

# Übermikroskopische Bakterienaufnahmen.

Von Bodo von Borries, Ernst Ruska und Helmut Ruska.

Mit 16 Bildern.

Mitteilung aus der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité zu Berlin und dem Zentrallaboratorium des Wernerwerkes der Siemens & Halske AG zu Siemensstadt.

Eingegangen am 25. Februar 1938.

Mit dem in der vorhergehenden Arbeit<sup>1)</sup> beschriebenen Übermikroskop wurden verschiedene Bakterien bei bis 21 000facher elektronenoptischer Vergrößerung untersucht, worüber nachstehend berichtet werden soll.

Elektronenmikroskopische Aufnahmen von Bakterien wurden erstmalig von L. Marton<sup>2)</sup> erhalten. Nach ihm hat kürzlich auch F. Krause<sup>3)</sup> über elektronenoptische Bakterienbilder berichtet. L. Marton zeigte mit Chromsäure fixiertes und mit Fuchsin gefärbtes, auf einer Zellososechicht liegendes Chromobacterium prodigiosum (750fach elektronenoptisch, nachvergrößert auf 2000fach), F. Krause mit Formalin fixierte Heubazillen auf einem Trägerhäutchen und auf einem gefärbten Trägerhäutchen (2000fach bzw. 2600fach elektronenoptisch). In beiden Fällen beobachtet man außerordentlich kontrastreiche Umrißbilder, die den bisher aus der Lichtmikroskopie bekannten Erscheinungen entsprechen. F. Krause konnte darüber hinaus bei den Heubazillen Körperchen von 0,1 bis 0,2  $\mu$  Größe feststellen, deren Zahl mit wachsendem Alter der Kultur zunahm.

Die Verfasser der vorliegenden Arbeit verwenden als Objektträger Kollodiumfolien von etwa 20  $m\mu$  Dicke, die über Metallblenden von 0,03 bis 0,3 mm Lichtem Durchmesser gespannt sind. Auf diese Folie werden die Bakterien aus einer Aufschwemmung in Wasser noch lebend in einem kleinen Tropfen aufgebracht. Der Trockenvorgang kann im Lichtmikroskop beobachtet werden. Anschließend wird die Trägerblende in das Übermikroskop eingeschleust. Das Mikroskop wird vorher an einem entsprechenden Probeobjekt oder auch einem feinen Drahtnetz so genau eingestellt, daß die Fokussierung kaum noch nachgestellt zu werden braucht. Man kann mittels der Objektverschiebung die Folie im Zwischenbild bequem absuchen, interessierende Bereiche ins endgültige Bild bringen und dann kurz nach dem Einschleusen bereits zu Aufnahmen schreiten, so daß die Objekte nur wenig beansprucht werden. Im Zwischenbild merkt man sich dabei den Ort des weitervergrößerten Objektbereiches, wodurch das Wiederfinden der aufgenommenen Einzelheit im Licht-

---

<sup>1)</sup> B. v. Borries und E. Ruska: *Wiss. Veröff. Siemens* **XVII**, 1 (1938) S. 99.

<sup>2)</sup> L. Marton: *Bull. Acad. Belg., Classe des Sciences* **23** (1937) S. 672.

<sup>3)</sup> F. Krause: *Naturwiss.* **25** (1937) S. 817.

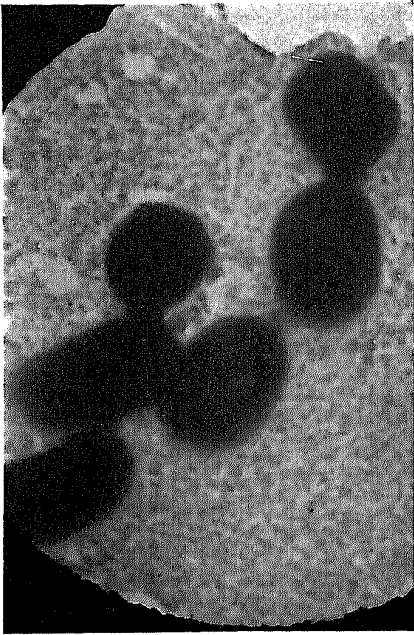


Bild 1. Mikrocooccus flavus.  
16000 fach el. opt.

Die Gebilde neben den Kokken gehören nicht der Folie an. Vergleichsaufnahmen von unbeschickten Objekträgerhäuten zeigen bei dieser Vergrößerung völlig klaren Grund.

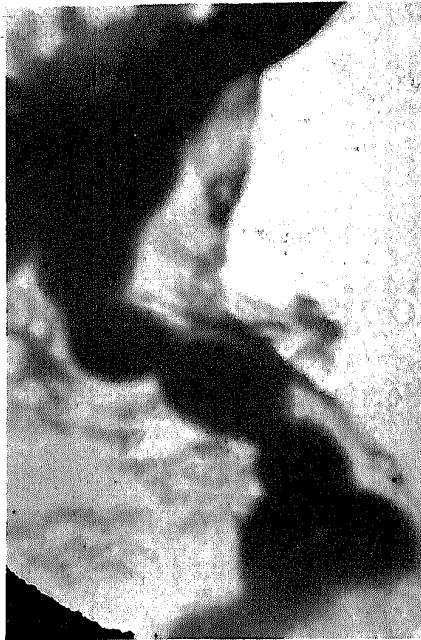


Bild 2. Enterococcus.  
15500fach el. opt.

Die lange Bakterienkette liegt am Rande der zerstörten Folie.



Bild 3. Staphylococcus aureus.  
21200fach el. opt.

Außer den auch auf Bild 1 und 6 sichtbaren Gebilden sind hier auf der Folie in unmittelbarer Nachbarschaft der Kokken nach Änderungen in der Grundbelegung der Folie zu erkennen, wie sie noch klarer in Bild 5 a der vorhergehenden Arbeit<sup>1)</sup> zum Ausdruck kommen. Es ist nicht unmöglich, daß es sich hier um geformte Stoffwechselprodukte der Bakterien handelt.



Bild 4. Streptococcus viridans.  
15000fach el. opt.

Bemerkenswert ist hier die Anwesenheit von Kokken verschiedener Größe. Der Kokkus kurz oberhalb der Mitte des Bildes scheint gerade zu sprossen.



Bild 5. Streptococcus mucosus. 10000fach el. opt.  
Dieser Kokkus zeigt, abweichend von den anderen Kokken, eine eckige Außenkontur.

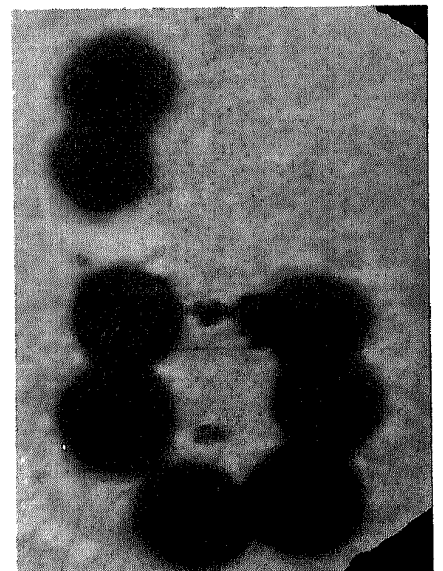


Bild 6. Streptococcus haemolyticus. 16000fach el. opt.  
Auf der Folie sind wieder ähnliche Gebilde zu sehen wie auf Bild 1.

<sup>1)</sup> B. v. Borries u. E. Ruska: a. a. O.



Bild 7. Bacterium coli. 17100fach el. opt.

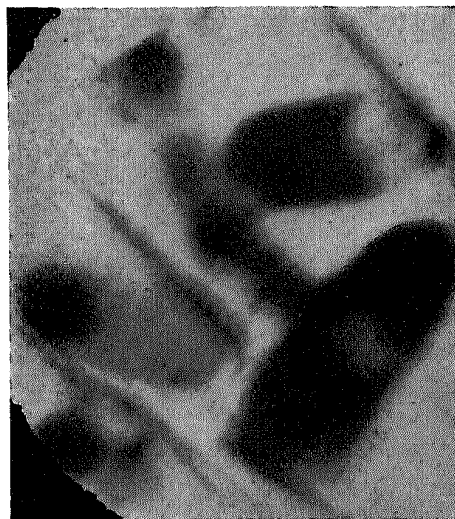


Bild 8. Bacterium coli. 17200fach el. opt.

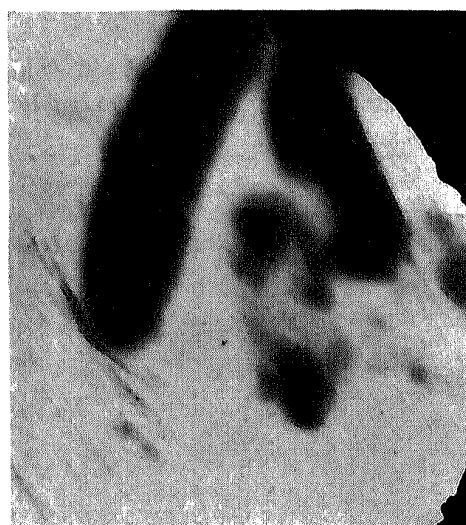


Bild 9. Bacterium coli. 16000fach el. opt.

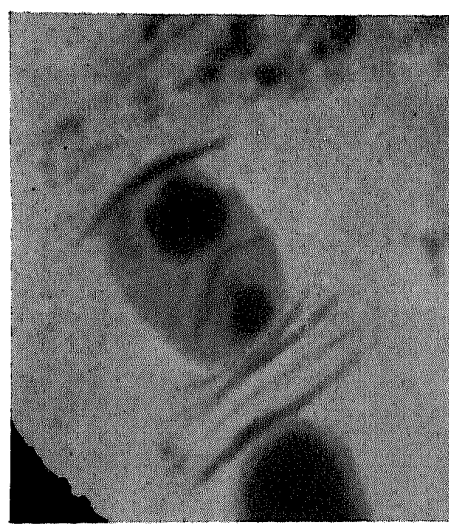


Bild 10. Bacterium coli. 17300fach el. opt.



Bild 11. Bacterium coli. 14800fach el. opt.

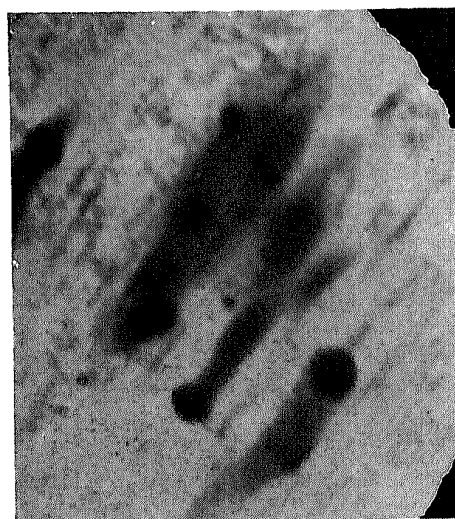


Bild 12. Bacterium coli. 19300fach el. opt.

Die Bilder 7 ··· 10 stammen aus einer frischen, die Bilder 11 und 12 aus einer alter Kolikultur. Man erkennt die große Mannigfaltigkeit in der äußeren Gestalt und in den Innenstrukturen. Letztere konnten bisher bei Anwendung von Färbemethoden mit den besten Lichtobjektiven nur noch zum Teil erkannt werden. In den hier gezeigten Bildern treten sie aber wesentlich klarer hervor und erstrecken sich auch noch zu Größen herunter, die längst ultravisibel sind. Besonders hingewiesen sei auf die Kornstruktur in Bild 11. Bild 10 zeigt sehr deutlich die durch das Bakterium hervorgerufenen Falten in der Trägerfolie, deren Dicke nur den 10 ··· 20. Teil des Bakteriums ausmacht.

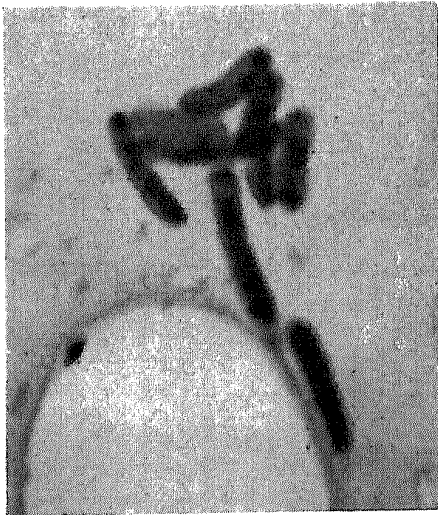


Bild 13a. 4200fach el. opt.  $\times$  2,4fach  
nachvergrößert = 10000fach.



Bild 13b. 1000fach lichtoptisch.  $\times$  10fach  
nachvergrößert = 10000fach.

Bild 13. *Bacterium coli*.

Diese Bilder zeigen die gleichen Individuen bei elektronenoptischer und lichtoptischer Aufnahme. Die Größe der dunklen Punkte in den Bakterien liegt zwischen 100 und 200  $\mu$ ; sie sind also lichtoptisch praktisch nicht mehr auflösbar.



Bild 14a. 18900fach el. opt.



Bild 14b. 1000fach lichtopt.  $\times$  7fach  
nachvergrößert = 7000fach.

Bild 14. *Pseudodiphtheriebazillen*.

Hier erkennt man ebenso wie in Bild 13 die Überlegenheit des Elektronenmikroskops. Bemerkenswert sind die Punkte um die Bakterien, deren Größe 10  $\cdots$  50  $\mu$  beträgt.

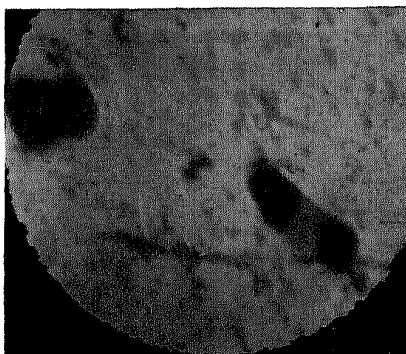


Bild 15. *Pseudodiphtheriebazillen*. Stäbchen  
mit Polkörnern 10800fach el. opt.



Bild 16. *Pseudodiphtheriebazillen*. Isolierte  
Polkörper 15400fach el. opt.

Die Bilder 15 und 16 stammen aus dem gleichen Präparat wie Bild 14. Der Vergleich der 3 Bilder legt es außerordentlich nahe, die Körper in Bild 16 als isolierte Polkörper und das weniger dichte Ende des einen Bakteriums in Bild 14 als stehengebliebene Brücke zu einem schon abgestoßenen Polkörper zu betrachten.



mikroskop (nach der Ausschleusung) erleichtert wird. Im Lichtmikroskop zeigen die Bakterien nach dem Elektronenbeschuß eine leichte Bräunung, die an Stelle einer vorherigen Färbung ihre lichtoptische Beobachtung erleichtert. Sämtliche elektronenoptische Aufnahmen dieser Arbeit sind also im mikroskopischen Sinn „ungefärbt“.

Untersucht wurden verschiedene Streptokokken, ein Staphylokokkus, ein Enterokokkus, Kolibakterien und Pseudodiphtheriebazillen. Die erzielten Ergebnisse sind in den vorangehenden Bildern wiedergegeben. Unter den einzelnen Bildern ist jeweils das erwähnt, was besonders bemerkenswert ist.

### Zusammenfassung der Ergebnisse.

Kokken lassen bei den verwendeten Elektronenbeschleunigungsspannungen von 60 bis 70 kV keine Innenstrukturen erkennen. Eine Ausnahme macht der Staphylokokkus aureus, Aufnahme 5a der vorhergehenden Arbeit<sup>1)</sup>, bei dem man eine schalenartige Randstruktur vermuten kann. Bei den Kolibazillen zeigt sich eine überraschende Mannigfaltigkeit der Form, der Dichte und der Innenstrukturen, deren biologische Deutung verfrüht wäre. Die Polkörper bei Pseudodiphtheriebazillen sind durch ihre charakteristische Form am einzelnen Bazillus und isoliert in besonders schöner Weise zu erkennen.

Neben den Bakterien erkennt man auf den Folien die verschiedenartigsten Gebilde, deren Größen bis zu 10  $\mu$  heruntergehen. Diese liegen damit unterhalb der Größe der Viren und Bakteriophagen. Zum Vergleich sei angegeben, daß ein Hämoglobulinmolekül etwa 2  $\mu$  mißt. Da die Gestaltung und Verteilung der Gebilde in unmittelbarer Nähe der Bakterien anders ist als auf dem übrigen Foliengrunde, liegt der Gedanke nahe, daß es sich hier z. T. um geformte Stoffwechselprodukte handelt.

Dem Direktor der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité, Herrn Prof. Dr. R. Siebeck, danken wir für sein Eintreten für die Anwendung des Übermikroskops auf medizinisch-biologische Fragen.

<sup>1)</sup> B. v. Borries und E. Ruska: a. a. O.