

Aus der Deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie
(Kaiser Wilhelm-Institut) München.

Über die Feststellung von Dickenunterschieden an lebenden mikroskopischen Objekten, dargelegt am Beispiel der Unterscheidung von Hühner- und Rekurrensspirochäten.

Von

Berta Scharrer.

(Hierzu 3 Textfiguren.)

Bei verhältnismäßig einfach gebauten Organismen, wie den Spirochäten, bereitet die morphologische Charakterisierung der einzelnen Arten häufig große Schwierigkeiten. So hatte man beispielsweise nach der Entdeckung der Geflügelspirochäten bei der Gans erwogen, ob diese mit den bereits bekannten Rekurrensspirochäten identisch seien (GABRITSCHESKY, 1898). Erst aus dem verschiedenen Verhalten im Tierkörper konnte man mit Sicherheit schließen, daß es sich hier um zwei getrennte Arten handeln mußte. Daß *Spirochaeta gallinarum* und *Spirochaeta recurrentis* bis jetzt, wo bereits eine Reihe eingehender Untersuchungen vorliegt, rein morphologisch noch nicht sicher voneinander zu unterscheiden waren, geht schon aus der Tatsache hervor, daß die Angaben über die Morphologie von Hühner- und Rekurrensspirochäten in den Lehrbüchern nicht übereinstimmen. Vor allem über die Größe der Spirochäten sind die Meinungen geteilt. So bezeichnet MÜHLENS (1907) *Spirochaeta gallinarum* als die kleinere von beiden Formen. SCHILLING (1917) sowohl als KNUTH und DU TOIT (1921) geben an, daß *Spirochaeta gallinarum* größer sei als *Spirochaeta recurrentis*. Bei KOLLE und HETSCH (1929) finden wir, daß eine Unterscheidung der beiden Formen überhaupt nicht möglich

ist. Im Lehrbuch von WENYON (1926) wird die Möglichkeit einer Unterscheidung stark angezweifelt.

Bevor wir nun untersuchen, welche Ursache diese zum Teil sich widersprechenden Literaturangaben haben, wollen wir uns kurz die Frage vorlegen, welche Eigenschaften überhaupt für Spirochäten als morphologische Merkmale zu verwerthen sind. Der bisher häufig gebrauchte Begriff der Größe läßt sich nicht sicher umschreiben und ist daher besser von vornherein auszuschalten. Dagegen kann eine Reihe anderer Merkmale der Spirochäten genauer definiert werden, so die Länge und Dicke, die Zahl der Windungen und ihre Beschaffenheit (d. h. das Verhältnis zwischen Länge und Tiefe der Einzelwindung, ihre Formbeständigkeit usw.) oder das Aussehen der Enden. Daß die einzelnen Autoren beim Vergleich von Hühner- und Rekurrensspirochäten über diese Eigenschaften zum Teil verschiedener Meinung waren, könnte einmal durch die Verschiedenheit des Materials bedingt sein; d. h. den einzelnen Untersuchern lagen wohl verschiedene Stämme derselben Spirochätenart vor und es könnte sein, daß diese unter sich geringe Unterschiede aufwiesen. Ferner könnte es seinen Grund in einer verschiedenen Untersuchungsmethodik haben. So fehlen vielfach genauere Angaben darüber, ob die Spirochäten lebend oder fixiert untersucht wurden, welches Medium dabei gewählt wurde oder welche optischen Bedingungen herrschten. Andererseits ist zu erörtern, ob die angeführten morphologischen Eigenschaften überhaupt konstante Merkmale darstellen oder ob sie mehr oder weniger variieren und daher für die Unterscheidung von *Spirochaeta gallinarum* und *Spirochaeta recurrentis* wertlos sind.

Die Klärung dieser Fragen ist nicht nur von theoretischem Interesse, sondern auch von einer gewissen praktischen Bedeutung. Ich habe aus diesem Grunde eine vergleichend-morphologische Untersuchung an Hühner- und Rekurrensspirochäten durchgeführt und suchte dabei alle in Frage kommenden Gesichtspunkte zu berücksichtigen. Für diesen Zweck standen mir im Institut von Herrn Professor Dr. F. JAHNEL an der deutschen Forschungsanstalt für Psychiatrie München alle nötigen Hilfsmittel, vor allem die besten optischen Einrichtungen zur Verfügung.

Ich benutzte für meine Beobachtungen sechs aus verschiedenen Ländern stammende Rekurrensstämme (*Spirochaeta Obermeieri*, *hispanica*, *usbekistanica*, *Duttoni*, *Angola*, *crocidurae*) sowie drei verschiedene Stämme von Hühnerspirochäten (aus Paris, Pommern und

Griechenland)¹⁾. Die Untersuchungen wurden unter möglichst natürlichen Bedingungen, d. h. am lebenden Objekt vorgenommen, um eine möglicherweise durch Fixierung und Färbung verursachte Veränderung der feinsten morphologischen Einzelheiten des Spirochätenkörpers auszuschalten. Am günstigsten erwies sich die Beobachtung im Blut der Wirtstiere (Maus und Ratte für *Spirochaeta recurrentis*, Huhn und Taube für *Spirochaeta gallinarum*), doch wurden zum Vergleich auch künstliche Kulturmedien herangezogen (verdünnte Seren verschiedener Art mit Zusatz von koaguliertem tierischem Eiweiß). Ferner berücksichtigte ich verschiedene Stadien der Infektion bzw. verschieden alte Kulturen. Die Deckglaspräparate wurden in der üblichen Weise möglichst dünn und gleichmäßig hergestellt und mit Paraffin umrandet. In den zu vergleichenden Blutpräparaten konnten sich die in Größe und Gestalt verschiedenen Säuger- und Vogelblutkörperchen insofern störend bemerkbar machen, als sie vom Beobachter unwillkürlich als relativer Längenmaßstab benutzt werden. Auch war zu erwägen, ob nicht die größeren Erythrocyten der Vögel die Beweglichkeit der Hühnerspirochäten und damit ihre Gesamtform mehr beeinflussen als das unter sonst gleichen Bedingungen bei *Spirochaeta recurrentis* der Fall ist. Ferner konnte die Voraussetzung, daß im Hühnerblut nur Hühnerspirochäten und im Mäuseblut nur Rekurrensspirochäten zu erwarten sind, die Entscheidung suggestiv beeinflussen. Alles dies ließ sich umgehen durch die Beobachtung der *Spirochaeta gallinarum* in Mäuseblut. Man kann dies erreichen durch die intraperitoneale Verimpfung einer größeren Menge von Hühnerspirochäten auf junge Kaninchen (LEVADITI) oder in noch bequemerer Weise auf weiße Mäuse (DEUTZ), in deren Blut sie sich nach einigen Stunden gleichmäßig verteilt haben und so eine sog. „unechte Infektion“ (d. h. eine Infektion ohne nennenswerte Vermehrung der Spirochäten) hervorrufen (vgl. darüber namentlich die Arbeiten von LEVADITI, LEVADITI und LANGE (1905), DEUTZ (1912), PENTSCHEW (1929), BODECHTEL (1930), JAHNEL und PENTSCHEW (1930)). Wählt man für den Versuch statt einer gesunden Maus ein schon

¹⁾ Die verschiedenen Rekurrensstämme verdankt unser Institut Herrn Geheimrat Prof. Dr. KOLLE, Herrn Prof. Dr. SCHLOSSBERGER, Herrn Prof. KRITSCHESKI, Herrn Prof. Dr. MARTIN MAYER, die Hühnerspirochätenstämme Herrn Prof. Dr. LEVADITI, Fr. Dr. ZUELZER, Herrn Dr. STYLIANOPOULOS. Nach meinem Ausscheiden aus dem Münchener Institut sind Herrn Prof. JAHNEL noch durch Herrn Prof. Dr. BRUMPT zwei Stämme der *Spirochaeta turicatae* und der von Novy angelegte Stamm des amerikanischen Rückfallfiebers überlassen worden, welche für die vorliegende Untersuchung besonderes Interesse bieten.

vorher mit Rekurrensspirochäten infiziertes Tier, so treten in dessen Blut die beiden Spirochäten zugleich auf und lassen sich im gleichen Präparat nebeneinander beobachten. Die Täuschungen, denen man sich durch das sukzessive Beobachten zweier verschiedener Präparate aussetzt, lassen sich auch dadurch umgehen, daß man beide Präparate mit Hilfe zweier Mikroskope mit gleicher Optik und des Vergleichsokulars von ZEISS gleichzeitig in ein Gesichtsfeld bringt. Diese im Laboratorium von Prof. JAHNEL (1934) gebräuchliche, aber sonst wenig benutzte Methode möchte ich ganz allgemein für vergleichende Untersuchungen an kleinen Objekten empfehlen. Die durch die Lebendbeobachtung gewonnenen Ergebnisse wurden ergänzt durch die Untersuchung von fixiertem Spirochätenmaterial. Außer Schnittpräparaten von Organen infizierter Tiere, die nach der Versilberungsmethode von LEVADITI hergestellt waren, wurden nach GIEMSA gefärbte Deckglasausstriche (sowohl von Wirtsblut als auch von Spirochätenkulturen) im Hellfeld bzw. im Leuchtbild untersucht. Für das Studium der lebenden Spirochäten kam ausschließlich die Methode der Dunkelfeldbeleuchtung in Frage, da diese durchsichtigen und zarten Organismen im Hellfeld nicht so gut in Erscheinung treten.

Das Ergebnis meiner nunmehr über 2 Jahre fortgesetzten vergleichenden Untersuchungen läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß von den bisher angegebenen Merkmalen keines für die Unterscheidung der Hühner- und Rekurrensspirochäten zu verwerten ist. Zum Teil sind diese Eigenschaften der exakten Messung überhaupt nicht zugänglich, so die Dicke, die sich am lebenden Präparat wegen der außerordentlichen Feinheit des Objektes nicht mit der erforderlichen Genauigkeit bestimmen läßt, am fixierten Material aber mehr oder weniger postmortal verändert ist. Die übrigen Charakterisierungsmerkmale jedoch variieren ziemlich stark innerhalb ein und derselben Spirochätenart. So ist die Länge der Hühner- und Rekurrensspirochäten (und damit ihre Windungszahl) je nach der Beschaffenheit des Mediums und dem jeweiligen Stadium der Infektion bzw. dem Alter einer Kultur wenig konstant. Auch die Größe und Form der einzelnen Windungen unterliegt einem ständigen Wechsel; sie hängt neben anderen Faktoren vielfach ab vom Bewegungszustand der Spirochäten und vom Grad ihrer Ausstreckung.

Hingegen gestattete die Auswertung einer anderen Erscheinung die Unterscheidung der beiden Arten. Untersucht man Rekurrensspirochäten mit einer bestimmten Optik, beispielsweise mit dem SIEDENTOPF'schen Kardiodikondensator, dem X-Apochromat von ZEISS (60fache

Vergrößerung) und einer 10- oder 15fachen Okularvergrößerung¹⁾, so zeigen sie ein merkwürdiges optisches Phänomen. Sie erscheinen hier doppelt konturiert, d. h. statt einer weißen gewundenen Linie zeigen sich nun zwei parallele Linien, die zwischen sich ein dunkles Feld frei lassen (siehe Fig. 3). Hühnerspirochäten dagegen zeigen unter denselben Bedingungen dieses Phänomen nicht; sie erscheinen als einfache helle Linien auf dunklem Untergrunde (siehe Fig. 1). Betrachten wir also mit der eben angegebenen Optik das Blut einer Maus mit Doppelinfection (also Blut, in dem *Spirochaeta recurrentis* und *Spirochaeta gallinarum* gleichzeitig vorhanden sind), so erscheinen uns nun Hühner- und Rekurrensspirochäten nicht mehr gleich, sondern sie lassen sich ohne Schwierigkeit durch ihr verschiedenes optisches Verhalten voneinander unterscheiden.

Die Bedingungen, unter denen diese Unterscheidung möglich ist, prüfte ich daraufhin genauer nach und konnte dabei folgende Einzelheiten feststellen.

1. *Spirochaeta recurrentis* erscheint im Dunkelfeld doppelkonturiert, vorausgesetzt, daß die erwähnte Spezialoptik verwendet wird. Dies gilt sowohl für die Untersuchung im Blut der Wirtstiere (weiße Maus, Ratte), als auch zum Teil für die in verdünntem Serum (künstliches Nährmedium). Allerdings ist die Doppelkonturierung der Rekurrensspirochäten in Kulturen kein konstantes Phänomen. Es kommen neben einwandfrei doppelkonturierten Individuen auch solche vor, bei denen die Erscheinung nur angedeutet ist oder ganz fehlt. Vermutlich handelt es sich dabei um Variationen der Dicke, welche in einem anderen Medium als dem Blut diese individuellen Unterschiede hervortreten lassen. Die Herkunft des Serums spielt dabei keine Rolle. Sogar Mäuseblut, das dem Darm eines Blutegels entnommen wurde, 3 Tage nachdem dieser an einer infizierten Maus gesaugt hatte, enthielt noch doppelkonturierte Rekurrensspirochäten. Die Angabe von KARWACKI (1912), daß *Spirochaeta recurrentis* *Obermeieri* im Innern des Blutegels ihre Gestalt verändert und ein dünneres Aussehen zeigt, konnte also mit meiner genaueren Methodik nicht bestätigt werden. Außer *Spirochaeta Obermeieri* zeigen auch alle weiteren fünf von mir untersuchten Rekurrensstämme (*hispanica*, *usbekistanica*, *Duttoni*, *Angola*, *crociduræ*) unter denselben Bedingungen

¹⁾ Eine schwächere Gesamtvergrößerung als 600 läßt die hier in Rede stehende Erscheinung nicht mehr mit genügender Deutlichkeit hervortreten. Es braucht wohl nicht besonders hervorgehoben zu werden, daß die richtige Objektträger- und Deckglasdicke eingehalten werden muß. Die Kondensoren müssen exakt zentriert und fokussiert sein.

die Erscheinung der Doppelkonturierung. Nachdem ich meine frühere Arbeitsstätte verlassen hatte, sind uns, wie erwähnt, drei weitere Recurrensstämme durch Herrn Prof. Dr. BRUMPT überlassen worden (*Turicata* A, Mäuse 72/XVII und 73/XVII, *Turicata* B, Mäuse 40/XVII und 41/XVII und *Spirochaeta Novyi*, Ratten 680 und 681/XVII). Die an diesen drei Stämmen durch Herrn Prof. JAHNEL erhobenen Feststellungen sollen hier angereicht werden. Bei den beiden *Turicata*-Stämmen ist die Doppelkonturierung auch im Mäuse- und Rattenblut nicht sehr ausgesprochen und nicht regelmäßig sichtbar, sondern läßt sich nur an einzelnen Exemplaren feststellen. In Reagensglaskulturen dieser Spirochäten sieht man kaum doppelkonturierte Individuen, hingegen ist bei der ebenfalls aus Amerika stammenden

Spirochaeta Novyi die Doppelkonturierung im Ratten- und Mäuseblut sehr deutlich ausgeprägt. BRUMPT hat bereits eine Verschiedenheit der *Spirochaeta turicata* A und B von der *Spirochaeta Novyi* festgestellt, indem letztere sich nicht durch *Ornithodoros turicata* übertragen läßt, wenigstens jetzt, wo der Stamm seit dem Jahre 1908 ununterbrochen in Ratten fortgeführt wurde. Die ausgeprägte Doppelkonturierung bei der *Spirochaeta Novyi* im Gegensatz

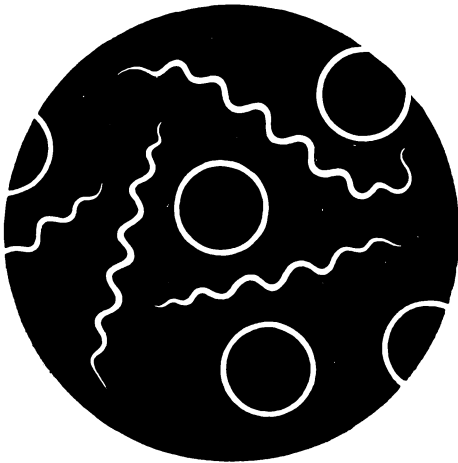


Fig. 1. Hühnerspirochäten in Mäuseblut (unechte Infektion). Kardioidkondensator.

zu den beiden *Turicata*-Stämmen würde ein weiteres Unterscheidungsmerkmal abgeben. Mithin erscheinen durch die Beobachtung der Doppelkonturierung auch morphologische Unterscheidungen innerhalb der Rekurrensgruppe möglich. Auch die *Spirochaeta turicatae* läßt sich im Mäuse- bzw. Rattenblut von der *Spirochaeta gallinarum* abgrenzen, indem doch einzelne Exemplare die Doppelkonturierung aufweisen, während die lebenden, zwischen den Blutkörperchen sich frei bewegenden Geflügelspirochäten eine Doppelkonturierung nicht zeigen.

2. Sobald die Rekurrensspirochäten abgetötet werden, verschwindet diese Erscheinung. Man kann diesen Vorgang schrittweise verfolgen, wenn man ein nicht umrandetes Präparat längere Zeit unter dem Mikroskop beobachtet. In dem Maße, wie die Flüssig-

keit austrocknet, sterben die Spirochäten langsam ab. Dabei gehen mit ihnen Veränderungen vor sich, die ein langsames Schwinden der Doppelkonturen zur Folge haben. Ebenso wenig sind fixierte Rekurrensspirochäten (Ausstrich- und Schnittpräparate) jemals doppeltkonturiert, nicht einmal bei Anwendung der Leuchtbildmethode, die im SIEDENTOPF'schen Leuchtbildkondensator die Anwendung besonders hoher Beobachtungsaperturen gestattet.

3. *Spirochaeta gallinarum* zeigt im Gegensatz zu *Spirochaeta recurrentis* niemals eine Doppelkonturierung. Alle drei Stämme erscheinen als einfache weiße Linien (s. Fig. 1).

4. Das Auftreten der Doppelkonturierung der Rekurrensspirochäten hängt von der verwendeten Optik ab. Dunkelfeldbeleuchtung kann bekanntlich mit einer Reihe von Kondensoren verschiedener Konstruktion erzielt werden. Man bedient sich dazu in erster Linie der speziellen Dunkelfeldkondensoren (Reflex- oder Spiegelkondensoren) oder eines Hellfeldkondensators (Linsenkondensator) mit Zusatzapparat (nach dem Prinzip der zentralen Strahlenablenkung). Fast alle derzeit

von den größeren optischen Firmen Deutschlands und Österreichs gelieferten Modelle standen mir für meine Untersuchung zur Verfügung. Diese verhalten sich nun bezüglich der Darstellung von

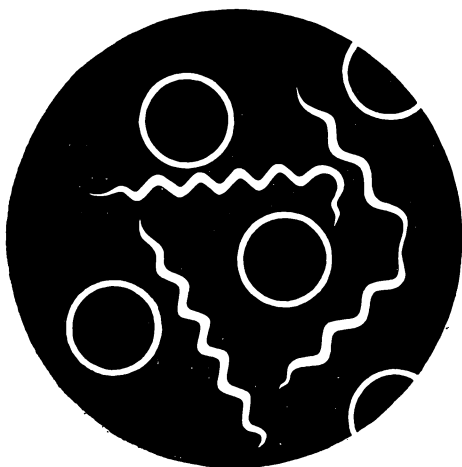


Fig. 2. Rekurrensspirochäten in Mäuseblut. Trockenkondensator.

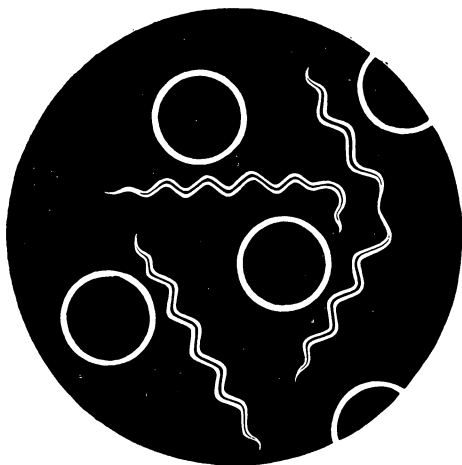


Fig. 3. Rekurrensspirochäten in Mäuseblut. Kardioidkondensator. Gleiches Präparat wie Fig. 2. Ein Individuum in Querteilung.

Spirochaeta recurrentis nicht gleichartig, sondern lassen sich vielmehr in zwei verschiedene Gruppen einteilen. Eine Gruppe der Kondensoren zeigt die Erscheinung der Doppelkonturierung sehr deutlich. Zu ihr gehören von den zweiflächigen Immersionskondensoren für Dunkelfeld der SIEDENTOPF'sche Kardiodkondensator (Modell 1925) und der SIEDENTOPF'sche Leuchtbildkondensator (beide von ZEISS), der BEREK'sche bizentrische Immersionskondensator von LEITZ (n. A. = 1,20), der anastigmatische Kondensator von BUSCH und der HEIMSTÄDT'sche Spiegelkondensator (REICHERT) in der Ausführung mit auswechselbarer Stempelblende 11 mm. Unter gewissen Voraussetzungen erlauben auch manche Hellfeldkondensoren die Beobachtung der geschilderten Erscheinung. Hier wären zu erwähnen der aplanatische und achromatische METZ'sche Kondensator (LEITZ) bei Verwendung der zugehörigen Zentralblende 1,2 oder der von JADASSOHN (1932) angegebenen Gummischeibe als Blende und der dreilinsige ZEISS'sche Kondensator mit Originalblende 24 mm. Eine andere Gruppe von Kondensoren zeigt das Phänomen überhaupt nicht. Die Rekurrensspirochäte erscheint hier, wie das bei *Spirochaeta gallinarum* ständig der Fall ist, ebenfalls als einfache helle Linie (s. Fig. 2). Zu dieser Gruppe gehören von den speziellen Dunkelfeldapparaten alle Trockenkondensoren, also der SIEDENTOPF'sche Gaskondensator (ZEISS), der bizentrische Kondensator (n. A. = 0,80) von LEITZ und der Planktonkondensator (n. A. = 0,45) von LEITZ. Diesen reihen sich an die Hellfeldkondensoren von ZEISS, LEITZ usw. in Verbindung mit Zentralblenden von geringem Durchmesser. Zwischen diesen beiden Hauptgruppen stehen noch einige Kondensoren, die gleichsam einen Übergang darstellen. Sie zeigen die Doppelkonturen meist nur schwach oder nur an einzelnen Spirochäten deutlicher, an anderen nahezu überhaupt nicht. Hierher gehören der Paraboloidkondensator von SIEDENTOPF (altes und neues Modell von ZEISS), der Wechselkondensator von SIEDENTOPF (ZEISS) und der konzentrische Kondensator von JENTZSCH (LEITZ). Bei dem neuen Spitzbogenkondensator von HEIMSTÄDT (REICHERT) ist das Phänomen nicht sehr deutlich in Erscheinung getreten. Die hier genannten Kondensoren unterscheiden sich außer durch die Konstruktion vor allem durch ihre verschiedene innere numerische Apertur. Betrachtet man unter diesem Gesichtspunkt die aufgestellten Gruppen, so ergibt sich folgende Gesetzmäßigkeit. Das Phänomen der Doppelkonturierung von Rekurrensspirochäten tritt in der Regel nur auf bei Verwendung von Kondensoren mit einer hohen inneren numerischen Apertur, die also die Beobachtung des Objektes mit einem Objektiv von hoher Apertur zulassen. Dies läßt sich besonders schön durch Auswechseln der

zentralen Blenden beim METZ'schen aplanatischen Kondensator demonstrieren. Blende 1,2 zeigt, wie schon erwähnt, die Erscheinung sehr deutlich; bei Blende 1,0 ist sie nur mehr schwach angedeutet; noch kleinere Blenden lassen sie gänzlich verschwinden. Wenn man sich vergegenwärtigt, daß mit der numerischen Apertur eines optischen Systems sein Auflösungsvermögen steigt, so läßt sich das Phänomen der Doppelkonturierung folgendermaßen erklären: Ist ein Körper so fein (die Dicke der Hühner- und Rekurrensspirochäten liegt an der Grenze der Sichtbarkeit im Hellfeld), daß die an seinen Kanten (d. h. im physikalischen Sinn an den Trennungslinien zweier Medien) entstehenden Beugungsbilder im Mikroskop nicht mehr getrennt wahrnehmbar, d. h. nicht mehr auflösbar sind, so fallen sie in eine Linie zusammen. Das ist nun bei *Spirochaeta gallinarum* tatsächlich der Fall. Die höchsten Aperturen der von mir benutzten Kondensoren genügen nicht um hier zwei getrennte Linien in Erscheinung treten zu lassen. Dagegen ist dies von bestimmten hohen Aperturen der Kondensoren an bei *Spirochaeta recurrentis* noch möglich. Allerdings muß hier die Einschränkung gemacht werden, daß lediglich die Höhe der Kondensatorapertur, welche ihrerseits die Benutzung einer höheren Apertur des Beobachtungsobjektivs gestattet, für die Entstehung des Phänomens der Doppelkonturierung nicht allein ausschlaggebend ist. Es dürfte hier wohl noch ein in der Konstruktion des betreffenden Kondensators begründeter Faktor eine Rolle spielen. Darauf deuten Untersuchungen hin, die Prof. JAHNEL nach meinem Ausscheiden aus dem Münchener Institut mit einem neuen Dunkelfeldkondensator angestellt hat (mit dem NELSON'schen Cassegrainkondensator der Firma WATSON in London). Dieser Kondensator erlaubt noch wässrige Präparate mit einer Objektivapertur von 1,3 zu beobachten. Hier ist zwar auch eine Doppelkonturierung der Rekurrensspirochäten sichtbar, sie ist aber keineswegs so deutlich, wie bei Benutzung des SIEDENTOPF'schen Kardioidekondensators und einer Objektivapertur 0,85 bis 1,05. Untersucht man übrigens sehr dünne Präparate von lebenden Rekurrensspirochäten mit dem SIEDENTOPF'schen Leuchtbildkondensator, der bekanntlich nur für gefärbte Ausstrichpräparate bestimmt ist, so kann man auch mit Objektiven bis zu Apertur 1,3 beobachten. Aber auch hier tritt keine Zunahme der Deutlichkeit der Doppelkonturierung gegenüber dem Kardioidekondensator 1925 ein, bei welchem nach Angabe der Firma ZEISS Objektive bis zur Höchstapertur 1,05 zulässig sind. Allerdings ist auch bei Dunkelfeldkondensoren mit so hohen Aperturen die Lichtstärke eine viel geringere.

Aus den mitgeteilten Untersuchungen mit Hilfe geeigneter Kondensoren ergibt sich also ein deutlicher Unterschied zwischen Rekurrens- und Hühnerspirochäten und man kann daraus folgern, daß die Rekurrensspirochäten dicker sind als die Hühnerspirochäten.

Für die Ansicht ROBERTSON'S (1932), daß die Rekurrensspirochäten ihrer ganzen Länge nach gleich dick sind, spricht, daß die Doppelkonturierung an allen Stellen gleichmäßig auftritt. Bei der Querteilung allerdings dehnt sich eine Stelle des Spirochätenkörpers etwas auseinander und wird dadurch dünner als die übrigen Teile. Dieses Verbindungsstück, dessen Teile nach der Trennung der beiden Individuen diesen noch einige Zeit als Endfäden anhaften, zeigen auch im Kardioidkondensator keine Doppelkonturierung (vgl. Fig. 3). Das Auftreten bzw. Fehlen der Doppelkonturierung bei gleichen optischen Bedingungen ist also hauptsächlich von der Dicke abhängig. Dies wird Herr Prof. Dr. SIEDENTOPF noch mathematisch begründen. Rekurrens- und Hühnerspirochäten verhalten sich, wie wir gesehen haben, in dieser Hinsicht verschieden. Daraus ergibt sich eine Möglichkeit, beide Arten mühelos und eindeutig voneinander zu unterscheiden, während bisher keine ausreichende Methode dafür bekannt war.

Die praktische Bedeutung dieses neuen Unterscheidungsmerkmals ist in folgendem zu sehen: 1. Beim Auftreten einer bisher unbekanntem Blutspirochäte beim Menschen kann auf Grund des Vorhandenseins oder Fehlens der Doppelkonturierung mit Sicherheit entschieden werden, ob sie in die Gruppe der bekannten Rückfallfieberspirochäten gehört oder nicht. 2. Bei gleichzeitiger Anwesenheit beider Erreger im Mäuseblut, wie sie zum Studium der antagonistischen Wirkungen von Hühner- und Rekurrensspirochäten bei gewissen therapeutischen Versuchen zustandegebracht wird, kann diese Methode zur Unterscheidung herangezogen werden. Nur bezüglich der *Spirochaeta turicatae* läßt sich die Unterscheidung bei derartigen Doppelinfektionen nicht bei jedem Individuum treffen. Sie hat in dieser Richtung bei Versuchen von R. WAGNER (1933) in unserem Institut schon gute Dienste geleistet. 3. Das Vorhandensein oder Fehlen von Doppelkonturen bei bestimmten Beobachtungsaperturen stellt ein neues Unterscheidungsmerkmal für Spirochäten im allgemeinen dar, das bei künftigen Untersuchungen zu berücksichtigen sein wird. Ich möchte dafür ein Beispiel anführen. HOHLWEG und FISCHL (1933) geben an, daß die Dicke einer von ihnen beschriebenen Spirochäte, die in der Vagina Vitamin-A-frei ernährter Ratten vorkommt, gleich

ist der von Rekurrensspirochäten. Ich konnte diese Spirochäten ¹⁾ daraufhin genauer untersuchen und feststellen, daß sie sicher dünner sind als die Rekurrensspirochäte, da sie bei keiner Optik eine Doppelkonturierung zeigen. 4. Das Phänomen der Doppelkonturierung scheint uns einen Weg aufzuzeigen, um an den feinsten Objekten, die bisher einer genauen Messung überhaupt unzugänglich waren, wenigstens relative Dickenbestimmungen vorzunehmen. Die Ausarbeitung einer exakten Methode hierfür muß von physikalischer Seite geschehen. Herr Prof. SIEDENTOPF, der mir die optischen Bedingungen für diese Erscheinung in liebenswürdiger Weise auseinandergesetzt hat, hat Untersuchungen nach dieser Richtung bereits unternommen.

Mir kam es zunächst darauf an auch andere Mikroorganismen oder feinste organische Strukturen vergleichsweise auf ihr verschiedenes Verhalten im Dunkelfeld zu prüfen. Ich will hier nur über einige orientierende Vorversuche berichten, um zu zeigen, nach welcher Richtung etwa weitere Untersuchungen unternommen werden müßten. Wir wollen zunächst nur folgende drei Dickenabstufungen voneinander unterscheiden:

1. Ein Objekt zeigt dasselbe optische Verhalten wie *Spirochaeta recurrentis*, d. h. es zeigt bei höherer num. Apertur (Kardioidkondensator) zwei Konturen, bei niedrigerer (Trockenkondensator) nur eine Linie. Dieser Fall berechtigt uns zur Annahme, daß das Objekt gleich oder annähernd gleich dick ist wie *Spirochaeta recurrentis*.

2. Ein Objekt ist dicker als *Spirochaeta recurrentis*, wenn die an seinen beiden Kanten im Dunkelfeld entstehenden Beugungsbilder auch im Trockenkondensator noch als zwei getrennte helle Linien wahrnehmbar sind.

3. Ein Objekt ist dünner als die Rekurrensspirochäte, wenn es, wie *Spirochaeta gallinarum* auch bei Anwendung der höchsten num. Aperturen nur als einfache helle Linie im Dunkelfeld sich darstellt.

Für alle drei Gruppen ließ sich eine Reihe von geeigneten Objekten vor allem unter den Mikroorganismen finden. Betrachten wir zunächst einige weitere Vertreter der Spirochäten. Ich untersuchte außer Hühner- und Rekurrensspirochäten *Spirochaeta pallida*, *Sp. cuniculi*, *Sp. icterogenes* und *Sp. pseudoicterogenes*, Mundspirochäten und verschiedene andere saprophytische Formen des Menschen, der Ratte, der Maus und einiger Amphibien und Reptilien. Sie zeigen alle dasselbe Verhalten wie *Spirochaeta gallinarum*; keine Spirochäte

¹⁾ Solche spirochätenführende Tiere wurden uns von der Firma SCHERING überlassen.

verhält sich wie die Rekurrensspirochäten. Sie sind demnach alle in die zweite Gruppe einzuordnen. Dagegen erwiesen sich einige Cristispiren aus dem Kristallstiel von Muscheln (Anodonta) als so dick, daß sie auch im Trockenkondensator zweifach konturiert erschienen. Dasselbe ließ sich an einigen Spirillen feststellen, besonders schön am *Spirillum rubrum* ESMARCH, das von MEIROWSKY (1914) bereits mit zwei Konturen abgebildet wird. Unter den Bakterien kommen alle drei Dickenordnungen vor.

Darüber hinaus wurden als besonders schöne Objekte für vergleichende Dickenbestimmungen auch die Spermien verschiedener Wirbeltiere und Wirbelloser herangezogen. Sie zeigen an manchen günstigen Stellen auch Übergänge zwischen den drei Dickenordnungen. Ich möchte hier nur einige besonders geeignete Beispiele herausgreifen. Untersucht man lebende Spermien eines Säugetieres, etwa die des Meerschweinchens im Kardioidkondensator, so erscheint die Pars principalis des Schwanzstückes in ihrer ganzen Länge deutlich doppelkonturiert. Im LEITZ-Trockenkondensator ist dieselbe Zone nur etwa im ersten Drittel doppelkonturiert um dann allmählich in eine einfache Linie überzugehen. Die kurze Pars terminalis ist wesentlich dünner und stellt sich in beiden Kondensatoren nur als einfache Linie dar. Ähnliche Bilder erhält man mit Spermien von Kaninchen, Igel oder Feldmaus. Daraus läßt sich einmal entnehmen, daß der Hauptteil des Schwanzes von Säugetierspermien eine ähnliche Dicke besitzt wie Rekurrensspirochäten. Ferner läßt sich auf diese Weise zeigen, daß die Pars principalis nicht gleichmäßig dick ist, sondern in der Richtung gegen das Schwanzende allmählich dünner wird. In die Dickenordnung der Hühnerspirochäten gehört die Schwanzregion der Spermien einiger Frösche (z. B. *Rana ridibunda*), Seeigel (*Psammechinus miliaris*) und Muscheln (*Anodonta*). Sie ist auch im Kardioidkondensator nur eine helle Linie. Dasselbe gilt für die beiden Schwanzfäden am Krötensperma (*Bufo vulgaris*, *B. viridis*). Dickere Strukturen finden wir in dem stark in die Länge gezogenen Kopfstück einiger Amphibien (*Salamandra maculosa*, *Bufo vulgaris*), das auch bei schwacher Apertur zwei Konturen zeigt. Ähnlich liegt der Fall bei *Pelobates fuscus*, wo der Vergleich mit Rekurrensspirochäten oder *Spirillum rubrum* noch durch die spiralig gewundene Form des Kopfstückes erleichtert wird. Die Mehrzahl der Spiralen ist im Kardioidkondensator doppelkonturiert. Die vordersten Windungen sind dünner; im Kardioidkondensator erscheinen 2—3, im Trockenkondensator etwa 4 Windungen einfach. Der Übergang zu den doppelkonturierten Windungen ist auch hier schön zu beobachten. Ferner wurden Cilien und Flagellen einer Reihe von Protozoen untersucht. Diese sind stets so fein, daß man niemals zwei Konturen an ihnen wahrnehmen kann.

Außer solchen Objekten wurden noch viele Beispiele tierischer Feinstrukturen (Spermien von Käfern und Schmetterlingen, die feinsten Endverzweigungen der Insektentracheen usw.) mit den Spirochäten im Hinblick auf ihre Dicke verglichen. Die Ergebnisse sollen unter den hier dargelegten Gesichtspunkten und auf der Grundlage der von Prof. SIEDENTOFF unternommenen physikalischen Untersuchungen später mitgeteilt werden.

Literaturverzeichnis.

- BODECHTEL, G. (1930): Sind Rekurrens- und Hühnerspirochäten auf Kaltblütler übertragbar? Zeitschr. f. Hyg. Bd. 111 p. 348.
- BRUMPT, E. (1933 a): Etude de la fièvre récurrente sporadique des Etats-Unis, transmise dans la nature par *Ornithodoros turicata*. C. r. Soc. Biol. T. 113 p. 1366.
- (1933 b): Etude du *Spirochaeta turicatae* n. sp. Agent de la fièvre récurrente sporadique des Etats-Unis, transmise par *Ornithodoros turicata*. Ibid. T. 113 p. 1369.
- (1934): Essai de transmission, par l'*Ornithodoros turicata*, d'une souche de *Spirochaeta novyi*, ayant subi plus de 3.000 passages sur rats. Ibid. T. 115 p. 600.
- DEUTZ, (1912): Über Versuche zur Übertragung von Hühnerspirochäten auf Mäuse. Hyg. Rundsch. Bd. 22 Nr. 16.
- GABRITSCHESKY, G. (1898): Beiträge zur Pathologie und Serotherapie der Spirochäten-Infektionen. Zentralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 23 p. 365, 439, 635, 721, 778.
- HARTMANN, M. u. C. SCHILLING (1917): Die pathogenen Protozoen. Berlin.
- HOHLWEG, W. u. V. FISCHL (1933): Vorkommen von Spirochäten in der Vagina Vitamin A-frei ernährter Rattenweibchen. Klin. Wochenschr. Bd. 12 p. 1139.
- JADASSOHN, W. (1932): Verbilligung der Dunkelfeldapparatur. Dermat. Wochenschr. Bd. 95 Nr. 37.
- JAHNEL, F. (1934): Läßt sich die *Spirochaeta pallida* auf künstlichen Nährböden kultivieren? Klin. Wochenschr. Nr. 15 p. 550.
- JAHNEL, F. u. A. PENTSCHEW (1930): Über „Infektionen“ von Vögeln mit Rekurrensspirochäten und Säugetiertrypanosomen. Zentralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 115 p. 167.
- KARWACKI, L. (1912): Über die Morphologie der *Spirochaeta Obermeieri*, kultiviert im Blutegel. Zentralbl. f. Bakt. I. Orig. Bd. 62 p. 250.
- KNUTH, P. u. P. J. DU TOIT (1921): Tropenkrankheiten der Haustiere. Handb. d. Tropenkrankh. Bd. 6 (2. Aufl.).
- KOLLE, W. u. H. HETSCH (1929): Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten. Bd. 2 (7. Aufl.). Berlin u. Wien.
- LEVADITI, C. (1904): Contribution à l'étude de la spirillose des poules. Ann. Inst. Pasteur Vol. 18 p. 129.
- LEVADITI, C. u. F. LANGE (1905): La spirillose du lapin. Mécanisme de la crise. C. r. Soc. Biol. Vol. 58 p. 843.
- MEIROWSKY, E. (1914): Studien über die Fortpflanzung von Bakterien, Spirillen und Spirochäten. Berlin.
- MÜHLENS, P. (1907): Vergleichende Spirochätenstudien. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 57.
- PENTSCHEW, A. (1929): Beeinflussung der Empfänglichkeit der Mäuse für die *Spirochaeta gallinarum* durch sog. „Blockierung“ des Retikuloendothels. Zentralbl. f. Path. Bd. 47 p. 1.
- ROBERTSON, R. C. (1932): Relapsing fever in Shanghai. Chin. medic. journ. Vol. 44 p. 853.
- VOGEL, B. (1933): Vergleichend-morphologische Untersuchungen an Hühner- und Rekurrensspirochäten. Sitz.-Ber. Ges. Morphol. u. Physiol. München.
- WAGNER, R. (1933): Über die Wirkung von Solganal und Neosalvarsan bei unnatürlicher Infektion. Arch. f. Dermat. Bd. 167 p. 595.
- WENYON, C. M. (1926): Protozoology. Vol. 2 p. 1262. London.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Archiv für Protistenkunde](#)

Jahr/Year: 1935

Band/Volume: [85 1935](#)

Autor(en)/Author(s): Scharrer B.

Artikel/Article: [Über die Feststellung von Dickenunterschieden an lebenden mikroskopischen Objekten, dargelegt am Beispiel der Unterscheidung von Hühner und Rekurrensspirochäten. 87-99](#)