³) A. Tasman en A. B. F. A. Pondman, Ned. Tijdschr. Hyg. Microbiol. Ser. 7, 25 (1932); Z. Immunitätsf. 72, 245 (1931).

⁷⁴) A. Tasman en J. P. van Waasbergen, Ned. Tijdschr. Hyg. Microbiol. Ser. 7, 48 (1932); Z. Immunitätsf. 75, 164 (1932).

⁷⁵) K. Ando, T. Komiyama en Manako, J. Immunol. 29, 439 (1935); 31, 355 (1936).

⁷⁶) S. Ohya, J. Biol. Chem. 13, 255 (1931).

⁷⁷) E. E. Ecker en L. A. Weed, J. Immunol. 22, 61 (1932).

⁷⁸) M. L. Smith, J. Path. Bact. 35, 663 (1932).

⁶¹) Onder „totaal stikstof” verstaan we het aantal grammen stikstof per 100 cm³ antigeenoplossing.

⁶²) K. Linderström-Lang en S. Schmidt, Compt. rend. Lab. Carlsberg 18, 1 (1930); Compt. rend. soc. biol. 103, 620 (1930).

⁶³) S. Schmidt, Compt. rend. soc. biol. 103, 1296 (1930); 106, 308, 375 (1931); 107, 327, 330 (1931); 120, 1148 (1935).

⁶⁴) S. Schmidt en A. Hansen, Compt. rend. soc. biol. 103, 1305 (1930); 120, 1150 (1935).

⁶⁵) S. Schmidt, A. Hansen en K. A. Kjaer, Ann. inst. Pasteur 46, 202 (1931).

⁶⁶) E. Maschmann, E. Küster en W. Fischer, Ber. 64, 2174 (1931).

⁶⁷) R. Willstätter en H. Kraut, Ber. 56, 1117 (1927).

bariumsulfaat (Siebenmann⁷⁹), zinkchloride (Hosoya, Tanaka en Kagabe⁸⁰) en ferri-chloride (Moloney en Orr⁸¹)).

In al deze gevallen wordt het antigeen gebonden aan het in de oplossing gevormde neerslag en daarna weer door een alcalische fosphaatoplossing geelueerd. De resultaten zijn wisselend en geen van deze methoden komt o.i. voor practisch gebruik in aanmerking.

Talrijk zijn ook de mededeelingen over precipitatie van het antigeen door toevoeging van zuren (Bächer, Kraus en Löwenstein⁸²), Schmidt en Kjaer⁸³), Bunney, Cianciarulo en Kiamil⁸⁴), Leulier, Sédallian en Clavel⁸⁵), Kjaer⁸⁶)). Gezien het eiwitkarakter van het te zuiveren antigeen komt het dus neer op een precipitatie bij het iso-electrische punt. De neerslagen worden na filtratie weer opgelost in een zwak alcalische fosfaat- of ammoniakoplossing. De resultaten zijn echter slecht. De opbrengsten zijn meestal gering en de verkregen producten vlokken slecht of in het geheel niet met diphtherieserum. Hetzelfde kan gezegd worden van de pogingen om anatoxine door middel van een acetoneprecipitatie te zuiveren (Wadsworth, Quigley en Sickles⁸⁷)).

Zajdel⁸⁸) publiceerde een methode om door middel van ultra-filtratie door collodionmembranen anatoxine te zuiveren. Volgens haar zou hierbij een antigeenopbrengst van 75—85 % en een reinigingsfactor ± 100 verkregen worden. Hoewel deze resultaten voor experimenteele doeleinden zeker zeer goed te noemen zijn, is de methode voor practisch gebruik, waarbij het er op aankomt groote hoeveelheden anatoxine te zuiveren, vermoedelijk te tijdrovend. Een elegante methode is door Spacowicz en Porebski⁸⁹) beschreven. Deze auteurs maken gebruik van de zeer geringe oplosbaarheid in water van benzoëzuur. Indien men aan een toxine of anatoxine in de koude een verzadigde oplossing van benzoëzuur in aceton toevoegt, precipiteert dit zuur en adsorbeert tegelijkertijd het antigeen. Het neerslag wordt afgecentrifugeerd en met water gewaschen, waarna het benzoëzuur weer in aceton opgelost wordt. Hierbij blijft het goed gereinigde antigeen als een lichtgeel gekleurd poeder achter. Bij een hunner proeven werd een gezuiverd anatoxine met 80 % opbrengst en R.F. = 144 verkregen. Het opgeloste gereinigde product bleek tenslotte goed te immuniseeren.

⁷⁹) C. Siebenmann, Z. Immunitätsf. 77, 167 (1932).

⁸⁰) S. Hosoya, T. Tanaka en K. Kagabe, Compt. rend. soc. biol. 116, 1161 (1934).

⁸¹) P. J. Moloney en M. D. Orr, Biochem. J. 29, 1525 (1935).

⁸²) St. Bächer, R. Kraus en E. Löwenstein, Z. Immunitätsf. 44, 86 (1926).

⁸³) S. Schmidt en K. Kjaer, Compt. rend. soc. biol. 103, 1307 (1930); Biochem. Z. 228, 291 (1930).

⁸⁴) W. E. Bunney, J. Cianciarulo en M. Kiamil, J. Immunol. 20, 417 (1931).

⁸⁵) A. Leulier, P. Sédallian en Mme. Clavel, Compt. rend. soc. biol. 107, 1136 (1931).

⁸⁶) A. Kjaer, Compt. rend. soc. biol. 110, 1118, 1119 (1932).

⁸⁷) A. Wadsworth, J. Quigley en G. R. Sickles, J. Exp. Med. 55, 815 (1932).

⁸⁸) R. Zajdel, Compt. rend. soc. biol. 116, 239 (1934).

⁸⁹) T. Spacowicz en W. Porebski, Compt. rend. soc. biol. 113, 1267 (1933).

Een uitvoerig onderzoek op dit gebied is door Brandwijk en Tasman⁹⁰) gepubliceerd. Uitgaande van het feit, dat diphtherietoxine en anatoxine zich als eiwitten gedragen, hebben zij van deze producten z.g. uitzoutingscurven bepaald, d.w.z. door gefractioneerd neerslaan met ammoniumsulfaat die eiwitfracties geïsoleerd, welke relatief het rijkst aan antigeen zijn. De methode komt in wezen neer op hetgeen hiervan bij de serumzuivering gezegd is. De neergeslagen antigeenfracties laten zich gemakkelijk affiltreeren en weder in oplossing brengen. De aldus verkregen oplossingen worden door dialyse in stroomend leidingwater van het nog aanwezige ammoniumsulfaat bevrijd. De reinigingsfactoren bedragen 14—24, de opbrengsten 80—90 %. De methode is goedkoop en zeer geschikt om in het groot toegepast te worden. Mislukkingen komen niet voor. De verkregen gezuiverde antigeenoplossingen immuniseeren goed.

Een eveneens op het eiwitkarakter van deze antigenen gebaseerde methode, welke kort geleden door Boivin, Ramon, Richou en Izard⁹¹) gepubliceerd werd, berust op de precipitatie van diphtherietoxine en anatoxine met behulp van trichloorazijnzuur. De verkregen neerslagen laten zich oplossen in verdunde fosphaatoplossingen. Nieuwe gezichtspunten leveren deze publicaties niet op.

Een totaal ander uitgangspunt werd bij de volgende methode gekozen (Schmidt en Scholz⁹²), Ramon, Legroux en Schoen⁹⁴), Hansen⁹⁵)). Bij de bespreking van de vlokingsreactie van Ramon werd reeds medegedeeld, dat deze vlokken bestaan uit een complex van toxine (resp. anatoxine) en antitoxine, welk complex tevens een zekere hoeveelheid eiwit (globulinen) uit het toegevoegde serum adsorbeert. Genoemde onderzoekers centrifugeerden deze vlokken af en suspenderden ze in water, waaraan al of niet een bepaalde hoeveelheid zuur toegevoegd was. Door nu deze suspensie gedurende een uur in een kokend waterbad te verhitten, zou dit antigeen-antistofcomplex dissocieeren, waarbij het antitoxine vernietigd zou worden. Op deze wijze zouden zij erin geslaagd zijn, zeer ver gezuiverde antigeenoplossingen te bereiden. Contrôleproeven in het voormalige Rijks Serologisch Instituut leverden echter een volledig negatief resultaat op.

In Frankrijk en Denemarken is op groote schaal het gezuiverde anatoxine voor de immunisatie van kinderen toegepast. Wat de resultaten betreft, zij slechts gewezen op de zeer zorgvuldige quantitative onderzoeken van Jensen⁹⁶). Genoemde onderzoeker bepaalde van een groote reeks kinderen de toename van het antitoxinegehalte in het bloed als gevolg van de plaats gehad hebbende immunisatie. De resultaten waren ook in dit opzicht bevredigend.

⁹⁰) A. C. Brandwijk en A. Tasman, Ned. Tijdschr. Hyg. Microbiol. Ser. 7, 283 (1933); 8, 94 (1934); Leeuwenhoek 1, 38 (1934); 2, 106 (1935); Z. Immunitätsf. 77, 390 (1932); 78, 540 (1933); 81, 137 (1933); 85, 200 (1935).

⁹¹) A. Boivin en Yzard, Compt. rend. soc. biol. 124, 25 (1937). G. Ramon, A. Boivin en R. Richou, Compt. rend. soc. biol. 124, 28 (1937).

⁹²) H. Schmidt en W. Scholz, Z. Immunitätsf. 64, 228 (1929).

⁹³) G. Ramon, R. Legroux en M. Schoen, Compt. rend. soc. biol. 106, 525, 779 (1931).

⁹⁴) S. Schmidt, Compt. rend. soc. biol. 106, 586 (1931).

⁹⁵) A. Hansen, Compt. rend. soc. biol. 108, 573 (1931).

⁹⁶) C. Jensen, Compt. rend. soc. biol. 108, 528, 532 (1931).

Bezien wij tenslotte het geheel der hier medegedeelde zuiveringsmethoden en de daarmee bereikte resultaten, dan is het duidelijk, dat verschillende van deze procedé's zeer goed bruikbaar zijn om voor de praktijk van de prophylactische diphtherie immunisatie geschikte antigeenoplossingen van voldoende sterkte te bereiden. De resultaten van deze immunisaties zijn gunstig. De verkregen immuniteit mag ruim voldoende geacht worden, terwijl reacties op de inspuitingen gewoonlijk niet, of slechts in zeer geringe mate optreden. Theoretisch beschouwd hebben zij echter nog weinig resultaat opgeleverd. De gezuiverde producten zijn nog verre van „rein” en beantwoorden dus zeker niet aan den in den aanvang gestelden eisch van chemisch zuivere antigenen ter bestudeering van de antigeen-antistofreactie. Het is echter zeer de vraag, gezien de vele zijden, van waaruit dit vraagstuk reeds aangepakt is, of men in de toekomst dit doel bereiken zal.

b. *Tetanus-toxine en -anatoxine.* Uiteraard heeft het tetanustoxine resp. -anatoxine lang niet die belangstelling genoten, die op het gebied van reiniging en concentratie aan het overeenkomstige diphtherieproduct ten deel gevallen is. Daar komt nog bij, dat het resultaat van een bepaald zuiveringsproces moeilijk te volgen is, daar men voor alle concentratiebepalingen op dierproeven aangewezen is.

Maschmann (loc. cit.) heeft door adsorptie aan kaoline tamelijk goede resultaten verkregen. Velluz⁹⁷⁾ publiceerde een methode, gebaseerd op een adsorptie aan een z.g. „ β -hydroxyde” van aluminium; terwijl Felix en Engel⁹⁸⁾ de reiniging van tetanustoxine met behulp van natriumpermutiet en een daarop volgende adsorptie aan kaoline beschrijven. Ramon, Boivin en Richou⁹⁹⁾ zuiverden tetanustoxine door neerslaan met trichloor-azijnzuur. Veel nieuws leverden deze onderzoeken echter niet op.

c. *Diverse toxinen.* Wagner-Sommer, Sommer en Meyer¹⁰⁰⁾, reinigden *botulinustoxine* door middel van adsorptie aan aluminiumhydroxyde en verkregen hierbij 30—50 % opbrengst. Wadsworth en Quigley¹⁰¹⁾ zuiverden door precipitatie met aceton het toxine van een *streptococcus haemolyticus*-stam met 75 % opbrengst. De toxische werking van de uitgangsvloeistof en de verschillende gereinigde producten werd op de huid van geiten bepaald. Van Ramon, Bocage en Boivin¹⁰²⁾ verscheen een mededeeling, waarin de zuivering door precipitatie met trichloor-azijnzuur van *staphylococcentoxine* en -toxoid beschreven wordt.

In 1936 verscheen een fraai onderzoek van van Esveld¹⁰³⁾, waarin de reiniging van *Cobratoxine* behandeld werd. Dit toxine wordt, vooral in Frankrijk, toegepast ter symptomatische behandeling van daarvoor in aanmerking komende carcinoompatiënten en

heeft tengevolge van zijn sterk neurotoxische werking het vermogen om, hoewel niet genezend, toch pijnstillend te werken en zou als zoodanig in meerdere of mindere mate de toediening van morphine kunnen vervangen. Behalve het eigenlijke neuro-toxische bestanddeel, waar het dus voor de bovengenoemde toepassing om te doen is, bevat het ruwe toxine naast onwerkzame albuminen ook nog bepaalde haemorrhagisch en haemolytisch werkende verbindingen, welke ongewenschte bijverschijnselen te voorschijn roepen. Van Esveld slaagde er nu in, door verhitting bij $p_H = 5$ gedurende 20 minuten op 72° C, de albuminen te precipiteeren. De resterende vloeistof wordt door uitschudden met een oplossing van lecithine in chloroform (waarbij nog enkele bijzonderheden in acht genomen moeten worden) van de haemorrhagisch en haemolytisch werkende bestanddelen bevrijd. De uiteindelijk verkregen toxine-oplossingen zijn zeer vergaand gereinigd en gedragen zich voor zoover de beperkte toepassing in dit opzicht een oordeel toelaat, minstens gelijkwaardig aan het ruwe toxine, zonder evenwel de reeds genoemde onaangename bijverschijnselen te veroorzaken.

d. *Bereiding van eiwitvrije antigenen.* In de inleiding is betreffende den aard van de als antigeen werkende stoffen medegedeeld, dat deze of zelf eiwitten zijn of voor de uitoefening van hun antistof opwekkende functie aan eiwitten gebonden moeten zijn. Tot voor betrekkelijk korten tijd werd deze meening als vrijwel vaststaande algemeen aanvaard. De sporadische mededeelingen, waarin men „eiwitvrije” antigenen beschreef, werden terecht zeer kritisch bekeken en bij controle bleken deze „antigenen” dan ook of geen antistof op te kunnen wekken, of (en dit was meestal het geval) toch nog geringe sporen eiwit te bevatten.

Hierin is echter verandering gekomen door een publicatie van Avery en Goebel¹⁰⁴⁾, welke handelt over het pneumococcon-polysaccharide, hetgeen uit de kapsels van pneumococcon geïsoleerd kan worden. De eerste preparaten van deze verbinding, welke volkomen eiwitvrij waren, gaven met de antisera, bereid met behulp van dezelfde pneumococcon-stammen, als waaruit het polysaccharide verkregen was, wel precipitatiereacties (fungeerden dus als haptenen), doch misten het vermogen om zelf antistoffen op te kunnen wekken. Zij waren dus in den zin van de gegeven definitie geen antigenen. Avery en Goebel vonden nu, dat de oorspronkelijk gevolgde bereidingswijze van deze polysacchariden, waarbij deze verbindingen o.a. een behandeling met loog ondergaan moesten, ten gevolge had, dat door deze loogbehandeling een oorspronkelijk aanwezige acetylgroep afgesplitst werd. Het gedesacetylerde product had dan wel hapteen- doch geen antigeenfunctie. Werd dit product opnieuw geacetyleerd, dan werd de antigene functie hersteld en gedroeg de zoo verkregen stof zich geheel gelijk aan een verbinding, welke door voorzichtige behandeling (waarbij de afsplitsing van de acetylgroep voorkomen werd) uit de kapsels van pneumococcon bereid kon worden. De hieruit getrokken conclusie, dat antigenen dus niet steeds aan eiwitten gebonden hoeven te zijn, wint aan overtuiging door recente

⁹⁷⁾ L. Velluz, Compt. rend. soc. biol. 106, 887 (1931); 107, 674 (1931).

⁹⁸⁾ K. Felix en C. Engel, Z. Immunitätsf. 70, 41 (1931).

⁹⁹⁾ G. Ramon, A. Boivin en C. Richou, Compt. rend. soc. biol. 124, 32 (1937).

¹⁰⁰⁾ E. Wagner-Sommer, H. Sommer en K. F. Meyer, J. Infectious Diseases 39, 345 (1926).

¹⁰¹⁾ A. Wadsworth en J. J. Quigley, J. Immunol. 20, 459 (1931).

¹⁰²⁾ G. Ramon, A. Bocage en A. Boivin, Compt. rend. soc. biol. 124, 93 (1937).

¹⁰³⁾ L. W. van Esveld, Biochem. Z. 283, 343 (1936).

¹⁰⁴⁾ O. T. Avery en W. Goebel, J. Exp. Med. 58, 731 (1933).

publicaties van Topley en medewerkers¹⁰⁵), welke er eveneens in slaagden, een vermoedelijk eiwitvrij antigeen in zeer zuiveren toestand uit een bepaalde groep van typhusbacteriën af te zonderen. De met aceton gedóode bacteriën werden aan een tryptische eiwitvertering onderworpen. De hieruit verkregen oplossing werd met 68 % alcohol neergeslagen en dit neerslag door afwisselend oplossen in verdund zoutzuur en neerslaan met verdunde ammoniak verder gezuiverd. De verkregen eindproducten reageerden negatief met sulfosalicylzuur, trichloorazijnzuur, Esbach's reagens en phosphorwolframazijnzuur. De Millonsche- en biureetreacties waren zwak positief. De Molisch-reactie op polysacchariden was sterk positief. Zeer waarschijnlijk werd hier dus een polysaccharide verkregen, vrij van eiwit, doch gebonden aan bepaalde phosphatiden (de droge stof bevatte phosphor en 5 % stikstof). Speciaal het feit, dat deze antigenen bestand bleken tegen een trypsine-aantasting, pleit hiervoor. In dit verband moge gewezen worden op een publicatie van Stamp en Hendry¹⁰⁶), welke een soortgelijke werkwijze op het antigeen van haemolytische streptococci met volledig negatief resultaat toepasten. Wel konden zij zuivere, goed immuniseerende verbindingen afscheiden, doch deze gedroegen zich in ieder opzicht als eiwitten.

Tenslotte zij nog vermeld, dat ook enkele lipoiden uit tuberkelbacillen geïsoleerd, antigene eigenschappen zouden bezitten (Pedersen en Bjerggaard¹⁰⁷), Yato¹⁰⁸), Macheboeuf, Sandor en Nini¹⁰⁹), Sandor en Nini¹¹⁰).

Utrecht, Rijks Instituut voor de Volksgezondheid, Februari 1937.

BOEKAANKONDIGINGEN.

539.1 (022)

Prof. Dr. H. B. Dorgelo, *Electronen, Atomen en Moleculen*. Uitgave der Centrale Commissie voor Studiebelangen te Delft, No. 62. In depot bij boekhandel Waltman, Delft, 163 pp., 16 × 24 cm, f 4.75.

Inhoud: Een paar feiten en formules uit de kinetische gastheorie. Electronen in elektrische en magnetische velden, emissie door metaaloppervlakken. Kanaalstralen. Atomen, modellen van Rutherford en Bohr, spectra, aangeslagen toestanden, ionisatie, periodiek systeem. Gasontladingen. Röntgenstralen. Atoomkernen, radioactiviteit. Moleculen, energietoestanden, bandenspectra. Golfkarakter der materie.

Het boek is helder geschreven, behoorlijk gedrukt, zeer goed geïllustreerd, is beknopt zonder oppervlakkig te zijn,

¹⁰⁵) H. Raistrick en W. W. C. Topley, *Brit. J. Exp. Path.* 15, 113 (1934); M. E. Delafield, *Brit. J. Exp. Path.* 15, 130 (1934); A. R. Martin, *Brit. J. Exp. Path.* 15, 137 (1934); W. W. C. Topley, H. Raistrick, J. Wilson, M. Stacey, S. W. Challinor en R. O. J. Clark, *Lancet* 115, I, 252 (1937).

¹⁰⁶) T. C. Stamp en E. B. Hendry, *Lancet* 115, I, 257 (1937).

¹⁰⁷) K. Pedersen en Bjerggaard, *Z. Immunitätsf.* 82, 258 (1934).

¹⁰⁸) M. Yato, *Chem. Abstracts* 28, 422 (1934).

¹⁰⁹) A. Macheboeuf, G. Sandor en C. Nini, *Compt. rend. soc. biol.* 105, 275 (1932).

¹¹⁰) A. Boquet en G. Sandor, *Compt. rend. soc. biol.* 116, 938 (1934).

met de direct op het onderwerp ingaande betoogtrant, ontleend aan het karakter van een college-dictaat. Het is samengesteld naar een college van den schrijver en de stof komt in groote trekken overeen met de algemeene kennis over atomen, electronen en moleculen, die men aan onze Universiteiten van candidandi verwacht. Voor hen kan het boek dan ook van groot nut zijn.

Het lofwaardige voorbeeld van Delft om van colleges dictaten door bevoegden te laten maken en gedrukt den studenten beschikbaar te stellen, verdient aan onze Universiteiten groote navolging. Er is alles vóór en weinig tegen te zeggen. De meeste docenten schijnen er evenwel niet voor te voelen om het grenzenloos tijd- en energie-verspillende, talloze fouten in de hand werkende, dictatengekrabbel van studenten overbodig te maken.

Een enkele aanmerking: het jaartal van uitgifte wordt niet gemeld, wat indruischt tegen de goede gewoonte om dat wel te doen. Verwijzing naar literatuur ontbreekt geheel en al, hetgeen om ondoorgrondelijke redenen typisch is voor veel Nederlandsche leerboeken en colleges.

Waarom den indruk gewekt, alsof al onze kennis uit den hemel komt vallen en waarom den lezer niet den zeer waardevollen dienst bewezen om hem den weg tot verdieping of precieseering en zelfstandige studie te wijzen?

W. E. Nieuwenhuis.

* * *

778.31 (022)

P. C. Jansen, *Microfotografische techniek*. Uitg. „De Sikkel”, Antwerpen, voor Nederland D. B. Centen's Uitg.-Mij., Amsterdam, 1936, 156 pp., 25 × 16 cm, 77 fig., f 2.80.

Dit vlot geschreven en aangenaam leesbare boek geeft veel meer, dan de titel zou doen vermoeden.

Het is een goede gedachte geweest te beginnen met een uitvoerige beschrijving van het microscoop zelf, waarin men alle technische functies beschreven vindt naast enkele theoretische details. Dit gedeelte lijkt mij van bijzonder belang voor degenen, die zich een microscoop wenschen aan te schaffen; zij zullen zich kunnen inwerken in de beteekenis van alle technische termen en benamingen, welke men in de catalogi over microscopen aantreft en daardoor hun keuze gemakkelijk kunnen motiveeren.

Het microfotografische gedeelte is vóór alles een zeer volledige handleiding, waarin men allerlei over microfotografische installaties, lichtbronnen, de functies van lichtfilters, de keuze van fotografisch materiaal enz. aantreft. Het valt op hoe onderhoudend dit deel geschreven is, hoe op talloze werkelijk praktische raadgevingen nadruk gelegd wordt.

Aan het slot volgt nog een korte behandeling van enkele theoretische onderwerpen zooals de numerische apertuur, de grenzen der microscopische waarneming e.d., benevens een uitvoerige boekenlijst.

Iedereen, die met microscopie te maken heeft kan dit werk warm aanbevolen worden, de lage prijs is het alleszins waard.

A. M. de Wild.

CHEMISCHE KRINGEN.

Haagsche Chemische Kring. Op 23 Februari j.l. heeft Prof. Dr. Ir. C. J. van Nieuwenburg uit Delft voor een zeer goed bezochte vergadering een voordracht gehouden over: „De chemische samenstelling van de aarde”.

In de eerste plaats behandelde de spr. enkele algemeene gegevens, die de beoefening van de geochemie heeft opgeleverd, n.l. den opbouw van de aarde uit een viertal duidelijk afgescheiden lagen, de sialschaal, de bazalt- en eklogiet-laag, de „tuschenlaag” en de ijzer-nikkelkern, en vervolgens de „geochemische verdeelingswetten”, met behulp waarvan verschillende richtlijnen werden verkregen betreffende de verdeling van de elementen in de aarde.

Uit een zeer omvangrijk statistisch-analytisch materiaal, waartoe in het bijzonder kwantitatieve gegevens, verkregen uit röntgenspectra, hebben bijgedragen, is een betrouwbaar beeld

gevormd van de frequentie van de verschillende elementen, die tezamen het bekende deel van de aardkorst uitmaken en is verder zelfs ook een vrij betrouwbare schatting mogelijk van deze frequentie gerekend op den geheelen aardbol.

Toegelicht door enkele tabellen en grafieken werden verschillende merkwaardige feiten nader door den spr. behandeld.

Hiervan moge worden aangestipt, dat zuurstof en silicium samen 75 % van het bekende deel van de aardkorst vormen, en met een achttal andere elementen tezamen 99½ %; verder, dat de elementen met even rangnummers alle veel frequenter zijn dan die met oneven; en tenslotte, dat in elke kolom van het periodieke systeem het tweede element het meest frequent is.

Belangstellenden zij verder verwezen naar het artikel van Prof. van Nieuwenburg in het Chem. Weekblad 30, 278 (1933).

De aanwezigen hebben de voordracht zeer op prijs gesteld.

* * *

Leidsche Chemische Kring. In de vergadering van 19 Maart 1937 heeft Prof. Dr. H. A. Kramers gesproken over het „Verband tusschen den bouw der moleculen en optische verschijnselen“.

* * *

Rotterdamsche Chemische Kring. In de vergadering van 8 Maart 1937 hield Dr. Ir. R. Houwink (Eindhoven) een voordracht, getiteld: „*Chemie en physica van kunstharsen*.“ Spreker begon met de verschillende mogelijkheden uiteen te zetten welke tot harsvorming kunnen leiden, te weten: a. het vormen van een amorphe onderkoelde smelt door afkoeling van een organische vloeistof; b. polymerisatie of condensatie, doordat moleculen met chemisch reactieve plaatsen onder vorming van grotere eenheden met elkaar reageren; c. het verbinden van reeds bestaande grote moleculen tot nog grotere eenheden. Toegelicht werd onder welke condities men in het algemeen de vorming van lineaire polymeren mag verwachten en wanneer de vorming van sphäro-kolloïden tegemoet gezien kan worden. Voor de lineaire kolloïden werden de kinetika der kernvorming, de kettinggroei en de stabilisatie nader toegelicht en met verschillende voorbeelden werd gedemonstreerd welke van deze lineaire polymeren voor de practijk belang hebben gekregen. De nauwe analogen, welke somtijds met synthetische rubbers bestaat, werd daarbij aangestipt.

Na de pauze werd de vorming van hardende sphäro-kolloïden in bijzonderheden besproken, zowel hun chemische ontstaanswijze, als de fysische veranderingen, die bij de vorming plaats hebben. Uitvoerig werd stilgestaan bij de diepere betekenis, welke achter de zgn. A-, B- en C-toestand schuilt en de analogie (en ook het verschil) met stoffen als glas, asphalt en kolophonium.

PERSONALIA, ENZ. *)

Prof. Dr. A. F. Holleman. Op 26 Maart was het 50 jaar geleden, dat Prof. Holleman aan de Universiteit te Leiden bevorderd werd tot doctor in de wis- en natuurkunde.

* * *

Aan de Universiteit van Amsterdam zijn met lof bevorderd tot doctor in de wis- en natuurkunde: op proefschrift „De polarografische methode met de druppelende kwikelectrode ten dienste van het pharmaceutisch onderzoek“, de heer J. Maas, geboren te Batavia en, op proefschrift „Het fysisch-chemisch gedrag van de complexe stof SO₃“, de heer N. F. Moerman, geboren te Amsterdam.

* * *

Aan de Universiteit te Groningen is geslaagd voor het doctoralexamen wis- en natuurkunde, hoofdvak chemie, de heer R. Syderius.

* * *

Aan de Technische Hoogeschool te Delft is bevorderd tot doctor in de technische wetenschap, op proefschrift „De constitutie en de fabricage der phenolformaldehydharsen“, de heer A. R. Veldman, scheik. ing., geboren te Adorp.

* * *

Het bestuur van het Technologisch Gezelschap te Delft is thans als volgt samengesteld: T. P. van den Bergh, president, J. W. J. Burck, secretaris, mejuffrouw A. G. J. Boezaardt, penningmeesteresse, T. Komor, excursieleider, A. E. A. van Rhijn, commissaris.

* * *

*) Berichten voor deze rubriek zijn steeds welkom.

Prof. Dr. S. C. J. Olivier heeft op 16 Maart voor het Natuurwetenschappelijk Gezelschap te Wageningen gesproken over „Zwaar water“.

* * *

Voor 1937—1938 is het bestuur van de Philosophische Faculteit der Leidsche Studenten als volgt samengesteld: W. Werker, praeses, mejuffrouw J. C. Bok, ab-actis, mejuffrouw C. Schoorl, quaestrix, H. D. Verdam, assessor I, R. J. Wille, assessor II, J. Ph. Steller, assessor III.

* * *

In de vergadering van 18 Maart 1937 van het Natuurkundig Gezelschap te Leiden, heeft Prof. Dr. A. E. van Arkel gesproken over „Rekristallisatieverschijnselen“.

* * *

Achema VIII. Ten einde het bezoek aan deze tentoonstelling op het gebied der chemische techniek te vergemakkelijken, organiseert de Dechema (Berlin W. 35, Potsdamerstrasse 103a) excursies, zoowel naar genoemde tentoonstelling te Frankfurt a.M. (1—6 Juli 1937) als naar andere belangrijke steden (6—25 Juli 1937). Inlichtingen verstrekt bovengenoemd bureau.

* * *

Vereeniging van beetwortelsuikerfabrikanten en raffinadeurs. In de onlangs te 's Gravenhage gehouden vergadering heeft de voorzitter, de heer M. G. Hummelinck, allereerst eenige personen herdacht. Vervolgens ging men over tot de campagnebesprekingen. De leden wisselden van gedachten over ervaringen met collactiviteit, een nieuw hulpmiddel voor betere, snellere filtratie en ontkleuring van de suikersappen. De secretaris Dr. Schonebaum, gaf een uiteenzetting over de procentische verwijdering van de nietsuikers uit het bietenruw sap en de verkregen stijging van de reinheid van het sap bij de sapzuivering. Een van de aanwezige suikerfabrikanten bracht hem hulde voor de geregelde rapporten met de uitgewerkte gegevens en cijfers betreffende de fabricage gedurende de campagne.

Verschillende bijzondere verschijnselen werden besproken o.a. het optreden van z.g. schieterssuikerbietenplanten, die reeds in het eerste jaar een zaadstengel vormen, waarbij de wortel houtig wordt en moeilijkheden veroorzaakt op het snijstation. Over dit verschijnsel, de oorzaak ervan en de middelen om het te beperken werd van gedachten gewisseld.

De voorzitter hield daarna een causerie over een hinderlijk verschijnsel, dat indertijd aan een centralen condensor in zijn fabriek werd waargenomen, n.l. een hevigen periodiek waarneembaren waterslag in de afvoerleiding van genoemden condensor. De oorzaak bleek te liggen in een opeenhopen van lucht. Een ontuchtigsbuis bracht de remedie van het euvel.

Over de resultaten, die de directeur van de Friesch-Groningsche in de afgelopen campagne met collactiviteit heeft bereikt, las de heer van der Hell, scheikundige aan de fabriek, een overzicht, opgesteld door den heer van Doormaal, die wegens ongesteldheid niet aanwezig kon zijn.

In de middagvergadering vond een nadere bespreking plaats van de resultaten, die men met collactiviteit kan bereiken. Zij zijn gunstig. De suikerfabriek Roosendaal zal er in de volgende campagne weer mee ontkleuren.

Verschillende vragen werden door de aanwezige deskundigen van de firma, die collactiviteit onder de aandacht van de practijk heeft gebracht, beantwoord.

TER BESPREKING ONTVANGEN BOEKEN.

(aanvragen te richten tot de redactie).

V. N. Ipatieff, Catalytic reactions at high pressures and temperatures. The Macmillan Co., New York, 1936, 785 pp., geb. \$ 7.50.

W. Spoon, Sawarie-noten uit Suriname. Ber. v. d. Afd. Handelsmuseum v. d. Kon. Ver. Koloniaal Instituut, Amsterdam, 1937, 24 pp., f 0.50.

W. Spoon, Java-kapok en de Nederlandsche markt. Ber. v. d. Afd. Handelsmuseum v. d. Kon. Ver. Koloniaal Instituut, Amsterdam, 1936, 8 pp., f 0.40.

E. C. J. Mohr, De bodem der tropen in het algemeen en die van Ned.-Indië in het bijzonder, deel II, derde stuk, Sumatra. Meded. v. d. Afd. Handelsmuseum v. d. Kon. Ver. Koloniaal Instituut, Amsterdam, 1937, 332 pp., 35 fig., f 3.—.

- R. Kremann und M. Pestemer, Zusammenhänge zwischen physikalischen Eigenschaften und chemischer Konstitution. Verlag Theodor Steinkopff, Dresden, 1937, 225 pp., RM. 16.—, geb. RM. 18.—.
- M. E. Stas, L. H. Louwe Kooijmans en J. J. v. IJssel, Onderzoek naar de aanwezigheid van fluor in het water in Nederland. Moorman's Periodieke Pers N.V., Den Haag, 1937, 28 pp.
- L. W. Janssen, Over mond- en klauwzeervirus II en III. Den Haag, Algem. Landsdrukkerij, 1936, 36 pp.
- D. M. Smith, Bibliography of literature on spectrum analysis, suppl. up to March 1935. British Non-Ferrous Metals Research Association, 1935, 20 pp.
- L. Eberlein, Die neueren Milchindustrien, 2. Aufl. Verlag Th. Steinkopff, Dresden, 1937, 135 pp., 35 fig., RM. 5.50, geb. RM. 6.50.
- A. Jouniaux, Argentométrie, Act. scient. et ind. Hermann & Cie., Paris, 1936, 27 pp., fr. 8.—.
- A. Jouniaux, Manganométrie et chromométrie, Act. scient. et ind. Hermann & Cie., Paris, 1936, 44 pp., fr. 10.—.
- A. Jouniaux, Iodométrie et arsenométrie, Act. scient. et ind. Hermann & Cie., Paris, 1936, 52 pp., fr. 12.—.
- R. Fabre, Toxiques minéraux, Phosphore acides et alcalis, Marche générale de l'expertise. Act. scient. et ind. Hermann & Cie., Paris, 1935, 52 pp., fr. 12.—.
- M. Simonovitch, Manuel de la cokerie moderne, tome I. H. Vaillant-Carmanne, S. A., Liège, 1937, 750 pp., 454 fig., fr. 740.—.

CORRESPONDENTIE, ENZ.

Men vraagt wie de uitgever is van de publicatie „Het vitaminiseeren van margarine“.

Gevraagde betrekkingen*) (plaatsing gratis voor leden).

No. 84. Chem. drs., 28 jaar, organicus en bacterioloog, laboratoriumpraktijk levensmiddelenonderzoek en chem.-pharm. industrie, zoekt betrekking.

No. 90. Chem. drs., bekend met levensmiddelenleer en bacteriologie, zoekt betrekking.

No. 243. Chem. drs. met goede talenkennis, bekend met geneesmiddelfabricage en bacteriologie, zoekt betrekking.

No. 255. Scheik. ing., diploma Delft, met ervaring in brandstoffschemie, zoekt betrekking.

No. 258. Chem. drs., bekend met levensmiddelenleer en bacteriologie, met goede talenkennis, zoekt betrekking.

No. 269. Chem. drs. (scheikunde, natuurkunde, microbiologie), 33 jaar, 7½ jaar werkzaam in de Java-suikerindustrie, zoekt verandering van positie (Indië of Nederland, eventueel ook buitenland).

VRAAG EN AANBOD.

Correspondentie wordt over deze rubriek niet gevoerd: de Redactie zendt alleen brieven door, waarvoor men porto insluit.

Ter overneming gevraagd:

Objectief-micrometer.
Oculair-micrometer met passend oculair.
Codex Alimentarius No. 6, suiker enz.

Ter overneming aangeboden:

Rec. trav. chim. 1927 t/m. 1933 geb. in orig. band.
Henrich, Theorien der org. Chem., 1924.
Curt Schmidt, Das per. System der Elemente, 1917.
Hans Euler, Allgemeine Chemie der Enzymen, 1910.
J. H. van 't Hoff, Die Lagerung der Atome im Raume, 1894.
Berthelot, Methodes de synthèse, 1864.
Franchimont, Organische chemie, 1881.
Findlay, Phase Rule, 1923.
Sommerfeld, Atombau und Spektrallinien, 1924.
A. Smits, Theorie der allotropie, 1921.

*) Brieven te richten tot de Chem. Arbeidsbeurs, 's-Gravenhage, Willem Witsenplein 6 (met ingesloten porto voor doorzending). Men wordt verzocht dadelijk bericht te zenden, indien de plaatsing niet meer noodig is.

- v. d. Waals—Kohnstamm, Lehrbuch der Thermo- und Kalorimetrie, deel I, 1927.
Kramers en Holst, Bouw der Atomen, 1927.
Fajans, Radioaktivität, 1922.
Heinz Ohle, Die Chemie der Monosaccharide und der Glykolise, 1931.
Fodor, Das Fermentproblem, 1929.
Shermann Smith, The Vitamines, 1931.
Ullmann's Enzyklopädie d. techn. Chemie, 1e uitg.
Chem. Weekblad 1917 t/m. 1919 geb., 1926 (los).
Ertsmolen voor handbedrijf, syst. Gruson met hartguss-schijven.
J. Inst. Metals 1917—1935.
J. Iron & Steel Institute 1880—1921.

De opgaaf van het aangeboden en gevraagde wordt driemaal geplaatst. Wenscht men daarna nog plaatsing, dan is daarvoor een nieuwe opgaaf noodig. Men wordt dringend verzocht, dadelijk kennis te geven, indien plaatsing niet meer noodig is.

INGEZONDEN.

In afl. 10 van het Chemisch Weekblad 1937, blz. 200, pleit Dr. C. W. Pohlmann voor het behoud van het woord „springstof“, dat in de lijst van barbarismen op blz. 112 is gebrandmerkt.

En dat terwijl toch dit woord een der afschuwelijkste taalgruwelen is, te vergelijken met het soms voor prentbriefkaarten gebruikte woord „aangezicht“ als verbastering van „Ansicht“.

Men had beter het Duitsche woord „Sprengstoff“ onvertaald kunnen overnemen; dat zou zelfs nog eer als Nederlandsch te aanvaarden zijn geweest (denk aan drenken naast drinken), dan een vertaling van het overgankelijke werkwoord sprengen door het onovergankelijke springen.

Maar wat voor bezwaar is er tegen het gebruik van het woord ontploffingsmiddelen ter aanduiding van die ontplofbare stoffen, welke vernielend werken?

Bij het woord ontploffing denken we immers onmiddellijk aan vernieling, aan een ramp? En spreken we over het verschijnsel zelf, los van de uitwerking, dan zijn we toch meer geneigd tot gebruik van de woorden explosie, explodeeren, explosief?

Het lijkt me dus voor de hand te liggen, dat men onderscheidt voortdrijvende en vernielende ontplofbare stoffen en de laatste met het typeerende woord ontploffingsmiddelen aanduidt.

Deze beschouwing over het gebruik van het Nederlandsche woord ontploffen brengt me op het niet minder Nederlandsche woord ontsluiten, geen germanisme, dat de commissie in den ban wil doen voor een bepaalde analytisch-chemische bewerking, die er kernachtig door pleegt te worden aangeduid.

Wat ervoor in de plaats wordt aanbevolen, oplosbaar maken, is ongetwijfeld zuiver Nederlandsch, maar het is chemisch onjuist.

Van oplosbaar maken kan men spreken, wanneer de stof dezelfde blijft en alleen de eigenschappen veranderen. Neem b.v. gele en roode phosphorus.

Tegen „oplosbaar maken van zetmeel“ zou men misschien reeds bezwaar kunnen maken, als men het beschouwt als eersten trap van de afbraak over dextrine naar druivensuiker. Maar niemand zal zeggen, dat een glucosefabriek een fabriek is, waar men zetmeel oplosbaar maakt!

En bij het ontsluiten van silicaten hebben we zelfs nog niet te maken met afbraak, maar met chemische omzettingen door behandeling met andere stoffen, waaruit we ten slotte, door inwerking van verdund zoutzuur, komen tot een oplossing van nog weer andere stoffen. Wie geen scheikunde kent, begrijpt natuurlijk niet, wat wij met „ontsluiten“ bedoelen. Spreken we van oplosbaar maken, dan meent hij het te begrijpen, maar weet er evenmin iets van. Ieder vak, ieder ambacht heeft nu eenmaal zijn technische termen, die den buitenstaander niets zeggen, hoewel ze zuiver Nederlandsch zijn en wellicht reeds eeuwen oud. Zelfs de professor in het Nederlandsch, die voor liefhebberij tuiniert, zal niet begrijpen, wat hij moet denken van het „enten“ van een oververzadigde oplossing.

In de lijst staan meer van die vertalingen, waarbij de wezenlijke bedoeling van woord of uitdrukking teloor is gegaan bij het streven om voor den buitenstaander begrijpelijk te zijn. Een „terugvloeiakoeler“ is niet identiek met een rechtopstaanden koeler, die ook wel kan dienen, om er door af te destilleeren, terwijl het wezenlijke is, dat men de ontwikkelende dampen van het oplosmiddel verdicht en daarna terugleidt.

Taalzuivering mag nooit taalverarming worden!

H. D. STEENBERGEN.

Economische Berichten.

Nadere inlichtingen verstrekt het Bureau der Vereeniging van de Nederlandsche Chemische Industrie, Laan Copes van Cattenburch 16, den Haag.

Estland.

Verkoopsvoorschriften voor cosmetica en azijnzuur. De raad van toezicht voor het apothekerswezen bij het Ministerie voor Sociale Zaken maakt alle bevoegde verkoopersinstanties er op attent, dat de verkoop en het in voorraad houden van eau de cologne en andere cosmetica in onverpakte vorm verboden is. Evenzoo mag azijn en azijnzuur zonder toestemming niet los verkocht worden. De vaten, waarin laatstgenoemde producten verkocht worden, moeten voorzien zijn van de aanduiding van de firma, het juiste nettogewicht en de concentratie der oplossing.

Frankrijk.

Verandering in het invoertarief. „Saponitaire Twitchel” (een mengsel van sulfo-oliezuren en sulfo-ricinuszuren) ressorteert niet meer onder Pos. 0381 (invoerrecht 17.1 % van de waarde) maar onder Pos. 111ter (invoerrecht volgens het minimale tarief fr. 86 per 100 kg br.).

Letland.

Vertegenwoordiging. In de bepalingen der wet betreffende den importhandel en vertegenwoordigers van buitenlandse firma's wordt in de alinea, welke de vertegenwoordiging van buitenlandse huizen behandelt, gemeld, dat aanvragen tot het verkrijgen van het recht tot vestiging eener vertegenwoordiging, ingediend moeten worden bij het Departement van Handel en Nijverheid, onder overlegging van gegevens omtrent de vertegenwoordiging en den aard van de desbetreffende artikelen. Wanneer meer buitenlandse huizen vertegenwoordigd worden, moet voor elk geval een apart verzoekschrift ingediend worden (kosten 10 Ls. per stuk). De toestemming zelf kost, eenmaal voor alle vertegenwoordigingen, 10 Ls. Buitenlandse handelsreizigers, welke, ingevolge art. 2 van de wet betreffende de buitenlandse handelsreizigers, belasting betaald hebben, behoeven bovengenoemde toestemming niet aan te vragen. Vertegenwoordigers, welke het recht tot vertegenwoordiging van buitenlandse huizen vóór de afkondiging van de wet verkregen hebben, moeten hun verzoeken binnen 4 maanden na het in werking treden der wet ingediend hebben. Deze termijn loopt 18 April a.s. af.

Mexico.

Verandering in het invoerrecht van natronloog. Het invoerrecht van natronloog (Pos. 61.12) is verhoogd van 0.08 op 0.10 Pesos per kg bruto.

Oostenrijk.

Veranderingen in het invoerrecht. In het invoertarief zijn o.a. de volgende wijzigingen aangebracht:

Vitaminehoudende melkpoeder met een proteïne-gehalte van 36 %, als voedingsmiddel voor honden, ressorteert als zoodanig onder Pos. 107g (invoerrecht 120 Kr. per 100 kg bruto), als geneesmiddel evenwel onder Pos. 513 (invoerrecht 50 Kr. per 100 kg bruto).

Reinigingsmiddel, een bruine, heldere, visceuse vloeistof, bestaande uit een mengsel van ammoniakzeep, ammoniak en 40 % terpentijnolie, ressorteert onder Pos. 120c (60 Kr. per 100 kg).

Boteraroma, diacetyl, ressorteert onder Pos. 509k 1 (200 Kr. per 100 kg).

Textielhulpmiddelen, een bruine, troebele, visceuse vloeistof, bestaande uit een waterige kalizeepoplossing met een gehalte aan glycerine van 6 %, ressorteert onder Pos. 511a (invoerrecht 10 % van de waarde).

Alcoholisch knoflookextract met ca. 10 vol.-% alcohol ressorteert onder Pos. 513 (50 Kr. per 100 kg) aangezien een dergelijk product alleen voor pharmaceutische doeleinden gebruikt wordt.

Emulsies van aetherische oliën met geringe hoeveelheden van sinaasappel- en citroenschillen en water, gekleurd met teer-kleurstof en met een alcoholgehalte van ca. 3 %, volgens Pos. 518a (500 Kr. per 100 kg).

Voorts ontvingen wij van den Economischen Voorlichtingsdienst van het Departement van Handel, Nijverheid en Scheepvaart de volgende berichten:

Chili.

Vertegenwoordiging voor den verkoop van verf en cement. Een te Santiago gevestigde firma wenscht voor een Nederlandsche firma op te treden als vertegenwoordiger voor den verkoop van droge verven en cement.

Het Bureau van de Vereeniging van de Nederlandsche Chemische Industrie, Laan Copes van Cattenburch 16, den Haag, verstrekt inlichtingen omtrent de afzetmogelijkheden van verfstoffen in Chili.

Cuba.

Invoerrechten op plantaardige oliën. In het invoerregiem zijn de volgende veranderingen gebracht:

a. *Ruwe plantaardige oliën.* Katoenzaad-, soja- en maïsolie: invoerrecht verhoogd van \$ 3.— op \$ 20.— per 100 kg; andere oliën, niet afzonderlijk genoemd (dus geen cocos-, palm-, olijf-, lijn- en Chineesche houtolie): invoerrecht verhoogd van \$ 4.30 op \$ 25.— per 100 kg.

b. *Geraffineerde plantaardige oliën.* Katoenzaad-, soja- en maïsolie: invoerrecht verhoogd van \$ 4.30 op \$ 25.— per 100 kg; plantaardige oliën, niet elders vermeld, andere dan katoenzaad-, maïs-, soja- en olijfolie: invoerrecht verhoogd van \$ 5.75 op \$ 30.— per 100 kg.

De invoeren uit de Vereenigde Staten en Spanje zijn van deze verhooging vrijgesteld. Bovendien is nog een toeslagrecht ingesteld van 3 % voor het wegefonds, terwijl eetbare oliën nog belast worden met een accijns van 1 dollarcent per lb.

Alleen bij verpakking van blikken in kisten wordt de tarra van 10 % toegestaan.

Engeland.

Verhooging van het invoerrecht op kalium- en natriumferrocyanide? Bij de Import Duties Advisory Committee zijn aanvragen binnengekomen tot verhooging van de invoerrechten op kalium- en natriumferrocyanide.

Geharde walvischtraan wederom aan invoerrecht onderhevig? Bij de Commissie van Advies van de Invoerrechten is een voorstel ingediend om geharde walvischtraan af te voeren van de lijst van goederen, welke vrij ingevoerd kunnen worden, en zoodoende aan invoerrecht te onderwerpen.

Frankrijk.

Veranderingen in het invoertarief. Bij het Bureau van de Vereeniging van de Nederlandsche Chemische Industrie, Laan Copes van Cattenburch 16, Den Haag, liggen voor belanghebbenden ter inzage de veranderingen in het invoerrecht van *siccativeën voor drukinkt, oplosmiddelen uit amyl- en butylalcohol en amyl- en butylacetaat en producten voor het behandelen en onderhouden van leer.*

Propaganda voor Nederlandschen export. De te Straatsburg gevestigde „Groupement des Importeurs de l'Est-Grimal”, omtrent welke organisatie gunstige inlichtingen werden verkregen, verzoekt toezending van drukwerk en propagandamateriaal, ten einde haar leden over die artikelen, welke Nederland naar Frankrijk exporteert, volledig te kunnen inlichten. Nederlandsche fabrikanten (c.q. exporteurs), die belang hebben bij den export naar Frankrijk, worden verzocht drukwerk en propagandamateriaal in tweevoud franco te zenden aan het Bureau van de Vereeniging van de Nederlandsche Chemische Industrie, Laan Copes van Cattenburch 16, den Haag, welke voor de verdere verzending zal zorgdragen.

Griekenland.

Viseeren van facturen. Door het Grieksche Ministerie van Buitenlandse Zaken is opdracht gegeven, om het viseeren van de facturen, behorende bij zendingen naar Griekenland, door de consulaten gratis te doen geschieden.

Tsjecho-Slowakije.

Certificaten van oorsprong. Ingevolge een verordening van 4 Maart j.l. dient bij de aangifte voor de statistiek bij enkele artikelen, o.a. palmolie en vetten, te worden overgelegd een certificaat van oorsprong, hetwelk gevisceerd is door Tsjecho-slowaaksche consulaire ambtenaren. Deze bepaling, welke op 1 Mei a.s. in werking treedt, is ingevoerd, om met het oog op de te voeren handelspolitiek juist gedocumenteerd te zijn t.a.v. de uit dit land ingevoerde hoeveelheden. Bij verscheppingen uit overzeesche gewesten via Europeesche havens, heeft het gemis aan certificaten van oorsprong veelal aanleiding gegeven tot een onjuiste opgave van het land van herkomst.