

(Aus der Biochemischen Forschungsabteilung des Instituto Pinheiros.  
Vorstand: Priv.-Doz. Dr. *D. v. Klobusitzky*, São Paulo, Brasilien.)

## **Beitrag zur Identifizierung von Schlangengiften für gerichtlich-medizinische Zwecke.**

Von  
**D. von Klobusitzky.**

In Zusammenhang mit einem polizeilich-strafrechtlichen Verfahren wurden in der Wohnung des Verdächtigen verschiedene, mit schlangengiftähnlichen Substanzen gefüllte Phiolen, die mit Namen brasilianischer Schlangengifte bezeichnet waren, gefunden. Da ein wohlbegründeter Verdacht bestand, daß die gefundenen Phiolen widerrechtlich aus dem Instituto Butantan entwendet waren, und der Verdächtige vorgab, die Gifte während einer Nordamerikareise gesammelt bzw. als Geschenk bekommen und die Phiolen irrtümlich beschriftet zu haben, wurden die Gifte zwecks Identifizierung uns übergeben. Da — wenigstens unseres Wissens nach — bis jetzt über Identifizierung von Schlangengiften nichts veröffentlicht wurde, haben wir uns entschlossen, über unsere, der zuständigen Stelle gegenüber geäußerte Meinung und über die Untersuchungen, die als Grundlage derselben dienen, an dieser Stelle zu berichten.

Die beschlagnahmten Phiolen waren folgenderweise bezeichnet: *Bothrops atrox*, *B. alternata*, *B. jararacussu* und *Crotalus terrificus*. Da — wie oben erwähnt — der Verdächtige behauptete, die Phiolen unrichtig bezeichnet und in denselben mittel- bzw. nordamerikanische Schlangengifte aufbewahrt zu haben, handelte es sich darum, die beschlagnahmten Gifte zu identifizieren und ihren mittel- bzw. nordamerikanischen Ursprung auszuschließen. In diesem Fall konnte eine chemische Untersuchung keine Verschiedenheiten zutage fördern, wohl deshalb nicht, weil alle Schlangengifte eigentlich Sekrete der besonders differenzierten Speicheldrüsen (*Glandulae supralabiales*) sind. Die diesbezüglichen älteren und neueren Untersuchungen (1—5) haben immer bestätigt, daß sowohl der Gehalt an N als auch an S oder an lipoidähnlichen Substanzen, sowie an Salzen in allen Schlangengiften mehr oder minder der gleiche ist und den Schwankungen keine Spezifitätsbedeutung zugeschrieben werden kann. Aus der Zusammenstellung, die wir nachstehend geben, tritt die Unbrauchbarkeit der chemischen Analyse der Schlangengifte für gerichtlich-medizinische Zwecke besonders hervor.

Tabelle 1. Zusammensetzung verschiedener Schlangengifte in Prozent.

	H <sub>2</sub> O	Asche	Ges.-N	Alb.-N	Glob.-N	R.-N	S	Äther-extr.	Albumose-Pepton-N	Verfasser	
<i>B. alternata</i>	7,6	5,05	14,6	9,59	4,35	0,66	2,57	—	—	} <i>Merchante</i> <sup>2</sup>	
<i>B. atrox</i>	8,82	3,22	14,8	9,77	4,19	0,84	1,96	—	—		
<i>B. jararacussu.</i>	8,04	3,73	13,9	9,16	3,95	0,79	1,41	—	—		
<i>Crotalus t. t.</i>	5,23	4,07	13,4	9,60	3,28	0,52	—	—	—		
<i>B. neuwiedii</i>	4,77	4,58	14,1	8,80	4,62	0,68	1,99	—	—		
<i>B. jararaca</i>	7,17	5,0	14,5	8,96	5,17	0,37	2,39	—	—		
<i>B. jararaca</i>	6,80	4,44	13,56	—	—	—	—	5,30	—		<i>v. Klobusitzky</i> <sup>3</sup>
<i>V. russellii</i>	4,62	4,40	14,7	8,83	5,09	0,78	2,18	—	—		<i>Merchante</i> <sup>2</sup>
<i>V. russellii</i>	—	—	15,5	3,54	3,74	—	—	2,8	8,08		<i>Ganguly-Malkana</i> <sup>4</sup>
<i>N. naia</i>	8,01	3,20	—	—	—	—	3,60	—	—		<i>Merchante</i> <sup>2</sup>
<i>N. naia</i>	—	—	14,01	6,34	3,25	1,05	—	—	4,50	<i>Ganguly-Malkana</i> <sup>5</sup>	

Das gleiche gilt, was die UV.-Absorptionsspektren der verschiedenen Schlangengifte anbelangt. Diesbezügliche ausgedehnte Untersuchungen liegen besonders von *Holden* vor, und aus seinen nachstehend auszugsweise wiedergegebenen Ergebnissen geht deutlich hervor, daß man sich bei der Identifizierung von derartigen Giften auf diese physikalische Untersuchung auch dann nicht, wenn man vorbehandelte Giftlösungen benützt, stützen kann<sup>6, 7</sup>. Die Unzuverlässigkeit der durch die Absorptionsanalyse gelieferten Daten ist leicht zu verstehen. Abgesehen nämlich von der in Südbrasilien heimischen Varietät der südamerikanischen Klapperschlange (*Crotalus terrificus terrificus* var. *collilineatus*), deren

 Tabelle 2. Die UV.-Absorptionsspektren einiger nord-, mittel- und südamerikanischer Schlangengifte (nach *Holden* und *Setter*<sup>5</sup>).

Zoologischer Name der Schlange	Vulgärer Name der Schlange	Heimat	Maximum ν 10 <sup>-12</sup>	ε	Minimum ν 10 <sup>-12</sup>	ε
<i>Crotalus adamanteus</i>	Rautenklapperschlange	Nord-Am.	1073	1,8	1187	1,26
<i>C. atrox</i>	Texasklapperschlange	desgl.	1075	1,54	1180	1,12
<i>C. c. confluentes</i>	Prärieklapperschlange	desgl.	1078	1,75	1189	1,15
<i>C. confluentes</i>						
<i>C. oregonus</i>	Pazifikklapperschlange	desgl.	1088	2,07	1183	1,65
<i>C. horridus</i>	Waldklapperschlange	desgl.	1079	1,5	1197	0,82
<i>Agkistrodon piscivorus</i>	Wassermokkassin	desgl.	1078	1,4	1187	1,075
<i>Sistrurus catenatus</i>	Massasanga	desgl.	1079	1,32	1186	0,82
<i>Bothrops atrox</i>	Lanzenschlange	Mittel- u. Süd-Am.	1075	1,5	1181	1,15
<i>B. neuwiedii</i>	Weißschwänzige Schararaka	desgl.	1090	1,2	1165	1,0
<i>Crotalus t. terrificus</i>	Tropische Klapperschlange	desgl.	1073	1,59	1180	1,38

getrocknetes Gift farblos ist, sind alle Schlangengifte mehr oder minder gelblich<sup>8</sup> und die Intensität ihrer Farbe nimmt mit der Zeit bedeutend zu.

In Anbetracht dieser Schwierigkeiten haben wir uns für die Durchführung von biologischen Untersuchungen entschlossen. Um möglichst sicheren Anhaltspunkt bekommen zu können, hat uns die zuständige Behörde authentische Proben einer jeden der zu untersuchenden Giftart zur Verfügung gestellt, wobei das Alter der beschlagnahmten Gifte auf Grund der Aussagen des Verdächtigen berücksichtigt wurde\*. Das angebliche *Crotalus*-Gift wurde auf seine neurotoxische, gerinnungsfördernde und immunologische Eigenschaft geprüft\*\*, mit den anderen Giftarten wurden die folgenden Versuche durchgeführt: a) Bestimmung der neurotoxischen, b) der gerinnungsfördernden Wirkung, c) Feststellung der lokalen Reaktion, d) des Verhältnisses zwischen neurotoxischer und gerinnungsfördernder Eigenschaft, e) Prüfung der immunologischen Beschaffenheit mittels homologer und heterologer Antisera, f) Prüfung der Hitzeempfindlichkeit, sowohl was neurotoxische als auch was gerinnungsfördernde Fähigkeit anbelangt.

Da in bezug auf Schlangengifte bzw. Schlangengift-Antisera bis jetzt keine internationalen Normen und Standardverfahren festgesetzt wurden, haben wir beschlossen, teilweise die in den brasilianischen Serum-instituten verwendeten, teilweise von *König* und uns früher ausgearbeiteten Methoden anzuwenden. Da diese Verfahren außerhalb des Kreises der engsten Fachgenossen als wenig bekannt anzusehen sind, möchten wir dieselben — bevor wir auf die Wiedergabe unserer Versuchsprotokolle übergehen — etwas ausführlicher beschreiben.

### Methodik.

#### a) Bestimmung der neurotoxischen Wirkung.

Die neurotoxische Wirkung eines Schlangengiftes wird im allgemeinen durch Einspritzung verschiedener Giftmengen einer bestimmten Tierart und unter Festlegung einer bestimmten Frist, innerhalb deren das Tier eingehen muß, festgesetzt. Der Wert der neurotoxischen Wirkung wird wiederum durch die Angabe der kleinsten tödlichen Dosis

\* Angeblich waren sämtliche beschlagnahmten Gifte über 10 Jahre alt, und besonders die der *Bothrops*-Arten verlieren mit der Zeit sehr, sowohl an ihrer neurotoxischen als auch an ihrer gerinnungsfördernden Wirksamkeit. So hat z. B. das frisch ausgepreßte und getrocknete Gift der *Bothrops jararaca* eine k.t.D. (siehe weiter unten) zwischen 0,02—0,04 mg, nach 5—10 Jahren sinkt dieselbe auf 0,26—0,27 mg herunter. Wird das Gift in fein gepulvertem Zustand aufbewahrt, so kann die k.t.D. sogar auf 0,6 mg heruntergehen (3,8).

\*\* Die k.t.D. der brasilianischen Klapperschlange ist so gering (0,001 bis 0,002 mg), daß diese von keiner anderen amerikanischen Giftart nicht einmal annähernd erreicht wird, was die Möglichkeit bietet, allein auf Grund der Farblosigkeit und der k.t.D. dieses Gift zu identifizieren.

in Milligramm Gift ausgedrückt. Wir benützen hierzulande, auf Vorschlag von *Brazil*<sup>9</sup>, Tauben von 300—350 g, und das Gift wird immer intravenös (in die Flügelvene) injiziert, die Fehlergrenze dieser Methode geht nicht über 5% hinaus. Für die *Crotalus*-Arten wird als kleinste tödliche Dosis (k.t.D.) diejenige geringste Menge angenommen, welche das Tier innerhalb von 12—24 Stunden tötet, und für die *Bothrops*-Arten diejenige, welche den Tod innerhalb von 20 Minuten herbeiführt\*.

*b) Bestimmung der gerinnungsfördernden Wirkung.*

Viele der genauer untersuchten Schlangengifte besitzen die Fähigkeit, die Gerinnung des normalen oder decalcinierten Blutes zu beschleunigen bzw. herbeizuführen. Diese, kurz gerinnungsfördernde Fähigkeit genannte Eigenschaft haben unter anderen die Giftarten, die bei diesen Untersuchungen in Frage kamen. Wir haben die diesbezüglichen Proben nach der von uns ausgearbeiteten Technik<sup>8</sup> durchgeführt. Nach dieser Methode fügt man zu 5 ccm 0,3% (COONa)<sub>2</sub>-haltigem normalem Pferdeblut 1 ccm der zu untersuchenden Lösung und bestimmt mit Hilfe einer Stoppuhr die Zeit der vollkommenen Gerinnung. Unter der letzteren wird derjenige Zustand verstanden, in dem das Blut in der Epruvette einen einzigen, festen Klumpen bildet.

*c) Feststellung der lokalen Reaktion.*

Diese Probe dient, um die in gewissen Schlangengiften vorhandenen Hämorrhagie nachzuweisen. Als Testobjekt kann eigentlich jede beliebige Art von Laboratoriumstieren dienen. Wir haben Tauben benützt, denen wir 1 ccm einer subletalen Dosis in die Brustmuskulatur eingespritzt haben, um nachher die Unterhautblutungen feststellen zu können.

*d) Feststellung des Verhältnisses zwischen neurotoxischer und gerinnungsfördernder Eigenschaft.*

Verschiedene, von *König* und uns durchgeführte und bis jetzt nur teilweise veröffentlichte Versuche<sup>10</sup> haben bewiesen, daß sich — durch die Festsetzung eines Verhältnisses zwischen neurotoxischer und gerinnungsfördernder Eigenschaft — eine für die Giftart bis zu einem gewissen Grad charakteristische Konstante ermitteln läßt. Zu diesem Zweck haben wir eine sog. gerinnungsfördernde (g.f.) Einheit gewählt<sup>11</sup>

\* Die Angehörigen anderer Tierarten weisen eine größere Schwankung in der individuellen Empfindlichkeit auf. Die intravenöse Einspritzung wurde in erster Linie für die Feststellung der immunologischen Bindung ausgearbeitet. Wenn man mehrere Tiere mit der gleichen Menge injiziert und eine längere Zeitspanne wählt (z. B. 12—24 Stunden), so kann man auch durch Verwendung von weißen Mäusen innerhalb einer Fehlergrenze von 10% bleiben.

und bestimmt, wieviel k.t.D. einer g.f. Einheit entsprechenden Menge des betreffenden Giftes enthalten ist. Als g.f. Einheit wählten wir diejenige geringste Menge des Giftes, welche, in 1 ccm physiol. NaCl-Lösung enthalten, die vollständige Gerinnung von 5 ccm eines 0,3% (COONa)<sub>2</sub>-haltenden Pferdeblutes eben in 5 Minuten herbeizuführen vermag.

*e) Prüfung der immunologischen Bindung.*

Aus zahlreichen älteren<sup>12</sup> und neueren<sup>13-22</sup> Arbeiten geht die fast ganz strenge Spezifität der immunologischen Bindung der Schlangengifte hervor. Heterologe Antisera neutralisieren die Schlangengifte nur sehr unvollkommen, d. h. nur in einem viel geringeren Maße als das homologe Gift oder überhaupt nicht. Zwecks Bestimmung des Bindungsvermögens haben wir das von *Brazil*<sup>9</sup> ausgearbeitete Verfahren befolgt. Dieses besteht darin, daß man aus dem betreffenden Gift mit physiol. NaCl eine 0,40proz. Lösung bereitet und zu 1 ccm des zu prüfenden Serums davon wechselnde Mengen, höchstens aber 1 ccm gibt bzw. das Volumen des Gemisches mittels physiol. NaCl-Lösung auf 2 ccm ergänzt, schließlich wird die Gesamtmenge des Gemisches nach  $\frac{1}{2}$ stündigem Stehen bei 37° Tauben in die Flügelvene injiziert. Als Maß der Bindung betrachtet man diejenige höchste Giftmenge, die von dem Tier noch vertragen wird.

*f) Prüfung der Hitzeempfindlichkeit.*

Durch Erwärmen oder Aufkochen verlieren die Schlangengifte ihre neurotoxischen und sonstigen Eigenschaften, und da die Inaktivierungstemperatur der verschiedenen Giftarten nicht ganz dieselbe ist, außerdem existieren viele Giftarten, die in bezug auf ihre einzelnen toxiologisch, physiologisch oder pharmakologisch wirksamen Bestandteile verschiedene Inaktivierungstemperaturen aufweisen, ist die Feststellung diesbezüglicher Daten bei der Identifizierung von Schlangengiften in manchen Fällen verwertbar. Diese Bestimmungen wurden folgenderweise durchgeführt: 0,10proz., 0,9proz. NaCl-haltige Giftlösungen wurden 15 Minuten mit Hilfe eines Wasser- oder Ölbadens auf einer bestimmten Temperatur gehalten und nachher im Eiswasser rasch abgekühlt. Aus der Lösung wurden — zwecks Bestimmung der neurotoxischen Wirkung — 2 ccm, also 2 mg einer Taube intravenös verabreicht. Weiter wurde mittels der früher erwähnten Methode die gerinnungsfördernde Fähigkeit bestimmt, wobei aber — mit Rücksicht darauf, daß noch sehr geringe Mengen der Giftkomponente das Oxalatblut in einigen Stunden zur Gerinnung zu bringen imstande sind — nur diejenige Gerinnung als positives Resultat betrachtet wurde, die innerhalb von 30 Minuten erfolgte.

**Experimenteller Teil\*.**

**1. Versuche mit Klapperschlangengift.**

*a) Bestimmung der k.t.D.*

Konzentration der Stammlösung: 0,10%. *Crotalus t. terrificus-X.*

Verdünnung 1:1000.

Injizierte Menge		Zeitpunkt der Injektion	Verlauf
in cem	in mg		
1,0	0,01	10 Uhr 3 Min.	Eingegangen zwischen 12 und 13 Uhr Verdünnung 1:5000.
0,5	0,001	11 Uhr 5 Min.	Am nächsten Tag krank, später erholt sich Nachtsüber eingegangen
1,0	0,002	11 „ 6 „	
Verdünnung 1:10000.			
1,0	0,001	11 Uhr 7 Min.	Keine Symptome
1,5	0,0015	11 „ 8 „	Abends krank, später erholt sich
2,0	0,002	11 „ 10 „	Nachtsüber eingegangen

Ergebnis: k. t. D. = 0,002 mg/Taube.

*b) Bestimmung der gerinnungsfördernden Wirkung*

*Crotalus t. terrificus-X.*

*Crotalus t. terrificus.*

Nr. des Röhrchens	Menge des Giftes in mg	Gerinnungszeit	Nr. des Röhrchens	Menge des Giftes in mg	Gerinnungszeit
1	5,0	2 Min. 50 Sek.	1	5,0	2 Min. 15 Sek.
2	2,5	2 „ 34 „	2	2,5	2 „
3	1,25	4 „ 20 „	3	1,25	4 „
4	0,62	8 „ 4 „	4	0,62	7 „
5	0,31	15 „	5	0,31	12 „ 30 Sek.

*c) Bindung durch brasilianisches Crotalus-Antiserum.*

Das verwendete Serum neutralisierte pro Kubikzentimeter — laut Beschriftung der Ampulle — 2,0 mg Gift der *Crotalus t. terrificus*. Das Gift wurde in 1,0proz. Lösung verwendet.

*Crotalus t. terrificus-X.*

Nr. des Ge- mischtes	Das Gemisch enthält			Zeitpunkt der Injektion	Verlauf
	Gift	Serum	Phys. NaCl		
1	0,2	1,0	0,8	10 Uhr 13 Min.	Keine Symptome
2	0,25	1,0	0,75	10 „ 15 „	Keine Symptome
3	0,4	1,0	0,6	10 „ 17 „	Eingegangen 15 Uhr 30 Min.

\* Die beschlagnahmten Giftarten sind mit einem nach dem Namen hinzugefügten X gekennzeichnet. Die übrigen Gifte sowie die brasilianischen Antisera wurden uns — wie erwähnt — von der Behörde zur Verfügung gestellt.

Ergebnis: Sämtliche 3 Proben sprechen eindeutig dafür, daß das beschlagnahmte Gift nur das der *Crotalus t. terrificus* sein kann. Die Behörde wurde in gleichem Sinn unterrichtet.

## 2. Versuche mit Bothrops-Giften.

### a) Bestimmung der k.t.D.

Konzentration der Stammlösungen: 0,10%. *Bothrops alternata*-Brasilien.

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

Injizierte Menge		Zeitpunkt der Injektion	Verlauf
in ccm	in mg		
1,0	0,2	10 Uhr 32 Min.	Tod in 2 Min. 30 Sek.
0,4	0,08	10 „ 58 „	Erholt sich
0,5	0,10	10 „ 59 „	Tod in 5 Min.

Verdünnung 1:50. 1 ccm = 0,02 mg.

2,0	0,04	10 Uhr 39 Min.	Leichte Symptome
3,0	0,06	10 „ 49 „	Schwere Symptome, erholt sich

Ergebnis: k.t.D. = 0,10 mg/Taube.

### *Bothrops alternata*-Argentinien.

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

1,0	0,2	10 Uhr 33 Min.	Tod in 3 Min.
-----	-----	----------------	---------------

Verdünnung 1:50. 1 ccm = 0,02 mg.

2,0	0,04	10 Uhr 41 Min.	Tod in 8 Min.
1,5	0,05	10 „ 42 „	Schwere Symptome, erholt sich

Ergebnis: k.t.D. = 0,04 mg/Taube.

### *Bothrops alternata*-X.

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

0,5	0,1	16 Uhr 12 Min.	Leichte Symptome
0,7	0,14	16 „ 14 „	Schwere Symptome
1,0	0,2	16 „ 30 „	Tod in 24 Min.
2,5	0,5	16 „ 57 „	Tod in 3 Min.

Ergebnis: k.t.D. = 0,2 mg/Taube.

### *Bothrops atrox*-Brasilien.

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

0,5	0,10	15 Uhr 56 Min.	Tod in 3 Min.
-----	------	----------------	---------------

Verdünnung 1:25. 1 ccm = 0,04 mg.

1,0	0,04	16 Uhr 19 Min.	Tod in 17 Min.
0,8	0,032	16 „ 26 „	Schwere Symptome, erholt sich

Ergebnis: k.t.D. = 0,04 mg/Taube.

### *Bothrops atrox*-Costa Rica.

Verdünnung 1:10. 1 ccm = 0,1 mg.

1,0	0,1	15 Uhr 35 Min.	Tod in 10 Min.
0,8	0,08	15 „ 46 „	Tod in 30—40 Stunden
0,5	0,5	15 „ 49 „	Leichte Symptome, erholt sich

Ergebnis: k.t.D. = 0,08 mg/Taube.

*Bothrops atrox-X.*

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

Injizierte Menge		Zeitpunkt der Injektion	Verlauf
in ccm	in mg		
0,5	0,1	10 Uhr 20 Min.	Leichte Symptome, erholt sich
1,0	0,2	10 „ 30 „	Leichte Symptome, erholt sich
1,4	0,28	10 „ 7 „	Schwere Symptome, erholt sich
1,8	0,36	10 „ 8 „	Schwere Symptome, erholt sich

Unverdünnt. 1 ccm = 1,0 mg.

0,5	0,5	10 Uhr 27 Min.	Tod in 4 Min.
0,4	0,4	10 „ 28 „	Tod in 12 Min.

Ergebnis: k.t.D. = 0,4 mg/Taube.

*Bothrops jaracacussu-Brasilien.*

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

0,5	0,1	16 Uhr 3 Min.	Tod in 3 Min.
-----	-----	---------------	---------------

Verdünnung 1:25. 1 ccm = 0,04 mg.

1,5	0,06	16 Uhr 56 Min.	Tod in 7 Min.
1,3	0,052	17 „ 8 „	Leichte Symptome, erholt sich

Ergebnis: k.t.D. = 0,06 mg/Taube.

*Bothrops jararacussu-X.*

Verdünnung 1:5. 1 ccm = 0,2 mg.

0,5	0,1	10 Uhr 19 Min.	Tod in 14 Min.
1,0	0,2	10 „ 29 „	Tod in 6 Min.

Verdünnung 1:25. 1 ccm = 0,04 mg.

2,0	0,08	10 Uhr 37 Min.	Schwere Symptome, erholt sich
-----	------	----------------	-------------------------------

Ergebnis: k.t.D. = 0,1 mg/Taube.

b) *Nachweis der lokalen Reaktion.*

Von jedem Gift wurde eine der k.t.D. entsprechende Menge intramuskulär eingespritzt\* und die Tauben nach 24 Stunden untersucht. Alle Tiere, ohne Ausnahme, wiesen starke Unterhautblutungen auf, so daß die Anwesenheit von Hämorrhaginen in sämtlichen Giftarten als erwiesen betrachtet werden mußte.

c) *Bestimmung der gerinnungsfördernden Wirkung.*

Konzentration der Stammlösungen 0,1%.

Nr. des Röhrechs	Menge des Giftes in mg	Gerinnungszeit	Nr. des Röhrechs	Menge des Giftes in mg	Gerinnungszeit
<i>Bothrops alternata-Brasilien.</i>			<i>Bothrops alternata-Brasilien.</i>		
1	1,0	1 Min. 3 Sek.	4	0,125	2 Min. 15 Sek.
2	0,5	1 „ 14 „	5	0,062	3 „ 50 „
3	0,25	1 „ 43 „	6	0,031	5 „ 30 „

\* Diese Menge war also in dieser Verabreichungsform subletal.



Nr. des Röhrchens	Menge des Giftes in mg	Gerinnungszeit	Nr. des Röhrchens	Menge des Giftes in mg	Gerinnungszeit
<i>Bothrops alternata</i> -Argentinien.			<i>Bothrops atrox</i> -X.		
7	1,0	57 Sek.	25	1,0	1 Min. 55 Sek.
8	0,5	1 Min. 12 „	26	0,5	2 „ 50 „
9	0,25	1 „ 40 „	27	0,25	5 „ 40 „
10	0,125	2 „ 5 „	28	0,125	8 „ 10 „
11	0,062	2 „ 30 „	29	0,062	10 „ 20 „
12	0,031	6 „ 5 „	30	0,031	20 „
<i>Bothrops alternata</i> -X.			<i>Bothrops jaracacussu</i> -Brasilien.		
13	1,0	3 Min.	31	1,0	1 Min. 10 Sek.
14	0,5	3 „	32	0,5	1 „ 40 „
15	0,25	4 „ 36 Sek.	33	0,25	2 „ 30 „
16	0,125	6 „ 40 „	34	0,125	2 „ 35 „
17	0,062	14 „ 40 „	35	0,062	3 „ 30 „
18	0,031	18 „	36	0,031	6 „
<i>Bothrops atrox</i> -Brasilien.			<i>Bothrops jaracacussu</i> -X.		
19	1,0	1 Min. 10 Sek.	37	1,0	3 Min.
20	0,5	1 „ 32 „	38	0,5	3 „ 15 Sek.
21	0,25	2 „	39	0,25	5 „
22	0,125	3 „	40	0,125	7 „ 40 „
23	0,062	3 „ 10 „	41	0,062	12 „ 15 „
24	0,031	4 „	42	0,031	≈ 20 „

d) Verhältnis zwischen neurotoxischer und gerinnungsfördernder Eigenschaft.

Aus den ermittelten k.t.D.-Werten, sowie aus den Gerinnungszeiten läßt sich berechnen, daß 1 g.f. Einheit bei der

<i>Bothrops alternata</i> -Brasilien . . . . .	0,5 k.t.D.	<i>Bothrops atrox</i> -X . . . . .	0,5 k.t.D.
„ „ -Argentinien	1,0 k.t.D.	<i>Bothrops jaracacussu</i> -Brasilien	1,0 k.t.D.
„ „ -X . . . . .	1,0 k.t.D.	„ „ -X . . . . .	2,5 k.t.D.
<i>Bothrops atrox</i> -Brasilien . . . . .	0,5 k.t.D.		

entspricht.

e) Prüfung der immunologischen Bindung.

α) Mit homologem Antiserum. Es wurde ein polyvalentes *Bothrops*-Antiserum aus dem Instituto Butantan, dessen Titer mit 2,4 mg/ccm angegeben war, verwendet. Sämtliche Giftarten wurden in einer Konzentration von 0,5% verwendet. Die Gift-Serumgemische haben 2,5 mg Gift, 1 ccm Serum und 0,5 ccm physiologische NaCl-Lösung enthalten. Mit Ausnahme des Giftes von *Bothrops atrox*-Costa Rica, welches die Taube in 50 Minuten getötet hat, wurden die übrigen Giftarten ausreichend neutralisiert.

β) Mit heterologem Antiserum. Für diese Versuche haben wir ein monovalentes *Bothrops*-Antiserum aus dem *Sharpe-Dohme*-Laboratorium (Glenolden, USA.) verwendet\*. Dieses Serum hat, laut brieflicher

\* Für die lebenswürdige Überlassung dieses Serums sind wir Herrn Dr. Th. S. Githens, Abteilungsleiter am genannten Laboratorium; zu Dank verpflichtet.

Mitteilung des Institutes, pro Kubikzentimeter 3 mg Gift der mittel-amerikanischen *Bothrops atrox* neutralisiert.

Bezeichnung des Giftes	Menge des Giftes	Verlauf
B. alternata-Brasilien . . . . .	1,5 mg	Tod in 1 Stunde
B. alternata-Argentinien . . . . .	1,5 „	Tod in 3 Minuten
B. alternata-X . . . . .	1,5 „	Schwere Symptome, erholt sich
B. atrox-Brasilien . . . . .	1,5 „	Tod in 3 Minuten
B. atrox-Costa Rica . . . . .	1,5 „	Keine Symptome
B. atrox-X . . . . .	1,5 „	Keine Symptome
B. jararacussu-Brasilien . . . . .	1,5 „	Tod in 5 Minuten
B. jararacussu-X . . . . .	1,5 „	Tod in 1 Minute

Ergebnis: Nur die Gifte von *B. atrox*-Costa Rica und *B. atrox*-X wurden gut neutralisiert, die Menge des Giftes von *B. alternata*-X war eben an der Grenze des Neutralisationsvermögens des verwendeten Serums.

f) Prüfung der Hitzeempfindlichkeit.

Mit Rücksicht darauf, daß diese Untersuchungen nach Versuchstechniken, über die ausführliche Mitteilungen schon vorliegen, durchgeführt wurden, geben wir nachfolgend nur die Endergebnisse wieder. Bei der Beurteilung der Daten ist zu berücksichtigen, daß die Temperaturintervalle bei dem Aufwärmen immer 5° C waren.

Tabelle 3. Inaktivierungstemperatur der verschiedenen Bothrops-Gifte.

Bezeichnung des Giftes	Neurotoxische	Gerinnungs-fördernde
	Fähigkeit wird eingebüßt	
	° C	° C
B. alternata-Brasilien . . . . .	65	65
B. alternata-Argentinien . . . . .	65	65
B. alternata-X . . . . .	55	65
B. atrox-Brasilien . . . . .	80	80
B. atrox-Costa Rica . . . . .	65	80
B. atrox-X . . . . .	60	65
B. jararacussu-Brasilien . . . . .	110	85
B. jararacussu-X . . . . .	110	85

Ergebnis: Von den beschlagnahmten Giften hat sich nur das der *B. jararacussu*-X einwandfrei ähnlich dem Vergleichs Gift verhalten.

Besprechung der Ergebnisse.

Um die Übersicht der experimentellen Resultate zu erleichtern, haben wir dieselben in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt.

Bei der Beurteilung der einzelnen Daten darf man die Aktivität, d. h. die k.t.D. des betreffenden Giftes, nie außer acht lassen. Ein Gift mit geringer neurotoxischer Aktivität besitzt auch geringere g.f. Fähigkeit und ist — im Falle von bedeutenden Unterschieden — auch hitze-

Tabelle 4. Zusammenstellung der Versuchsergebnisse.

	Bothrops alternata			Bothrops atrox			Bothrops jararacussu	
	Brasil.	Argent.	X	Brasil.	Costa Rica	X	Brasil.	X
k. t. D. (in Milligramm) . . . . .	0,10	0,04	0,20	0,04	0,08	0,40	0,06	0,10
Lokale Reaktion . . . . .	Hämorrhagien in dem Unterhautgewebe							
Gerinnungsfördernde Fähigkeit pro 0,0625 mg . . . . .	3 Min. 50 Sek.	2 Min. 30 Sek.	6 Min. 40 Sek.	3 Min.	—	10 Min. 20 Sek.	3 Min. 30 Sek.	12 Min. 15 Sek.
1 gf. Einheit = k. t. D. . . . .	0,5	1	1	0,5	—	0,5	1	2,5
Von 1 cem polyvalentem brasilianischem Anti-Bothrops-Serum neutralisierte Giftmenge in Milligramm (Titer des Serums: 2,4 mg/ccm) . . . . .	> 2,5	> 2,5	> 2,5	2,5	—	2,5	2,5	2,5
Von 1 cem monovalentem nordamerikanischem Anti-Bothrops-Serum neutralisierte Giftmenge in Milligramm (Titer des Serums: 3 mg/ccm) . . . . .	< 1,5	< 1,5	1,5	< 1,5	—	> 1,5	< 1,5	< 1,5
Inaktivierungstemperatur der neurotoxischen Wirkung (°C.) . . . . .	65	65	55	80	65	60	110	110
Inaktivierungstemperatur der gerinnungsfördernden Fähigkeit (°C.) . . . . .	65	65	60	80	85	60	85	85

empfindlicher (weil die gleiche Menge weniger aktive Substanz enthält, also die Prüfung auf eine geringere Anzahl von k.t.D. gemacht wird) als ein anderes der gleichen Art mit großer Aktivität. Aus dem Grund können wir die Unterschiede, die sich hinsichtlich der g.f. Fähigkeit und der Inaktivierungstemperatur zwischen den Giften der einzelnen Alternata-Arten bemerkbar machten, als natürliche Folgen ihrer verschiedenen Aktivitäten auffassen. In Anbetracht dieser Tatsache kann kein Zweifel über den Ursprung des *Crotalus t. terrificus-X*-, des *Bothrops alternata-X*- bzw. des *B. jararacussu-X*-Giftes bestehen, und wir haben alle drei, in unserem der Behörde vorgelegten Gutachten, als einwandfrei brasilianische Schlangengifte bezeichnet.

Was das *B. atrox-X* anbelangt, so konnten wir uns kein so sicheres Urteil erlauben. Auf Grund der k.t.D. könnte dieses Gift ebensogut aus *Crotalus adamanteus*, *C. atrox*, *C. confluentes*, *C. horridus*, *C. mitchellii*, *C. molossus*, *C. ruber*, *Sistrurus miliaris* stammen, wie ein sehr altes und evtl. unter ungünstigen Verhältnissen aufbewahrtes brasilianisches *Bothrops atrox*-Gift darstellen. Andererseits wieder können wir — eben wegen der geringen Toxizität — der Tatsache, daß dieses Gift von dem nordamerikanischen *Crotalus*-Antiserum neutralisiert wurde, keinen entscheidenden Wert beimessen. Da die Gifte der nordamerikanischen *Crotalus*-Arten gleich denen der *Bothrops*-Arten hämolytisch wirken, kommt der positiven lokalen Reaktion keine Bedeutung zu. Da uns aus den in Frage kommenden Giftarten keines zur Verfügung stand und auch die Menge des Giftes von *B. atrox*-Costa Rica viel zu gering war, um alle Proben in einer genügend großen Anzahl vornehmen zu können, mußten wir den Ursprung dieses einen Giftes als unentschieden bezeichnen.

#### Literaturverzeichnis.

- <sup>1</sup> Siehe z. B. Faust, E. S., *Abderhaldens Biochemisches Handlexikon* 5, 457 bis 464. Berlin: Julius Springer 1911. — <sup>2</sup> Merchante, F. R., C. r. Soc. Biol. Paris 122, 487 (1936). — <sup>3</sup> v. Klobusitzky, D., Arch. f. exper. Path. 179, 204 (1935). — <sup>4</sup> Ganguly, S. N., and M. T. Malkana, Indian J. med. Res. 23, 997 (1936). — <sup>5</sup> Ganguly, S. N., and M. T. Malkana, Ebenda 24, 281 (1936). — <sup>6</sup> Holden, H. R., and C. G. Setter, Austral. J. exper. Biol. a. med. Sci. 13, 223 (1935). — <sup>7</sup> Holden, H. F., Ebenda 14, 121 (1936). — <sup>8</sup> Zit. nach v. Klobusitzky, D., u. P. König, Arch. f. exper. Path. 181, 387 (1936). — <sup>9</sup> Brazil, V., La défense contre l'Ophidisme. São Paulo 1914. — <sup>10</sup> v. Klobusitzky, D., u. P. König, Arch. f. exper. Path. 182, 577 (1936). — <sup>11</sup> v. Klobusitzky, D., u. P. König, Z. Immun.forsch. 92, 418 (1937). — <sup>12</sup> Siehe z. B. Kraus, R., u. Fr. Werner, Giftschlangen und die Behandlung der Schlangenbisse. Jena: G. Fischer 1931. — <sup>13</sup> Vellard, J., Ann. Inst. Pasteur 44, 148 (1930). — <sup>14</sup> Kellaway, C. H., and F. E. Williams, Austr. J. exper. Biol. a. Med. Sci. 8, 123 (1931). — <sup>15</sup> Essex, H. E., Amer. J. Physiol. 99, 685 (1932). — <sup>16</sup> Grasset, E., S. afric. J. med. Sci. 7, 35 (1933). — <sup>17</sup> Taylor, J., u. S. M. K. Mallick, Indian J. med. Res. 23, 121 (1935). — <sup>18</sup> Taylor, J., u. S. M. K. Mallick, Ebenda 23, 141 (1935). — <sup>19</sup> Taylor, J., u. S. M. K. Mallick, Ebenda 24, 273 (1936). — <sup>20</sup> Grasset, E., Bull. trimestr. Org. d'hygiène Soc. Nat. Juli 1936. — <sup>21</sup> Grasset, E., A. Zoutendyk u. A. Schaafsma, Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg. 28, 601 (1935). — <sup>22</sup> v. Klobusitzky, D., Z. Immun.forsch. (im Druck).