

Vol.18

Advances in Tuberculosis Research

Fortschritte der Tuberkuloseforschung
Progrès de l'Exploration de la Tuberculose



S. Karger · Basel · München · Paris · London · New York · Sydney

Advances in Tuberculosis Research

Fortschritte der Tuberkuloseforschung
Progrès de l'Exploration de la Tuberculose
Vol. 18

Editor: GEORGES CANETTI †, Paris

Co-Editors: HANS BIRKHÄUSER, Basel; HUBERT BLOCH, Basel

Contributors: F. M. COLLINS, Saranac Lake, N.Y.; A. J. CROWLE, Denver,
Colo.; A. LEPEUPLE, Paris; G. NEUMANN, Stuttgart; R. THIBIER, Paris;
J. N. VIVIEN, Paris

With 57 figures and 40 tables



S. Karger · Basel · München · Paris · London · New York · Sydney · 1972

Advances in Tuberculosis Research

Fortschritte der Tuberkuloseforschung

Progrès de l'Exploration de la Tuberculose

Editor: GEORGES CANETTI †, Paris

Co-Editors: HANS BIRKHÄUSER, Basel and HUBERT BLOCH, Basel

It is our intention to avoid a double numbering of Karger titles in the future by ceasing the publication pattern of *series within series*. Volumes 1–17 of 'Advances in Tuberculosis Research' were also published as 'Bibliotheca Tuberculosea'; the proceedings volumes will therefore no longer appear in the Bibliotheca series (last volume No. 26). The present volume 18 of 'Advances in Tuberculosis Research' continues the series. It may therefore be desirable for libraries which have previously shelved this work under the Bibliotheca title to transfer the volumes to the Advances title.

In Zukunft möchten wir Doppelnumerierungen von Karger-Titeln vermeiden. Es soll deshalb nicht mehr eine *Reihe Teil einer anderen Reihe* bilden. Bisher wurden die Bände 1–17 der «Fortschritte der Tuberkuloseforschung» ebenfalls als «Bibliotheca Tuberculosea» publiziert; die Fortschritte-Bände werden demnach nicht mehr in der Bibliotheca-Reihe erscheinen (letzter Band No. 26). Der vorliegende Band 18 der «Fortschritte der Tuberkuloseforschung» führt diese Reihe fort. Es wird deshalb für die Bibliotheken, die bisher dieses Werk unter dem Bibliotheca-Titel geführt haben, zweckmässig sein, diese Bände auf die nun selbständige Fortschritte-Reihe zu übertragen.

S. Karger · Basel · München · Paris · London · New York · Sydney
Arnold-Böcklin-Strasse 25, CH-4000 Basel 11 (Switzerland)

All rights, including that of translation into other languages, reserved.
Photomechanic reproduction (photocopy, microcopy) of this book or part of it without special permission of the publishers is prohibited.

© Copyright 1972 by S. Karger AG, Verlag für Medizin und Naturwissenschaften, Basel
Printed in Switzerland by Buchdruckerei National-Zeitung AG, Basel
Blocks: Steiner & Co., Basel

En mémoire de Georges Canetti (1911–1971)



G. Canetti.

La mort de Georges Canetti, le 30 août 1971, nous a laissés désemparés. Nous perdons en lui un collaborateur de très grande valeur. A partir de 1958 il avait assumé la charge de rédacteur de la série «Progrès de l'Exploration de la Tuberculose». Nous admirions sa grande culture, son savoir étendu, son extraordinaire puissance de travail autant que son ouverture d'esprit. Nous garderons de lui le souvenir d'un Européen accompli. Le dernier adieu des Professeurs Etienne Bernard et Jacques Monod sera le plus bel hommage rendu à sa mémoire¹.

La Rédaction et l'Editeur

Allocution du Professeur Etienne Bernard

Cher Georges Canetti,

Il y a six semaines, dans l'immense amphithéâtre de l'imposante Université de Moscou, des applaudissements unanimes saluaient votre nomination de Secrétaire Général de l'Union Internationale contre la Tuberculose.

¹ Nous remercions vivement Monsieur le Professeur E. Bernard et Monsieur le Professeur J. Monod d'avoir bien voulu nous autoriser à reproduire leurs allocutions.

Les représentants de plus de 80 nations vous rendaient ainsi un solennel hommage.

Cet hommage était la consécration d'une œuvre biologique qui a suscité l'administration des milieux scientifiques du monde entier.

Cette œuvre est aujourd'hui classique, qu'il s'agisse de l'allergie tuberculeuse chez l'homme ou du Bacille de Koch dans les lésions initiales ou post primaires de la tuberculose pulmonaire, qu'elles soient laissées à leur évolution naturelle ou qu'elles aient subi l'action des antibacillaires.

Vous avez éclairé les problèmes de la phtisiogenèse en délimitant la part de la réactivation endogène et celle de la réinfection exogène dans l'éclosion de la maladie tuberculeuse.

Que de recherches fécondes vous sont dues, qui ont enrichi nos connaissances dans le traitement de la tuberculose!

Qu'une nouvelle drogue apparaisse, nous allions être fixés sur sa valeur, sur son efficacité, grâce à vos études expérimentales poursuivies dans votre Service de l'Institut Pasteur, avec M^{me} Grumbach, ou vos chers élèves Grosset et M^{me} Le Lirzin. Au fil des années, vos travaux successifs nous ont guidés vers les meilleurs régimes en chimiothérapie antituberculeuse.

La résistance des germes aux médicaments antibacillaires a été pour vous un champ d'étude privilégié. N'avez vous pas créé, avec Noël Rist, une méthode pour apprécier cette résistance, méthode dite des proportions, qui porte votre nom et qui est utilisée dans les laboratoires du monde entier.

Vous avez créé et dirigé depuis 10 ans le Centre National de la Résistance Primaire en tuberculose, Centre qui fait honneur à la biologie française.

Chaque année vous nous apportiez une nouvelle moisson. Quand vous preniez la parole pour exposer vos recherches dans une société savante, les conversations particulières s'arrêtaient, chacun tendait l'oreille, sûr de recueillir une pensée nouvelle, originale qui l'enrichissait.

Votre audience dans les milieux étrangers était extraordinaire. Dans les Conférences Internationales de la Tuberculose, que ce fut à Madrid, à New York ou à Moscou, le rapport Canetti était le rapport attendu. Vous avez été depuis 20 ans l'ambassadeur prestigieux de la pensée médicale française. A l'Organisation Mondiale de la Santé vous fûtes un des membres les plus éminents et les plus écoutés du Comité d'Experts de la Tuberculose.

Au nom du Comité National contre la Tuberculose, qui a si souvent bénéficié de votre expérience et qui s'honorait de votre présence, au nom de l'Union Internationale contre la Tuberculose que vous avez si remarquablement servie en donnant un deuxième souffle à ses Commissions Scientifiques, au nom de la Fondation Santé des Etudiants qui vous aimait tant, que vous

aimiez tant et au sein de laquelle vous avez rendu le dernier soupir, je vous dis, Georges Canetti, notre admiration, notre reconnaissance et notre affection.

Comme Albert Camus, vous nous avez quittés jeune encore, en pleine création, mais aussi en pleine gloire, et laissant le monde scientifique orphelin de tout ce que vous pouviez encore lui donner.

Vos élèves ramasseront vos feuillets et continueront votre œuvre. Vos disciples prendront en exemple votre labour, votre rigueur scientifique, votre courage aussi. Vos amis, et vous n'aviez que des amis, et ils sont innombrables dans le monde, se souviendront toujours de votre esprit lumineux et de votre âme généreuse. Tant qu'ils vivront, vous serez avec eux, comme a dit le poète :

Le vrai tombeau des morts est le cœur des vivants.

Allocution du Professeur Jacques Monod

Mesdames, Messieurs, chers Collègues et chers Amis,

C'est pour moi un devoir bien lourd et douloureux que de rendre hommage, au nom de l'Institut Pasteur, à Georges Canetti. Je ne veux pas insister d'abord sur la perte immense que subit notre Maison en la personne d'un des savants les plus éminents et les plus purs qu'elle ait accueillis. M. Etienne Bernard a rappelé les titres scientifiques de Georges Canetti, l'importance de ses travaux, l'admiration et le respect dont il était entouré dans la communauté scientifique hors de France comme en France même. Travaillant dans une discipline très éloignée de la sienne, je n'avais eu que peu de contacts avec lui jusqu'à ces dernières années, assez cependant pour avoir pu bientôt reconnaître un homme de la plus haute stature intellectuelle et morale. Je savais d'ailleurs par ses pairs, étrangers ou français, qu'il était considéré comme un des maîtres de sa discipline : l'étude de la maladie tuberculeuse.

Il était lui-même un ancien malade, ayant contracté la tuberculose très jeune, au moment même de se présenter à l'internat. Il semble d'ailleurs que ce fut en soignant sa propre mère, qui devait mourir tuberculeuse, que Georges Canetti s'était contaminé. Gravement atteint, il devait passer

plusieurs années en sanatorium et subir une lobectomie totale. De ses lésions devait lui rester une insuffisance respiratoire grave qui ne lui laissait presque qu'aucun répit et lui infligeait souvent de cruelles épreuves.

Mais rien ne pouvait arrêter Canetti dans la voie qu'il s'était choisie, la recherche, et pour objet de recherche, la maladie même qui avait emporté sa mère et qui l'avait frappé : la tuberculose. Maladie aussi mystérieuse encore qu'elle était redoutable à l'époque où Georges Canetti faisait ses débuts. Autant ou plus qu'aucun autre, il a contribué à élucider les mécanismes de la maladie elle-même. Médecin, à la fois anatomopathologiste et microbiologiste, nul n'était, mieux à même que lui d'analyser et d'éclairer la nature complexe de la pathologie tuberculeuse. Plus tard, avec l'avènement des antibiotiques, l'évolution même de la maladie était profondément bouleversée, de nouveaux problèmes se présentaient qu'il était, avec Noël Rist, l'un des premiers à résoudre pour établir les bases d'une thérapeutique moderne rationnelle.

Georges Canetti a donc vécu pendant plus de 35 ans dans une intimité totale, journalière, intellectuelle et physique, subjective et objective, avec la maladie dont il étudiait avec passion l'origine, la nature, le développement et la thérapeutique, cette maladie qui avait tué sa propre mère avant de l'atteindre lui-même, et dont les séquelles, sans aucun doute, ont contribué à sa mort. Ainsi Georges Canetti parvenait-il à remporter sur la maladie une double victoire : il la dévoilait par son intelligence et son travail ; il la dominait par son courage. Toujours souffrant, il travaillait cependant sans relâche, creusant toujours plus loin le problème qu'il s'était posé. Mais cette passion exclusive et créatrice n'enlevait rien à ses qualités d'homme, à sa largeur de vue, à son sens du bien public, à sa générosité. Générosité qui n'excluait pas la rigueur ni même parfois une juste sévérité. Car il jugeait les hommes par référence aux valeurs qu'il s'était à lui-même assignées au service de la science, de la société des hommes et de la communauté pastorienne. Attaché depuis de longues années à la maison de Pasteur, il n'a jamais cessé d'œuvrer avec un absolu désintéressement pour son prestige, pour son développement scientifique, pour sa vie intellectuelle. Malgré sa maladie chronique et ses nombreuses charges, il acceptait, en 1970, d'entrer au Conseil d'Administration de l'Institut Pasteur et d'en assumer la vice-présidence. Nul mieux que lui ne pouvait, dans ce conseil, représenter avec tant de dignité, de rigueur et d'indépendance le personnel pastorien. Devant ce conseil, sa personnalité s'imposait d'emblée. Économe de ses paroles elles n'en portaient que plus loin et plus sûrement. Elles étaient écoutées de tous avec l'attention et le respect que l'homme lui-même inspirait.

Il est des hommes qui s'en vont alors que le rôle qu'ils pouvaient jouer a été rempli, alors seulement qu'ils se sont pleinement accomplis pour eux-mêmes et révélés aux autres. Certains hommes hélas – et c'est le cas de Georges Canetti – disparaissent bien avant d'avoir épuisé tout ce que promettait la puissance de leur intelligence, de leur caractère, de leur altruisme. Nous attendions beaucoup de lui encore, nous comptions sur lui et sa perte aujourd'hui nous paraît irréparable.

Aux membres de sa famille je voudrais adresser l'hommage de profonde sympathie de cette seconde famille que constituaient pour Georges Canetti ses collègues, amis, élèves et collaborateurs pastoriens. Sans doute notre affliction n'est-elle pas de même nature. Elle est, je crois, aussi profonde.

Index

En mémoire de GEORGES CANETTI (1911-1971).....	IX
Allocution du Professeur ETIENNE BERNARD	X
Allocution du Professeur JACQUES MONOD	XII

Acquired Resistance to Mycobacterial Infections

By F. M. COLLINS, Saranac Lake, N. Y.

I. Introduction	1
II. Transfer of DTH and Acquired Antituberculous Resistance	3
III. Demonstration of Acquired Resistance against Tuberculosis	5
IV. Relationship of Tuberculin Hypersensitivity to Acquired Resistance to Tuberculosis	10
V. The Immunogenicity of Inactivated Vaccines and the Development of Acquired Antituberculous Resistance	17
VI. Summary	22
VII. Zusammenfassung	23
References	23

Trypsin-Extracted Immunizing Antigen of the Tubercle Bacillus: a Practical Vaccine?

By A. J. CROWLE, Denver, Colo.

I. Immunization Against Tuberculosis in Man	32
1. The Purpose of Vaccination	33
2. Limitations of BCG	33
II. Theoretical Considerations for an Improved Vaccine	35
1. Relationship Between Tuberculin Hypersensitivity and Tuberculoimmunity	35
III. Antigens which Immunize without Sensitizing to Tuberculin	36
1. Specificity of Tuberculoimmunity	36

Index	VI
2. Specificity of Tuberculin Hypersensitivity	37
3. Antigens that Immunize without Sensitizing to Tuberculin	38
IV. Release of the Immunogen from Tubercle Bacilli	40
1. Immunogenicity of Killed Bacilli	40
2. Extracting the Immunogen	41
V. Evidence for the Immunogenicity of Trypsin-Extracted Antigen	42
1. Mouse Survival Test	42
2. Mouse Lung Density Test	43
3. Tubercle Bacillus Counts	44
4. Tubercle Enumeration	44
5. Unreliability of Tubercle Enumeration in Mice	44
6. Immunity to Airborne Infection	48
7. Immunity Against LTB	49
8. Immunogenicity of Trypsin Extract in Guinea Pigs	52
VI. Longevity of Trypsin Extract-Induced Immunity	54
VII. Specificity of Trypsin Extract-Induced Immunity	55
1. Cross-Immunizations	55
2. Specific Deimmunization	55
3. Attempted Induction of Tolerance	56
VIII. Quantitative Effectiveness of Trypsin Extracts	58
IX. Preparation of Trypsin-Extracted Immunizing Antigen	59
1. Current Procedure	60
2. Factors Affecting Yields	61
X. Alternate Methods for Extracting Immunizing Antigen	61
XI. Purification of Trypsin-Extracted Immunogen	63
1. Delipification	64
2. Precipitation of Peptides	64
3. Chromatography	65
4. Electrophoresis	65
5. Electrostatic Precipitation	66
6. Aluminium Hydroxide Adsorption	67
XII. Physical and Chemical Properties of Trypsin-Extracted Immunogen	69
1. General Characteristics	69
2. Filterability	70
3. Physicochemistry	70
4. Spectrophotometry	72
5. DEAE Column Chromatography	72
6. Paper Chromatography	73
7. Sephadex Column Chromatography	73
8. Molecular Weight	74
9. Immunoelectrophoretic Analysis	75
10. Chemical Analyses	77
XIII. Characteristics of Aluminium Hydroxide-Purified Immunogen	80
XIV. Biological Properties of the Immunizing Antigen	81
1. Immunogen Adjuvanticy	82
2. Allergenicity	83
3. Immunogen-Specific Delayed Hypersensitivity Skin Reactions	84

Index	VII
4. Tests in Man	87
XV. Immunogen Toxicity	88
XVI. Practical Utility of the Immunizing Antigen	89
XVII. Conclusion	91
1. Extraction of Immunogen	91
2. Nature of Immunogen	92
3. Function of Immunogen	92
4. Relationship to Tuberculin Hypersensitivity	92
5. Pathogenesis of Tuberculosis	93
XVIII. Summary	93
XIX. Zusammenfassung	94
References	96

Die Bedeutung der Röntgenreihenuntersuchung für die Tuberkulosebekämpfung

Von G. NEUMANN, Stuttgart

1. Einleitung	103
2. Ergebnisse	104
2.1 Ergebnisse in Industrieländern	105
2.2 Ergebnisse in den Entwicklungsländern	105
2.3 Geschlechtsrelation	106
2.4 Altersverteilung	107
2.5 Befunde	113
2.6 Sonstige Faktoren	113
3. Wiederholungsuntersuchungen	114
4. Kosten	121
5. Verlauf der bei der RRU entdeckten Tuberkulose	121
6. Nichtteilnehmer bei der RRU	122
7. Vorhandensein von Symptomen	122
8. Der Beitrag der RRU zum Aufkommen an Tuberkulosefällen	123
8.1 Bei Heilstättenfällen	123
8.2 Anteil der RRU-Fälle an den Zugängen	123
8.3 Einfluss auf die Zugangs- und Bestandszahlen	127
9. Entwicklung einer Tuberkulose nach der RRU	128
10. Diskussion	131
11. Zusammenfassung	136
12. Summary	137
Literatur	139

Recent Studies on Isoniazid

By J. N. VIVIEN, R. THIBIER and A. LEPEUPLE, Paris

Introduction	149
I. Methods of Estimating INH Concentrations	149

A. Physicochemical Methods of Estimation of INH Concentrations	149
B. Microbiological Methods of Estimation of INH Concentrations.....	152
C. Comparison of the Chemical and Microbiological Methods of Estimation	156
II. Recent Studies on the Action of INH against <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	157
A. Metabolic Disturbances Induced by INH in <i>Mycobacterium tuberculosis</i> – Mode of Action	157
B. Quantitative Studies, Uptake of INH by <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	159
C. Antibacterial Effect of Contact with a Solution of INH. Role of the Con- centration and of the Duration of Contact	161
III. Recent Studies on INH Metabolism in Animals; some Aspects in Experimental Tuberculosis	164
A. Metabolic Data on Certain Animals	165
B. INH Metabolism and Experimental Tuberculosis	168
C. Induction of Neoplasms in Animals by INH.....	171
D. Application of the Experimental Results to Man	172
IV. INH Metabolism in Man – Therapeutic Implications	173
A. Metabolites of INH in Man.....	173
B. Phenotypes of Inactivation of INH in Man – Slow and Rapid Inactivators	176
C. Some Factors which may Influence INH Metabolism in Man	193
D. Metabolism of INH and Therapeutic Results in Man	201
E. INH Metabolism and Toxic Reactions.....	209
F. INH as a Carcinogen in Man	214
V. Conclusions.....	215
VI. Summary	216
VII. Zusammenfassung	219
References	222
Index Vol. 1–17	232

Acquired Resistance to Mycobacterial Infections¹

F. M. COLLINS

Trudeau Institute, Saranac Lake, N. Y.

Contents

I. Introduction	1
II. Transfer of DTH and Acquired Antituberculous Resistance	3
III. Demonstration of Acquired Resistance against Tuberculosis	5
IV. Relationship of Tuberculin Hypersensitivity to Acquired Resistance to Tuberculosis	10
V. The Immunogenicity of Inactivated Vaccines and the Development of Acquired Antituberculous Resistance	17
VI. Summary	22
VII. Zusammenfassung	23
References	23

I. Introduction

The Mycobacteriaceae possess many unique features of interest to the taxonomist, the microbial physiologist, and the immunologist. In particular, the slow rate of growth exhibited by most of these organisms, both *in vivo* and *in vitro*, their frequently fastidious nutritional requirements, their high lipid content and acid fastness and their extreme resistance to many inimical agents seems to place them apart from most other microorganisms. Furthermore, problems associated with the control and eradication of mycobacterial infections, both of man and animals, still remain some of the most important and challenging in preventive medi-

¹ The work described in this paper was supported by Grant AI-07809 from the US-Japan Cooperative Medical Science Program administered by the National Institutes of Allergy and Infectious Diseases.

cine today. Despite the tremendous changes brought about by the introduction of chemotherapy, both tuberculosis and leprosy continue to be of primary socioeconomic and medical importance in many parts of Asia, Africa and Latin America.

Most tuberculous infections tend to be chronic in nature, the lesions are frequently associated with a characteristic histopathology, and the patient usually develops a typical delayed type of hypersensitivity (DTH) to one or more of the microbial antigens: the latter has both diagnostic and immunologic significance [RICH, 1951; MACKANESS, 1968]. Although most of the specialized technology associated with the isolation and cultivation of the tubercle bacillus was developed before the turn of this century, relatively little information regarding the nature of the host-parasite relationship involved in this disease was available until comparatively recently. In particular, the immunological mechanisms involved in the expression of DTH and antituberculous immunity have only recently become fully appreciated [TURK, 1967]. One of the most important and fundamental characteristics of the pathogenic mycobacteria seems to be their ability to survive and multiply within normal tissue macrophages. This is probably one of the reasons for the extraordinary resistance exhibited by these organisms towards the normally effective humoral defense system [LURIE, 1964]. In this respect, the tubercle bacillus differs strikingly from extracellular parasites such as the pathogenic staphylococci and streptococci. Normal mice can be shown to be exquisitely sensitive to intraperitoneal or intravenous challenge by many of the latter organisms, but it is possible to passively protect them with specific opsonins which permit the host phagocytes to ingest and destroy the cocci [MUDD *et al.*, 1934]. Under these circumstances, specific immunoglobulins can be said to mediate the immune response against these parasites. By way of contrast, the pathogenic mycobacteria grow readily in an intracellular environment, where the macrophage membranes tend to protect the microorganism against those defenses involving opsonic, bactericidal or antitoxic antibodies [MACKANESS, 1968]. An effective resistance to infection by such facultative intracellular parasites is only possible when the macrophages of the lung, liver, spleen and other organs of the RES are modified in such a way that they no longer offer a suitable environment for the continued growth of even the most virulent mycobacteria [MACKANESS, 1971]. This form of resistance is referred to as 'cellular immunity' and is perhaps most characteristically illustrated by antituberculous immunity, although it is now recognized

that acquired resistance to other facultative intracellular parasites is also mediated by this type of mechanism. Some of the evidence for the cellular nature of antituberculous resistance will be reviewed in the next section.

II. Transfer of DTH and Acquired Antituberculous Resistance

Recognition of the importance of the monocyte in the expression of antituberculous immunity stems from the pioneering studies of LURIE [1964]. He clearly demonstrated the ability of immune rabbit macrophages (when cultured in the anterior chamber of the eye) to inhibit the growth of ingested tubercle bacilli, a characteristic notably absent from normal cells. Immune serum seems to be without real protective value in this system.

The unequivocal demonstration of intracellular inactivation of virulent tubercle bacilli, both *in vitro* and *in vivo* is both tedious and difficult. This is partly due to the inherently slow rate of growth of the tubercle bacillus, partly to its extraordinary resistance to intracellular inactivation, even by cells taken from an animal which is patently immune [MACKANESS, 1954]. In consequence, the most convincing evidence for a cell-mediated type of immunity to facultative intracellular parasites has come from adoptive spleen cell transfer studies using *Listeria monocytogenes* [MACKANESS, 1969]. Successful attempts to adoptively immunize experimental animals against tuberculosis using either peritoneal exudate cells or filtered spleen cells from BCG vaccinated animals have been reported [SEVER, 1960; SUTER, 1961; MILLMAN, 1962]. However, all of these studies used outbred animals as recipients, so that the transferred cells probably survived for a few days at most, before being eliminated. This suggests that the observed protection was not directly due to the transferred lymphoid cells but was more probably the result of active immunization by transferred antigen in the form of residual organisms present in the spleen cell suspension. Passive protection studies using serial quantitation of the challenge population in the lungs and/or spleens of strictly inbred mice should now be attempted, although it is unlikely that such studies will add greatly to what we already know about the mechanism of resistance to this type of parasite. ✓

If a direct relationship in fact exists between DTH and acquired antituberculous resistance [COLLINS and MACKANESS, 1970a], then it should be possible to simultaneously transfer both forms of cellular

reactivity to normal recipients using sensitized lymphoid cells. It has long been known that tuberculin hypersensitivity can be adoptively transferred to normal recipients with living cells, whereas, until recently, all attempts to achieve transfer with immune serum or plasma have failed [BLOOM and CHASE, 1967]. Recently KOCHAN and BENDEL [1966] reported the successful transfer of tuberculin sensitivity with serum prepared from tuberculin-treated, BCG-vaccinated guinea pigs. DUPUY *et al.* [1970a] also reported transfer using plasma taken from lethally irradiated, sensitized animals. These latter observations have also been extended to graft rejection [DUPUY *et al.*, 1970b].

While attempting to confirm these important findings, COLLINS *et al.* [1970] observed the transfer of Arthus (3 h) reactivity (presumably developed against the tuberculo-poly-saccharides present in commercial PPD) [SEIBERT, 1949] with irradiated plasma, but no delayed (24 h) skin hypersensitivity was detected. The success or otherwise of such passive transfer experiments may depend upon the criteria selected as representing the minimum reaction acceptable as a positive skin test. DUPUY *et al.* [1970a] used a 5-mm zone of erythema and induration whereas other workers specify 10 mm or more [NELSON and BOYDEN, 1964; GULD, 1966]. Quantitative measurements of skin thickness suggest that an increase of 1 mm is statistically acceptable as a minimum for a positive tuberculin skin reaction, regardless of whether erythema is present or not [COLLINS *et al.*, 1970]. Whatever the criteria selected, however, care must be taken to ensure that the 24-hour swelling is in fact, a true delayed hypersensitivity. NELSON and BOYDEN [1964] emphasized that the mere presence of erythema and/or edema at a test site 24 h after injection of the eliciting antigen can be misleading, especially in the presence of Arthus or Jones-Mote reactivity. In fact, the unequivocal demonstration of delayed hypersensitivity in animals exhibiting high levels of immediate sensitivity may be very difficult.

Despite the repeated inability by most workers to transfer either tuberculin hypersensitivity or resistance by means of serum or plasma [RAFFEL, 1956], specific immune antibodies have, nevertheless, been advanced as possible mediators of anti-tuberculous resistance [FONG *et al.*, 1956; SEIBERT *et al.*, 1956]. The fact that the infected host ultimately produces antibodies against various tuberculopolysaccharides and other cell components [BOYDEN, 1957] suggests to some workers that humoral factors must play some role in the immune reaction [SEIBERT, 1958]. However, there is no direct evidence that this is necessarily so; it