

# ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

---

Vb-V

*E 2056/1974*

**Leukozyten**

**Homo sapiens**

**Morphologische Veränderungen unter Einwirkung  
von Hämolysin aus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro**

Mit 1 Abbildung

GÖTTINGEN 1974

---

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM



Film E 2056

**Leukozyten**  
**Homo sapiens**  
**Morphologische Veränderungen unter Einwirkung**  
**von Hämolysin aus Pseudomonas aeruginosa in vitro**

W. SCHARMANN, Gießen

**Allgemeine Vorbemerkungen<sup>1</sup>**

**Vorkommen und Bedeutung von Pseudomonas aeruginosa**

*Pseudomonas aeruginosa* ist vor allem den Chirurgen schon seit alters her bekannt, da sein blaugrünes Pigment, das Pyocyanin, in Exsudaten und Verbänden schlechtheilender Wunden oft angetroffen wurde. Dennoch galt dieser Keim, der gelegentlich auch von den Schleimhäuten und aus dem Darminhalt gesunder Menschen und Tiere isoliert werden kann, lange Zeit als wenig pathogene Bakterienart, der in den Kliniken nur geringe Aufmerksamkeit geschenkt wurde. Erst seit Einführung der antibiotischen Therapie hat sich das Bild grundlegend gewandelt. Die gegen die bis 1961 entwickelten Antibiotika und gegen viele Desinfektionsmittel unempfindlichen Pseudomonaden nahmen vor allem in den Krankenhäusern den Platz der harmlosen, aber antibiotika-empfindlichen Saprophyten ein. Anspruchslos in ihrem Nährstoffbedarf, persistieren sie in Spülbecken, Eßgeschirren und Urinflaschen, aber auch in ungenügend sterilisierten Kathetern, Spritzen und Infusionslösungen (NOBLE und WHITE [12]). Auf diese Weise kommt es bei geschwächten Patienten nicht selten zu einer Infektion mit tödlichem Verlauf (AMSTRONG et al. [1], KIELWEIN und STILLE [7], LOWBURY [11]). Gesunde Personen sind vor einer Pseudomonaden-Infektion gewöhnlich durch die Immunität geschützt,

<sup>1</sup> Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft. — Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 8 u. 9.

die sie im Laufe ihres Lebens durch den häufigen Kontakt mit den ubiquitär — auch in Lebensmitteln vorkommenden (KIELWEIN [9]) Keimen erworben haben. Gefährdet sind dagegen Individuen, deren körpereigene Abwehr noch nicht voll ausgebildet ist (vor allem Frühgeburten und Säuglinge in den ersten Lebenswochen) oder Personen, deren Immunität herabgesetzt ist, wie alte Menschen, Schwerverwundete und Patienten mit großflächigen Brandwunden. Hinzu kommen jene Kranken, die nach Transplantationen mit Cortikosteroiden und Immunsuppressiva behandelt werden. Weiterhin sind auch die nicht seltenen Pseudomonaden-Infektionen des Urogenitaltraktes wegen ihrer Hartnäckigkeit sehr gefürchtet.

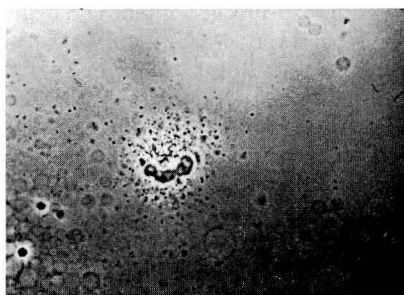
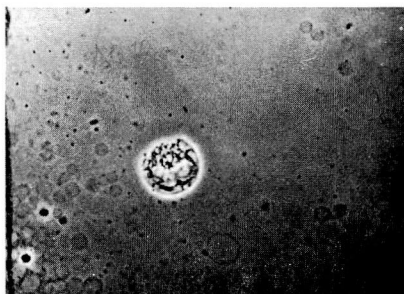
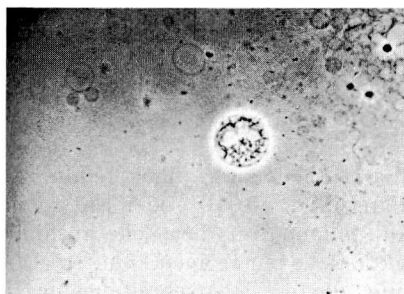
Da die Resistenz von *P. aeruginosa* gegen die meisten heute verwendeten Antibiotika ungewöhnlich hoch ist, kennt man zur Zeit nur wenige Mittel, die eine Wirkung auf Pseudomonaden ausüben. Auch gegen diese Antibiotika wie Gentamycin, Carbenicillin und Colistin ist eine steigende Resistenzentwicklung zu beobachten, so daß nach neuen therapeutischen Möglichkeiten für die Beeinflussung von Pseudomonaden-Infektionen geforscht werden muß. Die passive Immunisierung mit Antiserum ist in diesem Falle meist wenig erfolgreich, da *P. aeruginosa* eine Reihe antigenspezifischer Gruppen bildet (HABS [5]) und die Keime nur von Antiseren der gleichen serologischen Gruppe gehemmt werden.

Möglicherweise ergeben sich neue Ansätze für eine therapeutische Beeinflussung der Pseudomonaden, wenn die Ursache ihrer Pathogenität erforscht worden ist. Bisher ist man in dieser Frage nur auf Vermutungen angewiesen. Eine Vorbedingung für die Infektion besteht wahrscheinlich in der Überwindung der immunologischen Barriere des Wirtsorganismus durch die Bakterien, so daß sie sich im Körper vermehren können. Der letale Ausgang einer Pseudomonaden-Infektion wird auf die Wirkung verschiedener toxischer Substanzen der Mikroorganismen zurückgeführt. Neben dem Endotoxin, das *P. aeruginosa* wie andere gram-negative Keime enthält (ГОММА [8]), sind noch eine Reihe weiterer Toxine genannt worden (HECKLY [6]), deren Bedeutung für die Virulenz von *P. aeruginosa* jedoch noch nicht ausreichend bewiesen ist. Zu diesen toxischen Substanzen gehört auch das Hämolyysin, dessen Wirkung auf Leukozyten vom Menschen im Film dargestellt wird.

#### Die Hämolsine

Hämolsine sind Substanzen, die rote Blutkörperchen zerstören, in vielen Fällen aber auch Leukozyten, Thrombozyten und verschiedene andere Säugetierzellen schädigen (BERNHEIMER [3]). In der Regel handelt es sich bei diesen Toxinen um Proteine, die von einer Reihe gram-positiver wie gram-negativer Bakterien während des Zellwachs-

tums ausgeschieden werden. Einige Hämolysine sind für Versuchstiere ausgesprochen starke Gifte: so vermögen schon  $5\ \mu\text{g}$   $\alpha$ -Lysin von *Staphylococcus aureus* ein Kaninchen innerhalb von Minuten zu töten. Trotz der eindrucksvollen cytotoxischen Wirkung, die die isolierten



Ruptur der Zellmembran

Hämolysine bei in vitro-Versuchen zeigen, ist ihre Bedeutung für die Pathogenität bakterieller Infektionen noch weitgehend ungeklärt. Mit den Hämolysinen der verschiedenen Bakterienarten lassen sich — von wenigen Ausnahmen abgesehen — keine Krankheitssymptome erzeugen, die für die Infektion durch die betreffenden Keime charakteristisch sind. Die Wirksamkeit vieler Hämolysine bei der bakteriellen Infektion ist

auch deshalb in Frage gestellt, weil sie im Blut — wahrscheinlich durch die darin enthaltenen Lipoproteide oder Cholesterin — inaktiviert werden.

Der Mechanismus der Cytolyse ist bisher nur für 2 Hämolsine aufgeklärt worden ( $\beta$ -Lysin von *S. aureus* und  $\alpha$ -Lysin von *Clostridium perfringens*). In beiden Fällen handelt es sich um eine Phospholipase C, welche durch Spaltung der in der Zellmembran befindlichen Phospholipide die Lysis der Zelle herbeiführt. Wahrscheinlich greifen auch die übrigen Hämolsine — möglicherweise über hydrophobe Wechselwirkung mit Lipiden — an der Zellmembran an. Die Desintegration von Strukturelementen der Membran würde zur „Öffnung von Poren“ (KREGER et al. [10]) oder Entstehung von „Löchern“ führen, durch die Kaliumionen aus der Zelle ausfließen und Natriumionen sowie Wasser in die Zelle einströmen könnten. Die Folge wäre eine osmotische Schwellung, die bei Überschreiten eines bestimmten kritischen Zellvolumens zur Cytolyse führt.

#### Das Hämolsin von *P. aeruginosa*

Über das Hämolsin von *P. aeruginosa* ist bisher wenig bekannt. Hierzu mag der Umstand beigetragen haben, daß sich das Toxin nicht in reiner Form isolieren ließ, da es im Verlauf des Reinigungsprozesses zunehmend an Wasserlöslichkeit verlor (BERK [2]). Wahrscheinlich ist das Hämolsin von *P. aeruginosa*, abweichend von den bisher bekannten bakteriellen Cytolysinen, kein Protein, sondern ein Lipid (BERK [2]). Seine Aktivität wird weder durch einstündiges Kochen noch durch Einwirkung von Protease beeinträchtigt.

Für die im Film gezeigten Versuche wurde Hämolsin gewonnen, indem der Überstand einer Bouillonkultur des Stammes 158 erhitzt (100°C, 60 min.) und durch 60%ige Ammoniumsulfatfällung und nachfolgende Gelfiltration an Sephadex G-100 gereinigt wurde. Aus den Bakterienzellen des gleichen Stammes isolierten wir noch eine weitere leukotoxisch wirkende Substanz (Leukozidin), die in ganz anderer Weise als das Hämolsin Leukozyten schädigte (SCHARMANN et al. [13]; vergl. SCHARMANN [14]).

#### Filmbeschreibung<sup>1</sup>

##### *Leukozyten im Vitalpräparat*

24 B/s

Granulozyten im Blut des Menschen (Deckglaspräparation). Man sieht die Fortbewegung einzelner polymorphkerniger Granulozyten mit Hilfe ihrer Pseudopodien. Die physiologische Granulaströmung ist mit

<sup>1</sup> Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

den Bewegungsabläufen der Zellen koordiniert. Die Fähigkeit der Leukozyten, ihre Gestalt den Erfordernissen der Umwelt anzupassen, ist aus den Bildern gut ersichtlich.

### *Zugabe von Hämolysin*

*24 B/s bis 6 B/s*

Das Hämolysin scheint unmittelbar nach seiner Zugabe zu der Granulozytenpräparation an die Leukozyten adsorbiert zu werden, da die Zellbewegungen sofort aufhören und die Pseudopodien eingezogen werden. Diese Phase der Zellabrundung und beginnenden Zellschädigung wird wahrscheinlich schon von dem Austritt von  $K^+$  aus den Leukozyten begleitet. Es folgt sodann ein Stadium der „Zellausstülpungen“, gekennzeichnet durch bläschenförmige Plasmavorwölbungen an verschiedenen Stellen der Zelloberfläche, die bald wieder eingezogen werden. (Im Film sind die Granulozyten zu diesem Zeitpunkt von zahlreichen Zellschatten hämolysierter Erythrozyten sowie der Granula bereits gelappter Leukozyten umgeben). Nach Abklingen der Zellausstülpungen erscheint der Granulozyt kreisrund, der gelappte Kern tritt plastisch hervor, und die ganze Zelle scheint prall angefüllt mit Granula, die sich in schwacher Brown'scher Molekularbewegung befindet. Ohne daß die Zelle merklich anschwillt, reißt die Membran plötzlich an einer Stelle ein, und Kern und Granula werden in die Umgebung der Zelle verstreut.

### **Literatur und Filmveröffentlichung**

- [1] ARMSTRONG, D., L. S. YOUNG, R. D. MEYER and A. H. BLEVINS: Infectious complications of neoplastic disease. *Med. Clin. North. Am.* **55** (1971), 729—745.
- [2] BERK, R. S.: Partial purification of the extracellular hemolysin of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bact.* **88** (1964), 559—565.
- [3] BERNHEIMER, A. W.: Cytolytic toxins of bacteria, p. 183—212. In: AJL, S. I., S. KADIS and T. C. MONTIE (eds.). *Microbial toxins*, Vol. 1. Academic Press, New York 1970.
- [4] CASELITZ, F. H.: *Pseudomonas-Aeromonas* und ihre humanmedizinische Bedeutung. In: Monographie über Pseudomonaden. Fischer-Verlag, Jena 1967.
- [5] HABS, H.: Untersuchungen über die O-Antigene von *Pseudomonas aeruginosa*. *Z. Hyg. Infektionskr.* **144** (1957), 218.
- [6] HECKLY, R. J.: Toxins of *Pseudomonas*, p. 473—491. In: AJL, S. I., S. KADIS and T. C. MONTIE (eds.). *Microbial toxins*, Vol. 3. Academic Press, New York 1970.

- [7] HELM, E., und W. STILLE: Klinik und Therapie der Sepsis durch *Pseudomonas aeruginosa*. Dtsch. med. Wschr. **97** (1972), 1584—1589.
- [8] HOMMA, J. Y.: The protein moiety of the endotoxin of *Pseudomonas aeruginosa*. Z. allg. Microbiol. **8** (1968), 227—248.
- [9] KIELWEIN, G.: Die Isolierung und Differenzierung von Pseudomonaden aus Lebensmitteln. Arch. Leb. Hyg. **22** (1971), 29.
- [10] KREGER, A. S., K.-S. KIM, F. ZABORETZKY and A. W. BERNHEIMER: Purification and properties of staphylococcal delta hemolysin. Infect. Immunity **3** (1971), 449—465.
- [11] LOWBURY, E. J. L.: Control of infection with gram-negative bacteria in patients with special risk. Proc. roy. Soc. Med. **64** (1971), 986—988.
- [12] NOBLE, W. C., and P. M. WHITE: *Pseudomonas* and man. Transactions St. John's Hosp. Dermat. Soc. **55** (1969), 202—208.
- [13] SCHARMANN, W., K. KÖSTER und H. BLOBEL: Wirkungen von Leukozidin und Hämolyisin von *Pseudomonas aeruginosa* auf Granulozyten. Zbl. Vet. Med. **20** (1973), 199—205.
- 
- [14] SCHARMANN, W.: Leukozyten, *Homo sapiens*—Morphologische Veränderungen von Leukozidin aus *Pseudomonas aeruginosa* in vitro. Film E 2055 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1974.
- 

*Anschrift des Verfassers:*

Dr. W. SCHARMANN, Institut für Bakteriologie und Immunologie an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Justus-Liebig-Universität Gießen, 6300 Gießen, Schubertstr. 1

---

### Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1974 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 43 m, 4 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1972. Veröffentlichung aus dem Institut für Bakteriologie und Immunologie an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Gießen, Dr. W. SCHARMANN, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K. H. HÖFLING; Aufnahme: C. LUDWIG.

### Inhalt des Films

Der Film zeigt zu Beginn das Verhalten polymorphkerniger Granulozyten im Blut des Menschen. Nach Zugabe von Hämolyisin aus *Pseudomonas aeruginosa* erleiden die Leukozyten eine Reihe charakteristischer Veränderungen bis sie platzen.



### Summary of the Film

The film shows initially the behaviour of polymorphonuclear granulocytes in human blood. After the addition of haemolysin from *Pseudomonas aeruginosa* the leucocytes undergo a series of characteristic changes until they burst.

### Résumé du Film

Le film montre au début, le comportement de granulocytes à noyaux polymorphes dans le sang humain. En ajoutant de l'hémolysine provenant de *Pseudomonas aeruginosa*, les leucocytes subissent toute une série d'altérations caractéristiques jusqu'à ce qu'ils éclatent.