

Folia Biologica

Publicación del personal técnico del Instituto Bacteriológico
del Departamento Nacional de Higiene

Dirección y Administración: VELEZ SARFIELD 563

Folia Biol.

Buenos Aires, julio y agosto 1932

Nos. 16 y 17

Prof. Rudolf Kraus

Falleció el 15 de Julio de 1932

Porque no conoció la minucia fué grande en la ciencia y en la vida. En la ciencia fué un intuitivo y un fervoroso animador; en la vida mantuvo, a través de las vicisitudes de los trabajos y los años, esa frescura infantil, esa ingenuidad insobornable, que recuerda — por analogía — el *efficiamini sicut parvuli* del Evangelio. Por eso fué grande y atrajo sobre su persona, como un signo de contradicción, aplausos y vituperios. Quienes pudieron comprender la potencia creadora de su talento, la intuición certera con que encaraba todos los grandes problemas de la inmunología contemporánea, la prodigiosa erudición que demostraba, su inagotable aptitud para el trabajo, su perseverancia y el ímpetu estimulante para templar y orientar a sus múltiples discípulos, no amenguaron el elogio ni mutilaron su admiración por el maestro. ¿Qué importaban — contemplados en esa perspectiva de méritos — algunos errores pequeños deslizados en ciertas ocasiones?

Sus colaboradores en el Instituto Bacteriológico pueden dar este testimonio que su fama universal, por otra parte, confirma. Porque no sólo fué el organizador de esta casa y la fuerza dominadora que ha permitido ulteriores perfeccionamientos, sino que puede afirmarse, en general, que fué el principal maestro y propulsor de la Bacteriología en la República Argentina. Por eso nos sentimos obligados a rendirle el homenaje de nuestra gratitud. FOLIA BIOLÓGICA, en su carácter de publicación de nuestra casa, se asocia a esta manifestación. Manifestación de profundo dolor ante la desaparición del maestro. Expresión de genuino reconocimiento ante el balance estricto que certifica nuestra deuda inmensa.

Aus dem staatlichen Institute für Herstellung von Diphtherieheil-serum.

Leiter: Prof. R. Paltauf.

Ueber spezifische Reactionen in keimfreien Filtraten aus Cholera, Typhus und Pestbouillonculturen, erzeugt durch homologes Serum ¹.

Von Dr. RUDOLF KRAUS
Assistenten am Institute

ISSAEFF und IVANOV, GRUBER und DURHAM, PFEIFFER lehrten uns in der Agglutination eine Reaction kennen, welche sich von weitragender Bedeutung für die medizinische Bacteriologie erwiesen hat.

Der Hauptwert dieser Reaction liegt darin, dass wir eine Methode besitzen, welche an Exætheit einer chemischen Reaction nicht nachsteht.

Ausserdem beweist diese Reaction die Specificität der pathogenen Mikroorganismen, sie ist zum Ausgangspunkte einer neuen Systematik in der Bacteriologie geworden und begründete die Serumdiagnostik.

Die späteren Arbeiten über Agglutination haben sich mit der praktischen Verwertung dieser Reaction beschäftigt. Ueber das Wesen der Agglutination sind unsere Kenntnisse seit der Entdeckung der Reaction nicht besonders gefördert worden.

Anfangs hat sich GRUBER die Vorstellung gebildet, dass unter dem Einfluss des specifischen Serums die Hüllen der Bakterien aufquellen, klebrig und durch ihre klebrige Oberfläche zusammengeballt werden. GRUBER hält die Quellung als eine Art Präparation der Mikroorganismen für das Angreifen der baktericiden Stoffe des Organismus.

Diese Annahme GRUBER's lässt sich jedoch nicht ganz aufrecht erhalten. Trotzdem es in letzter Zeit ROGER ² gelungen ist, eine Quellung des *Oidium albicans* unter Einfluss des Serums zu beobachten, konnten die von GRUBER angenommenen Veränderungen bei Typhus nicht gefunden werden. Die agglutinierten Bacillen nehmen gut Farbstoffe auf, sie zeigen keine Formveränderungen, ihre Geisseln lassen sich darstellen. Auch lassen sich die agglutinierten Bacillen fortzüchten.

BORDET ³ fasst die Agglutination als einen Prozess auf, welcher durch Molecularattraction zu erklären wäre.

Die Agglutination wurde bisher als eine vitale Function der Mikroorganismen angesehen, man glaubte, dass das Serum nur auf lebende Bakterien wirken könnte.

Erst WIDAL ⁴ hatte den Nachweis erbracht, dass die Reaction auch mit abgetödteten Bakterien zu Stande käme.

Die bei 56 ° abgetödteten Typhusbacillen wurden in vitro durch das Typhusserum ebenso typisch ausgefällt und agglutiniert, wie die lebenden. Die bei einer höheren Temperatur abgetödteten Bakterien sind zur Reaction nicht geeignet.

¹ Als Vorläufige Mitteilung vorgetragen in der k. k. Gesellschaft der Aerzte am 30. April 1897.

² ROGER, Revue gén. de sciences. 1896.

³ BORDET, Annales de l'Institut Pasteur. 1896, N° 4.

⁴ WIDAL, La semaine med. 1897, N° 5.

Diese Tatsache, dass auch die abgetödteten Typhusbacillen agglutinirt werden können, bedeutet für die Lehren von der Agglutination und für die Praxis der Serumdiagnostik einen Fortschritt.

Diese Angaben WIDAL's kann ich für Typhus und Cholera bestätigen.

WIDAL's Befund und die Entdeckung E. BUCHNER's⁵ über Gährung mit Zymose (die bei hohem Druck verflüssigte Hefe) bilden den Ausgangspunkt für die folgenden Versuche.

Es lag nach dem Vorliegenden der Gedanke nahe, dass auch die Lösungen der irgendwie aufgelösten Bakterienleiber mit specifischem Serum specifische Reactionen geben könnten, wie die Culturen selbst.

Die Untersuchungen wurden zuerst mit Cholera vorgenommen.

Aus besonderen Gründen wurde zuerst mit keimfreien Filtraten der Cholera bouillonculturen begonnen.

Verschiedenalterige Cholera bouillonculturen wurden durch Bakterienfilter (PUKAL) filtrirt. Die klaren Filtrate wurden sowohl durch Impfung als durch Stehenlassen des Filtrates bei 37° auf Sterilität geprüft.

Nachdem sie sich als steril erwiesen hatten, wurden verschiedene Mengen von gleichfalls sterilen Choleraserum (Ziegenserum) zugesetzt und in den Brütöfen (37°) gestellt.

Innerhalb 24 Stunden könnte man Folgendes beobachten:

Die Filtrate, welche mit specifischem Serum versetzt waren, trübten sich, es bildeten sich kleine Flocken, welche sich zu Boden setzten. Es bildet sich ein Bodensatz, die Flüssigkeit darüber ist vollkommen klar.

Die Trübung der Flüssigkeit kann schwach oder stark ausfallen. Der Bodensatz kann reichlich oder spärlich sein. Wovon diese Ungleichmässigkeit der Reaction abhängt, konnte nicht ermittelt werden. Manchmal geben Filtrate, selbst in grossen Mengen genommen, auch bei Zusatz von viel Serum keine Reaction. Was das Aussehen und die Beschaffenheit des Bodensatzes betrifft, so ist derselbe grauweiss, bräunlich, ziemlich cohärent, lässt sich aufbeuteln, trübt dann die Bouillon und setzt sich wieder rasch ab.

Die chemische Untersuchung des Niederschlages, welche ich im chemischen Laboratorium des Herrn Dr. FREUND ausgeführt habe, ergibt, dass derselbe aus zwei Eiweisskörpern besteht, wovon der eine die Reactionen der Alkalialbuminate, der andere die der Peptone gibt.

Um die Specificität des Niederschlages sicher festzustellen, wurden Controlversuche mit den Filtraten, in denen Niederschläge mit specifischen Serum entstanden sind, mit heterologem Serum angestellt.

Es wurde zum Cholerafiltrat Typhus, Coliserum (Ziegenserum), normales Pferdeserum Diphtherie, — Cholera, — Antistreptococcenserum (Pferdeserum), normales Menschenserum in verschiedenen Mengen zugesetzt und niemals konnten Niederschläge beobachtet werden, wie sie bei den Cholerafiltraten bei Zusatz von Choleraserum auftraten. Die verschiedenen Controlproben blieben auch nach 24 Stunden bei 37° vollkommen klar.

Aus diesen Versuchen habe ich in der vorläufigen Mitteilung geschlossen, dass in keimfreien Filtraten der Cholera bouillonculturen bei Zusatz von specifischem Serum (gewonnen durch Immunisirung mit Choleraagarculturen) specifische Niederschläge entstehen können. Diese Reaction ist ebenso specifisch wie die Agglutination mit lebenden oder abgetödteten Culturen.

Ob die Substanzen in den Filtraten, welche mit dem specifischen Serum ausgefällt werden, Zerfallsprodukte der Bakterienleiber sind, habe ich damals nicht entscheiden können und es blos als wahrscheinlich hingestellt.

⁵ E. BUCHNER, Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. 1897.

Einen directen Beweis für diese Annahme glaube ich durch folgenden Versuch erbracht zu haben.

Es wurden Choleraleiber, welche theils aus Agarculturen, theils durch Filtration der Bouillonculturen gewonnen wurden, mit Glasstaub vermengt und dem Druck von 300 Atmosphären ausgesetzt.

Die gepresste Masse wurde mit alkalischer Bouillon verdünnt und durch Bakterienfilter filtrirt. Das Filtrat wurde auf Sterilität geprüft und nachher ebenso mit Choleraserum versetzt wie die Filtrate aus Cholera-bouillonculturen.

Im Verlauf von 24 Stunden bei 37° konnte man das Auftreten von Trübung und Niederschlagsbildung beobachten.

Dasselbe Resultat konnte durch eine Modification des Versuches erzielt werden.

Es wurden Cholera-culturen (zweitägige) von Agarplatten abgeschabt, bei 37° bis zur Trockenheit gelassen und dann in schwach alkalischer Bouillon gelöst. Die Lösung wurde durch Bakterienfilter filtrirt. Die sterile Lösung wurde mit Choleraserum versetzt.

Das Resultat war dasselbe wie mit den Filtraten aus den Cholera-bouillonculturen und aus den gepressten Culturmassen.

Durch diese Versuche wurde also nachgewiesen, dass die mit *Choleraserum* ausgefällten Substanzen der Filtrate der Cholera-bouillonculturen als directe Stoffe der Vibrionenkörper anzusehen sind.

Dadurch wurde zugleich bewiesen, dass die Specificität des Serums nicht nur für die geformten Bakterien (lebende oder abgetödtete) besteht, sondern auch für die in Lösung gebrachten Bakterienleiber.

Die Arbeiten von WIDAL⁶, LEVY und BRUNS⁷ können als weitere Beweise für die letzteren Schlüsse verwertet. WIDAL und später LEVY und BRUNS konnten mit den keimfreien Filtraten aus Typhus — und Cholera-bouillonculturen Tiere immunisieren und erhielten ein Serum mit agglutinirenden Eigenschaften, wie jenes, welches mit Agarculturen gewonnen wurde. Es war hiemit ebenfalls bewiesen, dass die Filtrate Substanzen enthalten, welche den Bakterienkörpern angehören dürften.

Dieselben specifischen Reactionen wie mit Coleraserum auf keimfreie Filtrate von Cholera-bouillonculturen konnten auch mit *Typhusserum* auf keimfreie Filtrate aus *Typhusbouillonculturen* und mit *Pestserum* auf Filtrate der *Pestbouillonculturen* beobachten werden.

Die Trübungen und Niederschläge sind ähnlich denen bei den Cholerafiltraten beschriebenen. Die Reaction fällt einmal stärker, das andermal schwächer aus und kann ausbleiben. Die Bedingungen für dieses Verhalten konnten auch nicht festgestellt werden. Die Controlversuche mit heterologen Serumarten fielen negativ aus.

Einen analogen Versuch, wie mit den Colerakörpern zur Identität der ausfällbaren Substanzen im Filtrat, habe ich mit den Pestculturen gemacht.

Die Pestcultur (zweitägig) wurde von der Agarplatte abgeschabt, bei 37° getrocknet, in schwach alkalischer Bouillon gelöst. Die Lösung durch Puckal filtrirt. Die sterile Lösung mit Pestserum (Pferdeserum) versetzt.

Das Resultat war dasselbe wie bei der Cholera.

Es wäre noch darauf hinzuweisen, dass zum Erzeugen von diesen Trübungen und Niederschlägen grössere Mengen von Serum notwendig sind als für die Agglutination mit Culturen. Ein quantitatives Verhältniss konnte ich hiebei nicht feststellen. Die Menge der Zerfallsprodukte der Bakterienleiber in den Filtraten ist wahrscheinlich sehr ungleich, abhängig vielleicht von der Virulenz der Cultur, dem Alter und Alkalescentzgrad der Bouillon. Es dürfte möglicher-

⁶ WIDAL und SICARD, Annales de l'Institut Pasteur. 1897, cid.

⁷ LEVY und BRUNS, Berliner klinische Wochenschrift. 1897. N^o 23.

weise darin ein Grund für die Variabilität der Stärke der Niederschläge und für das eventuelle Ausbleiben der Reaction zu suchen sein. Ob die wechselnde, häufig fehlende Giftigkeit der Cholerafiltrate damit in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden kann, soll eine spätere Arbeit zu beweisen versuchen.

Prof. PALTAUF⁸ hat auf Grund dieser Versuche den Mechanismus der Agglutination der unbeweglichen Mikroorganismen zu erklären versucht.

Ob Filtrate von Toxin producirenden Bakterien bei Zusatz von specifischen Serum (gewonnen mit Toxinen) Niederschläge zu bilden im Stande sind, sollte durch folgenden Versuch festgestellt werden. Keimfreie Filtrate von Diphtheriebouillonculturen wurden mit antitoxischem Serum (Pferdeserum) in verschiedenen Mengen versetzt. Nach 24 Stunden bei 37° waren die Filtrate mit specifischem Serum vollkommen klar geblieben. Die Controlproben des Filtrates mit Zusatz von Cholera —, Typhus, Coliserum (Ziegenserum), Antistreptococcenserum (Pferdeserum), geben ebenfalls keine Reaction.

Diese Versuche lassen folgende Schlüsse zu:

1. *In keimfreien Filtraten aus Cholera —, Typhus —, Pestbouillonculturen können bei Zusatz von homologen Serum specifische Niederschläge entstehen.*

2. *Die Substanzen, welchen in den Filtraten mit homologen Serum ausgefällt werden, gehören den Bakterienleibern an.*

3. *Keimfreie Toxine (Diphtherietoxine) geben bei Zusatz von homologen Antitoxinen keine specifischen Reactionen.*

⁸ PALTAUF, Wiener klinische Wochenschrift, Protokoll der Gesellschaft der Aerzte. 6. Mai 1897.

En homenaje a la memoria del ilustre sabio, FOLIA BIOLOGICA se honra en reproducir este trabajo, uno de los primeros y más importantes del Prof. Kraus. (N. de la R.).

Instituto del Estado para la preparación del suero antidiftérico.

Director: Prof. R. PALTAUF.

Acerca de las reacciones específicas provocadas por suero homólogo en los filtrados, exentos de gérmenes, de cultivos de cólera, tifus y peste en caldo¹

Por el Dr. RODOLFO KRAUS
Asistente del Instituto

ISSAEF e IVANOFF, GRUBER y DURHAM, PFEIFFER nos han dado a conocer con la aglutinación una reacción que posee extraordinaria importancia para la bacteriología médica.

El principal valor de esta reacción reside en su exactitud, que no va en zaga a la de una reacción química.

¹ Ver comunicación previa, leída en la k. k. Gesellschaft der Aerzte, el 30 de abril 1897. Wiener klinische Wochenschrift. Tomo X, nº 18, pág. 431, Wien 1897.