

Serologische Agglutination durch Präzipitin

Autor(en): **Schweizer, Ch. / Werder, J.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **21 (1930)**

Heft 4

PDF erstellt am: **13.09.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-983936>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Eine genaue Beschreibung der Bestimmung der Lecithin-Phosphorsäure in Teigwaren wird gegeben.

Das *Schmid'sche* Verfahren der Eierklar-Eiweissbestimmung in Teigwaren wird modifiziert und ein Weg beschrieben, auf welchem das wasserlösliche Weizeneiweiss grösstenteils abgetrennt, während das Eierklar-Eiweiss zur Hauptsache der Bestimmung zugänglich gemacht wird.

Serologische Agglutination durch Präzipitin.

Von Dr. Ch. SCHWEIZER.

(Aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes, Bern,
Vorstand: Dr. J. Werder.)

Nach Wells¹⁾ können wir annehmen, dass die serologische Präzipitation und Agglutination auf dem gleichen Prinzip beruhen und sich nur dadurch unterscheiden, dass die Reaktion angestellt wird mit:

1. Eiweisslösung für die Präzipitation.
2. Festen Eiweissteilchen (Zellen) für die Agglutination.

Wenn wir nämlich ein Immunserum mit Typhusbazillen als Antigen herstellen, so wird dieses Serum:

1. Präzipitieren mit einem filtrierten eiweisshaltigen Extrakt von Typhusbazillen;
2. Agglutinieren mit Typhusbazillen.

Das gleiche ist aber auch der Fall, wenn wir ein Immunserum mit dem eiweisshaltigen Extrakt der Typhusbakterien herstellen.

Es war nun naheliegend, anzunehmen, dass man durch Ueberziehen von festen Partikelchen mit Eiweiss eine für das betreffende Eiweiss spezifische Agglutination erhalten könnte. Da die als Eiweissträger funktionierenden unspezifischen Partikelchen auch mitausgefällt würden, war ferner eine Verstärkung der zu beobachtenden Reaktion zu erwarten.

Von diesen Voraussetzungen ausgehend, konnte denn auch Jones²⁾ zeigen, dass bis zur deutlichen Trübung *erhitztes Antigen* mit Präzipitin eine deutlichere Reaktion gibt als die gleiche unerhitzte oder nur wenig erhitzte klare Eiweisslösung. Er stellte sich diese Verstärkung der Ausfällung so vor, dass beim Erhitzen ein Teil des Eiweisses koaguliert und die so entstandenen koagulierten Partikelchen sich mit unverändertem Eiweiss überziehen. Auf Zusatz von Präzipitin würde dann Agglutination dieser Partikelchen eintreten.

¹⁾ The Chemical Aspects of Immunity, p. 122, New York, 1925.

²⁾ J. Exp. Med., 46, 303 (1927).

Die stärkste Ausflockung war mit einem als Antigen dienenden Kaninchennormalserum erhalten worden, das 20 Minuten gekocht wurde. Erhitzen des Serums auf 70° während 20 Minuten ergab keine Verstärkung der Reaktion. Ebenso wurde andererseits durch Behandlung im Autoklaven (141 lbs.) wieder eine Verminderung der Ausflockung bedingt. Die Intensität der Reaktion entsprach ziemlich genau der Stärke der Trübung der Antigenlösung.

Eine solche Verstärkung der Reaktion wäre namentlich beim serologischen Pferdeeiweissnachweis bei gekochten Würsten erwünscht gewesen, da in diesem Falle die Uhlenhuth'sche Reaktion oft sehr undeutlich oder negativ ausfällt. Ich habe deshalb den Einfluss des Erhitzens auf Pferdeserum als Antigen nach der von Jones verwendeten Technik geprüft. Zu diesem Zwecke wurde Pferdenormalserum mit isotonischer Kochsalzlösung 1:4 verdünnt und in gut verschlossenen Röhrchen während 20 Minuten in einem tiefen Wasserbad bei verschiedenen Temperaturen erhitzt. Dann wurde je 1 cm³ Antigenlösung mit je 0,1 cm³ Pferdeantiserum versetzt und nach zweistündigem Stehenlassen bei Laboratoriumstemperatur über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Am anderen Tag wurden folgende Resultate abgelesen:

Verdünnungen des Pferdenormalserums (Antigen)

	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	NaC
Mit unerhitztem Antigen . . .	+++	+++	++	++	++	++	+-	-
Mit auf 80° erhitztem Antigen .	+++	++	+	+	+	+-	+-	-
Mit auf 90° erhitztem Antigen .	+++	+	+	+-	+-	-	-	-
Mit gekochtem Antigen . . .	++++	++	+	+-	-	-	-	-

- ++++ = sehr starker Niederschlag.
 +++ = starker Niederschlag.
 ++ = geringerer Niederschlag.
 + = noch deutlicher Niederschlag.
 +- = Spur eines Niederschlages.

Diese Resultate, welche übrigens bereits nach 20 Minuten die gleichen waren, lassen also nicht auf eine Verstärkung der Präzipitation durch Erwärmen schliessen. Die mit erhitztem Antigen erhaltenen Präzipitate waren auch ohne Antiserum fast ebenso stark, was von der beim Kochen sich bildenden Ausflockung herrührt. Aus obiger Tabelle geht im Gegenteil eine progressive Abnahme der Empfindlichkeit der Reaktion mit dem Grad der Erwärmung hervor.

Jones hat ferner Bakterienzellen mit Antigen gemischt und dann mit dem spezifischen Antiserum agglutiniert. Ich verwendete eine schwach getrübe Aufschlemmung von *Hefezellen* in isotonischer Kochsalzlösung. Mit derselben wurden die Verdünnungen des Pferdenormalserums gemacht und dann wieder zu je 1 cm³ Verdünnung 0,1 cm³ Pferdeantiserum gesetzt.

Hefezellen haben sich für diesen Versuch nicht als geeignet erwiesen, da sie infolge ihrer Grösse sich schon von selbst zu schnell ab-

setzen. Sie hätten aber den Vorteil gehabt, dass man sie fast überall in Form von Presshefe leicht beschaffen hätte können.

Verdünnungen des Pferdenormalserums (Antigen)

	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480
Antigen + Hefen + Antiserum	Keine deutlichen Unterschiede				
Antigen + Hefen + Kan. Norm. Serum	Keine Unterschiede				
Antigen + Antiserum (Präzipitation)	+ nach 3 Min.	+ nach 5 Min.	+ nach 10 Min.	+ nach 20 Min.	-

Eine feinere Suspension erhalten wir mit *Kollodiumteilchen*, die man nach Loeb³⁾ auf folgende Weise herstellt. Eine Merk'sche Lösung von unelastischem Kollodium in Alkohol und Aether wird langsam in Wasser laufen gelassen, indem man mit einem Glasstab umrührt. Dabei bildet sich um den Glasstab eine schwammige Masse von festem Kollodium, welches einige Male mit Wasser gewaschen und dann zwischen Filtrierpapier getrocknet wird. Hierauf wurde mit diesem Kollodium eine ungefähr 10 %ige Lösung in chemisch reinem Azeton gemacht und dann mittels einer Kapillare solange Wasser zugesetzt, bis sich eine leichte wolkige Trübung gebildet hatte. Dann wird das Azeton im Vakuum abdestilliert und die zurückbleibende milchige Flüssigkeit zentrifugiert. Das Sediment schwemmt man mit wenig Wasser auf und zentrifugiert nochmals. Die abzentrifugierten grösseren Teilchen werden zur Herstellung der gewünschten Suspension verwendet. In verdünnten Suspensionen bewegen sich diese Teilchen beim Kataphoreseversuch gegen die Anode; sie sind also negativ geladen. Nur in Gegenwart von Salzen mit dreiwertigen Kationen, wie LaCl_3 , wandern die Partikelchen in umgekehrter Richtung. Loeb hat den Kataphoreseversuch unter dem Mikroskop mit dem von Northrop⁴⁾ beschriebenen Apparat mit unpolarisierbaren Elektroden vorgenommen.

Wenn man eine geringe Menge dieser Partikelchen nach Loeb⁵⁾ während einer Nacht mit einer 0,1 %-igen Lösung iso-elektrischer Gelatine (von $\text{pH} = 4,7$) zusammen stehen lässt und die Kollodiumteilchen am folgenden Tage abzentrifugiert, so kann man feststellen, dass sich dieselben mit einer festen Gelatineschicht überzogen haben und durch Salze in gleicher Weise ausgefällt werden, wie eine Gelatinelösung. Die Konzentration von 0,1 % Gelatine darf nicht überstiegen werden, da sich sonst leicht grössere Gelatineaggregate mit mehreren Kollodiumteilchen bilden. Diese Aggregate setzen sich aber auch ohne Salzzusatz schnell ab, so dass keine deutlichen Resultate erhalten werden können.

Jones⁶⁾ hat nun versucht, dieses Verfahren auch zur Herstellung agglutinierbarer Suspensionen zu verwenden. Kleine Mengen konzentrier-

³⁾ J. Gen. Physiol., 5, 111 (1922—23).

⁴⁾ J. Gen. Physiol., 4, 629 (1921—22).

⁵⁾ J. Gen. Physiol., 2, 577 (1919—20).

⁶⁾ J. Exp. Med., 48, 183 (1928).

ter Kollodiumsuspensionen wurden zu Antigenlösungen gesetzt und während verschiedenen Zeiten sich selbst überlassen. Dann setzte Jones einen Ueberschuss isotonischer Kochsalzlösung hinzu, die auf 100 cm^3 $2 \text{ cm}^3 \frac{n}{20}$ NaOH enthielt. Dann wurde bei hoher Tourenzahl zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und das Zentrifugat wieder in alkalischer Salzlösung suspendiert. Dieses Waschen und Zentrifugieren wurde noch zweimal wiederholt und zum Schluss nochmals eine Suspension in alkalischer Salzlösung hergestellt. Dieses System zeigt eine verhältnismässig gute Stabilität.

Die Menge des adsorbierten Antigens ist innerhalb gewisser Grenzen von der Konzentration der Eiweisslösung abhängig. Beim Zusammenbringen von 10 cm^3 Eiweisslösung mit 10 cm^3 Kollodiumsuspension wird aus einer 10 %igen Ovalbuminlösung nicht viel mehr Antigen adsorbiert als aus einer 2,5 %igen Lösung. Wenn aber die Ovalbuminkonzentration unter 2,5 % fällt, so beobachtet man eine geringe Abnahme des Agglutinationstiters⁷⁾, obschon noch mit 0,5 % eine deutliche Agglutination festgestellt werden kann.

Wenn man die Kolloidiumteilchen mit verschiedenen Antigenen zusammenbringt, so lassen sie sich mit allen betreffenden Antiseren agglutinieren, woraus Jones den Schluss zieht, dass die Adsorption nicht in Form einer zusammenhängenden, die ganze Oberfläche des Kolloidiumteilchens bedeckenden Schicht erfolgt.

Ferner wurde festgestellt, dass der Antikörper eines präzipitierenden Serums von einer Kollodiumsuspension im Gegensatz zum Antigen nicht adsorbiert werden kann, trotzdem der Eiweissanteil eines solchen Serums an den Kolloidiumpartikelchen adheriert.

Jones hat nun auf diese Weise mit gewissen Eiweissarten eine deutliche Verstärkung der Präzipitation festgestellt, nicht aber mit Ovalbumin oder Pferdeserum.

Ich habe nun versucht, eine Verstärkung der Reaktion mit Pferdeserum durch Kombination der Präzipitation mit der Agglutination zu erzielen, indem ich ohne Zentrifugieren und Waschen die Kolloidiumteilchen nach erfolgter Inkubation mit dem Antigen direkt in der Antigenlösung verwendete. In isotonischer Kochsalzlösung wurden Kolloidiumteilchen in solcher Konzentration aufgeschlemmt, dass 1 cm^3 dieser Suspension beim Zentrifugieren bei 2000 Touren während 5 Minuten im Mellimeter von Thöni⁸⁾ ein Sediment von einem Teilstrich (= $1,5 \text{ mm}^3$) ergab. (Zur Messung werden zweckmässig 2 cm^3 Kollodiumsuspension verwendet.) Diese Suspension diente an Stelle der sonst üblichen Kochsalzlösung zur Herstellung der Verdünnungen des Pferdenormalserums,

⁷⁾ Es wurden folgende Verdünnungen zur Agglutination verwendet: 1:10, 1:20, 1:50, 1:100, 1:200, 1:500 und Kontrolle ohne Antigen.

⁸⁾ Mittl. Lebensm. Hyg., 2, 118 (1911).

deren Konzentrationen ich nach dem Schema von Jones ansetzte. Die Verdünnungen wurden dann über Nacht im Eisschrank aufbewahrt. Am folgenden Tage setzte ich zu je 1 cm³ dieser Antigenverdünnungen je 0,1 cm³ Pferdeantiserum. Die Reaktion wurde in Präzipitatgläschen vorgenommen, da selbst die Ablesung im Agglutinoskop auf diese Weise deutlicher war als mit den sonst für die Agglutination verwendeten Reagensgläsern gewöhnlicher Grösse. Nach Zusatz des Antiserums wurde mittels einer Kapillare durch Hineinblasen gemischt. Die positive Agglutination kann besonders gut durch Vergleich im Agglutinoskop mit den entsprechenden Kaninchennormalserum-Röhrchen festgestellt werden.

Verdünnungen des Pferdenormalserums (Antigen)

1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480	1:40960	1:81920	1:163840
Antigen + Kollodium + Antiserum							
+ nach 1 St. ¹⁾	+ nach 1 St.	+ nach 1 St. ²⁾	+ nach 1 St. ³⁾	+ nach 1 St.	+ nach 2 St.	—	—
Antigen + Kollodium + Kaninchennormalserum							
—	—	—	—	—	—	—	—
Kollodium + Antiserum							
—	—	—	—	—	—	—	—
Zum Vergleich wurde eine gewöhnliche Präzipitation angestellt:							
Antigen + Antiserum							
sofort +	sofort +	+ nach 3 Min.	+ nach 5 Min.	+ nach 10 Min.	+ nach 20 Min.	—	—

¹⁾ Agglutination eher etwas schwächer als bei 1:2560.

²⁾ Nach 2 St. ist die Agglutination bei dieser und den stärkeren Konzentrationen auch ohne Agglutinoskop gut sichtbar.

³⁾ Nach 4 St. auch ohne Agglutinoskop gut sichtbar.

Eine Verstärkung der serologischen Reaktion durch die Gegenwart von Kollodiumteilchen konnte also hier gegenüber der gewöhnlichen Präzipitation nicht festgestellt werden. Man hätte sich nun vorstellen können, dass hier ein Ueberschuss von nicht mit Antigen gesättigten Kollodiumteilchen die Deutlichkeit der Reaktion hätte hemmen können. Ich habe deshalb den vorigen Versuch gleichzeitig auch bei einer fünfmal schwächeren Konzentration an Kollodiumteilchen vorgenommen. Die so mit isotonischer Kochsalzlösung verdünnte Suspension wurde zur Vermeidung von grösseren Agglomeraten noch durch Faltenfilter Nr. 588 von Schleicher und Schüll filtriert. Sie zeigte im Präzipitatgläschen nur noch eine opaleszenzartige Trübung.

Nach 24 Stunden war die Agglutination bei den Verdünnungen 1:20480 und 1:40960 etwas deutlicher als in den entsprechenden Röhrchen mit konzentrierter Kollodiumsuspension, wahrscheinlich weil sich bei letzteren noch unagglutinierte Teilchen in Suspension befinden. Sonst

hat sich aber die verdünntere Kollodiumsuspension nicht als empfindlicher erwiesen; die Reaktion kann im Gegenteil mit der konzentrierten Suspension schneller abgelesen werden.

Verdünnungen des Pferdenormalserums (Antigen)

1:1280	1:2560	1:5120	1:10240	1:20480	1:40960	1:81920	1:163840
Antigen + Kollodium + Antiserum							
+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 1 St. ¹⁾	+ nach 2 St. ²⁾	+ nach 4 St.	—	—
Antigen + Kollodium + Kaninchennormalserum							
—	—	—	—	—	—	—	—

¹⁾ Nach 2 St. ist die Agglutination bei dieser und den stärkeren Konzentrationen auch ohne Agglutinoskop gut sichtbar.

²⁾ Die Agglutination ist nach 1 St. auch schon angedeutet, doch ist sie bedeutend weniger deutlich als mit der konzentrierten Kollodiumsuspension. Nach 4 St. ist sie auch hier ohne Agglutinoskop sichtbar.

Ich hatte auch versucht, an Stelle des Pferdenormalserums den Auszug eines Pferdefleischcervelats als Antigen zu verwenden. Das von Fett möglichst befreite Fleisch wurde wie üblich mit ungefähr gleichem Volumen isotonischer Kochsalzlösung während 48 Stunden im Eisschrank mazeriert und dann die Lösung durch eine dünne Kieselguhrsicht filtriert. Der so geklärte Auszug, welcher ungefähr die für die Uhlenhuth'sche Präzipitation notwendige Konzentration hatte (eine Verdünnung 1:4 gab schon keine positive Eiweisreaktion mehr), wurde mit Kollodiumsuspension noch weiter verdünnt und wie im vorigen Versuch über Nacht stehen gelassen. Dann wurde wieder zu je 1 cm³ Verdünnung 0,1 cm³ Pferdeantiserum gegeben.

Verdünnungen des Pferdefleischcervelatauszuges (Antigen)

Agglutination mit:	0	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64
Antigen + Konz. Kollodiumsuspension + Antiserum		+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 4 St.	—
Antigen + Konz. Kollodiumsuspension + Kaninchennormalserum		—	—	—	—	—	—	—
Antigen + Verd. Kollodiumsuspension + Antiserum		+ nach 1 St.	+ nach 1 St.	+ nach 4 St.	+ nach 4 St.	—	—	—
Antigen + Verd. Kollodiumsuspension + Kaninchennormalserum		—	—	—	—	—	—	—

Präzipitation mit:

Antigen (Verdünnungen mit isotonischer NaCl-Lsg.)	sof.	sofort	sofort	sofort	+ nach 3 Min.	+ nach 10 Min.	+ nach 15 Min.	+ nach 20 Min.
+ Antiserum	+	+	+	+				

Es konnte also auch hier keine Verstärkung der serologischen Reaktion in Gegenwart von Kollodiumpartikelchen festgestellt werden; mit

verdünnter Kollodiumsuspension verlief die Reaktion sogar weniger deutlich als bei der gewöhnlichen Präzipitation.

Mit einem während 3 Minuten gekochten Pferdefleischcervelat konnte weder eine Agglutination in Gegenwart von Kollodiumteilchen noch eine Präzipitation nach der Uhlenhuth'schen Technik erzielt werden. Im Kochsalzauszug war übrigens auch keine deutliche Eiweissfällung mehr zu beobachten; beim Erhitzen blieb dieser Auszug zuerst ganz klar und zeigte erst nach einiger Zeit eine schwache Opaleszenz. Das Kochen während 3 Minuten hatte also genügt, um das Eiweiss fast vollständig zu koagulieren. Wahrscheinlich erklären sich auf diese Weise auch die vielen mit Würsten beobachteten negativen Befunde der serologischen Präzipitation.

Auch mit der Trübung des nicht filtrierten Pferdefleischauszuges an Stelle der Kollodiumtrübung konnte keine Verstärkung festgestellt werden.

Zusammenfassung.

Mit Pferdeserum- oder Pferdefleischantigen konnte auch unter verschiedenen Bedingungen eine Verstärkung der serologischen Reaktion durch die Gegenwart einer Hitzetrübung, von Hefezellen oder von Kollodiumteilchen in verschiedenen Konzentrationen gegenüber der gewöhnlichen Präzipitation nicht festgestellt werden.

Ueber ein Sediment aus „griesiger“ Milch.

Von Hans KREIS.

(Mitteilungen aus dem Laboratorium des Kantons-Chemikers Basel-Stadt.)

Die Milch einer Kuh hatte den Verdacht erweckt, mit «Stärkemilch» verfälscht zu sein, weil sie beim Stehen in der Flasche an den Wänden schleimige Klümpchen absetzte, die mit gequollener Stärke einige Ähnlichkeit hatten.

Es konnte sofort festgestellt werden, dass keine Stärke vorhanden war; aber die weitere Untersuchung ergab ein so unerwartetes Ergebnis, dass es sich wohl rechtfertigt darüber zu berichten.

Die Milch gab beim Centrifugieren 1,5⁰/₀₀ Sediment, das rein weiss war und unter dem Mikroskop bei 166-facher Vergrösserung das untenstehend wiedergegebene Bild zeigte.

Leukocyten und Bakterien waren nicht vorhanden.

Auf den ersten Blick wäre man versucht, die runden Gebilde für Fett-Tröpfchen zu halten. Dass es sich nicht um Fett handeln konnte,