

## ORIGINALIEN.

### BAKTERIEN UND VIRUS IN ÜBERMIKROSKOPISCHER AUFNAHME

(mit einer Einführung in die Technik des Übermikroskops).

Von

B. VON BORRIES, E. RUSKA und H. RUSKA.\*

Aus dem Laboratorium für Elektronenoptik des Wernerwerks F der Siemens & Halske Aktiengesellschaft und der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité.

#### Ziel der Arbeit.

Durch das Übermikroskop können solche Krankheits-erreger sichtbar gemacht werden, die bisher ohne Anwendung von Färbeverfahren wegen ihrer Kleinheit im Lichtmikroskop unsichtbar waren. Abb. 1 stellt das Virus der Mäuseektromelie in übermikroskopischer Aufnahme dar. Man kann schon heute mit Sicherheit voraussagen, daß auch diejenigen Krankheitserreger, welche sich dem morphologischen Nachweis bisher überhaupt entzogen haben, abbildbar werden. Dieser Umstand veranlaßt uns, über die im Laboratorium für Elektronenoptik des Wernerwerks F der Firma Siemens & Halske A.G. und in der I. Med. Klinik der Charité begonnenen Arbeiten<sup>1, 2</sup> am Übermikroskop zu berichten.

#### Entwicklung des Übermikroskops.

Bei dem Übermikroskop handelt es sich um eine Weiterentwicklung des magnetischen Elektronenmikroskops<sup>3</sup>. Das erste Übermikroskop wurde 1933 von dem einen von uns<sup>4</sup> gebaut und auf seine Abbildungsgüte geprüft\*\*. Es ist noch heute im Hochspannungsinstitut Neubabelsberg der T. H., Berlin, in Betrieb. Seine Leistungsfähigkeit haben DRIEST und MÜLLER<sup>7</sup> und später KRAUSE<sup>8</sup> mit sehr schönen, hochauflösenden Aufnahmen unter Beweis gestellt.

**Grundlagen des Übermikroskops.** Die Kenntnis des physikalischen Prinzips des Übermikroskops kann heute noch nicht vorausgesetzt werden. Wir halten es deshalb für richtig, auf die Wirkungsweise und den Aufbau ausführlicher einzugehen. — Es ist aus der Lehre der Elektrizität bekannt, daß um einen vom Strom durchflossenen elektrischen Leiter ein Magnetfeld entsteht und daß der vom Strom durchflossene Leiter durch ein Magnetfeld eine bewegende Kraft erfährt. In entsprechender Weise lassen sich nun nicht nur stromdurchflossene Leiter, sondern auch freie Elektronen bzw. Elektronenstrahlen magnetisch ablenken. Wollte man diese Eigenschaft für optische Zwecke ausnutzen, so mußten magnetische Felder angewendet werden, die den Elektronenstrahl in ähnlicher Weise beeinflussen wie optische Linsen das Licht. Derartige Felder oder „magnetische Linsen“ mit den Eigenschaften von Sammellinsen können durch eine Stromspule entsprechend der nebenstehenden Anordnung erzeugt werden (Abb. 2). Eine solche Spule wird zweckmäßig durch einen Eisenmantel gekapselt, der nur in der Achse der Spule einen senkrecht zur Achse verlaufenden schmalen ringförmigen Spalt freiläßt. Die freien Enden der Eisenkapselung werden, wenn die Spule vom Strom durchflossen wird, zu magnetischen Polen, und zwischen diesen entsteht ein Magnetfeld, das die Eigenschaft einer weitgehend fehlerfreien Sammellinse hat. Der Verlauf eines Elektronenstrahls durch eine solche Linse ist aus der Abbildung ersichtlich. Er ist jedoch noch dadurch kompliziert, daß die Elektronen beim Durchtritt durch die Linse aus ihrer ursprünglichen Richtung nicht nur in der

Zeichenebene abgelenkt werden, sondern noch eine spiralförmige Ablenkung um die Spulenachse erfahren. Auf den Strahl wirkt in jedem Bahnpunkt immer nur die zur Momentanrichtung des Strahls senkrechte Komponente des Magnetfeldes und erzeugt eine zu diesen beiden Richtungen wiederum senkrechte Kraft. Es entsteht so eine im Raum von Punkt zu Punkt die Richtung ändernde Kurve, die auf der Mantelfläche einer Spindel mit gekrümmter Achse liegt.

Die magnetischen Linsen haben keine feste Brennweite. Durch Änderung des Spulenstroms kann die Stärke des Magnetfeldes und damit die Brennweite der Linse geändert werden. Das elektronenoptische Bild wird mit der Änderung der Brennweite nicht nur schärfer oder unschärfer, sondern dreht sich dabei auch entsprechend der beschriebenen spiralförmigen Strahl-ablenkung in sich, d. h. um die optische Achse.

Da Elektronenstrahlen nur im Vakuum existieren können und für das Auge nicht unmittelbar sichtbar sind, muß ein elektronenoptisch betrachtetes Objekt in der Regel ebenfalls ins Vakuum gebracht werden, und das entstehende Bild muß durch einen Leuchtschirm oder die photographische Platte sichtbar gemacht werden.



Abb. 1. Übermikroskopisches Bild des Virus der Ektromelie der weißen Maus. Infektiöses Material aus der Lymphe einer erkrankten Pöte. Elektronenopt. Vergr. : 20 000.

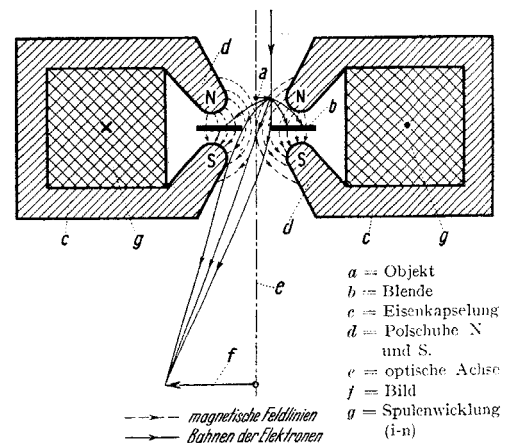


Abb. 2. Magnetische Elektronenlinse kurzer Brennweite mit eingezeichnetem Strahlengang. Das Magnetfeld der relativ großen Spulenwicklung ist mittels Eisenkapselung und Polschuhen auf einen sehr kleinen Raum in der Spulenmitte zusammengedrängt. Durch die Eigenart des Magnetfeldes erfolgt die Wiedergabe des Bildes tatsächlich nicht so wie hier gezeichnet in umgekehrter Lage ( $180^\circ$ ) gegen das Objekt, sondern hiergegen etwas gedreht, in einem davon abweichenden Winkel.

Die in dieser Arbeit gezeigten Objekte befinden sich auf  $20 \mu$  dicken Kollodiumfolien und werden bei „durchfallendem Licht“ betrachtet. Die Schwärzungsunterschiede in der Abbildung kommen im wesentlichen dadurch zustande, daß die Elektronenstrahlen, welche nahezu parallel auf das Objekt fallen, je nach der Massendicke (Dichte mal durchstrahlte Dicke) des Objekts verschieden stark zerstreut werden, und zwar um so stärker, je größer die Massendicke ist. Die in einen größeren Winkel hineingestrenten Strahlen werden nun von der nur sehr kleinen Öffnung des Objektivs nicht mehr vollständig durchgelassen (s. Abb. 2). Die Ob-

\* Als Vortrag gehalten vor der Berliner Medizinischen Gesellschaft von H. RUSKA am 22. 6. 38.

\*\* Auf diesen früheren Arbeiten fußend, haben L. MARTON in Brüssel<sup>5</sup> und L. C. MARTIN, R. V. WHELPTON und D. H. PARNUM in London<sup>6</sup> ähnliche Geräte gebaut. MARTON konnte erstmalig zeigen, daß biologische Objekte, z. B. Zellen und Bakterien, elektronenoptisch abgebildet werden können. Übermikroskopische Auflösungen erzielte er allerdings noch nicht.

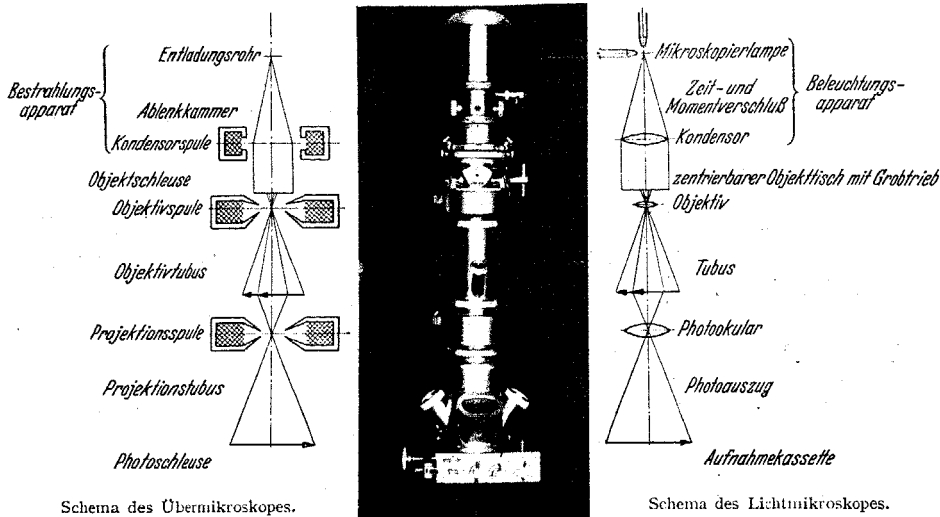


Abb. 3. Übermikroskop mit magnetischen Elektronenlinsen.

jektteile mit größerer Massendicke erscheinen daher dunkler als die mit geringerer Massendicke. Das elektronenoptische Bild gibt also Aufschluß über die Verteilung der Masse im Objekt.

**Das neue Versuchsgerät<sup>1</sup>.** Die Anordnung des Übermikroskops im Vergleich zum Lichtmikroskop zeigt Abb. 3. Das Lichtmikroskop ist im Bild zum leichteren Vergleichen mit dem Übermikroskop so dargestellt, daß sich die Lichtquelle oben und das Okular bzw. Photookular unten befindet. Beim Übermikroskop befindet sich die hochspannungsführende Kathode über dem Kopf des Beobachters. Von der Kathode aus fällt der Strahl innerhalb der evakuierten Metallapparatur senkrecht nach unten auf einen Leuchtschirm oder auf die photographische Platte. Zunächst wird der Strahl durch eine dem Kondensator des Mikroskops entsprechende „Linse“ gesammelt und beleuchtet sodann das Objekt. Von diesem entwirft die „Objektivlinse“ ein reelles, in erster Stufe vergrößertes Bild, das auf einen „Zwischenbildschirm“ der direkten Beobachtung mit dem Auge zugänglich gemacht wird. Derjenige Teil des Zwischenbildes, welcher durch ein im Zwischenbildschirm befindliches Loch hindurchtritt, wird durch die „Projektionslinse“ in zweiter Stufe vergrößert und erscheint dann als endgültiges Bild auf dem untersten (zweiten) Leuchtschirm oder auf der photographischen Platte.

Der Mittelteil von Abb. 3 zeigt das Übermikroskop, mit welchem die folgenden Aufnahmen erzielt worden sind. Am oberen Ende befindet sich zur Isolation der Kathode (Glühkathode oder kalte Kathode) von dem übrigen geerdeten Teil des Instrumentes ein Porzellanrohr. Darunter liegt eine Sperrkammer, die es erlaubt, den Strahl durch ein elektrisches oder magnetisches Feld zur Schonung des Objektes so abzulenken, daß dieses nicht dauernd bestrahlt wird.

Unter der Sperrkammer befindet sich die Kondensatorspule, die allseitig verstellbar ist und damit eine genaue Ausrichtung des Strahles auf das Objekt ermöglicht. Das Objekt wird durch die nun folgende Objektschleuse in das Mikroskop gebracht, ohne das Vakuum zu stören. Das Objekt kann gegen das Objektiv senkrecht zur optischen Achse während der Beobachtung

wie mit dem zentrierbaren Tisch des Lichtmikroskops verschoben werden, und damit kann jeder beliebige Teil des untersuchten Präparates auf den endgültigen Bildschirm gebracht werden. Außerdem kann das Objekt in Richtung der Achse des Instrumentes bewegt werden, was der Wirkung des Grobtriebs beim Lichtmikroskop entspricht. Unter dem verschiebbaren Oberteil sitzt die Objektivlinse, dann folgt der Tubus mit seitlichen Einblicköffnungen für das Zwischenbild. Das sichtbare Zwischenbild ermöglicht es, das ganze Präparat bei kleiner Vergrößerung zu übersehen. Dadurch kann man einen einmal eingestellten Objektteil sich merken und im Lichtmikroskop leicht wiederfinden. Unter dem Zwischenbild befindet sich die Projektionslinse und der untere Tubus (Projektionstubus), der durch besonders große Einblicköffnungen eine bequeme Betrachtung des endgültigen Bildes gestattet. Nach hinten führt vom Projektionstubus ein weites Rohr zur Hochvakuumpumpe. Den unteren Abschluß des Mikroskops bildet eine Schleuse, durch welche wieder ohne Störung des Vakuums eine photographische Kassette eingebracht, im Vakuum geöffnet und gegen einen Leuchtschirm ausgetauscht werden kann. Die Ströme

können von einer Erregeranlage für die Hochspannung von einem Schaltbrett aus während des Mikroskopierens bequem geregelt werden.

*Aufnahmen von Bacillen und Virus.*

Mit dem neuen Versuchsgerät konnten wir zahlreiche Bakterien bei bis 20000facher Vergrößerung aufnehmen. Lichtoptische Vergleichsaufnahmen zeigten an organischen



Abb. 4. Bacterium coli, 17 100 fach.



Abb. 5. Bacterium coli, 17 200 fach.



Abb. 6. Bacterium coli, 16 000 fach.

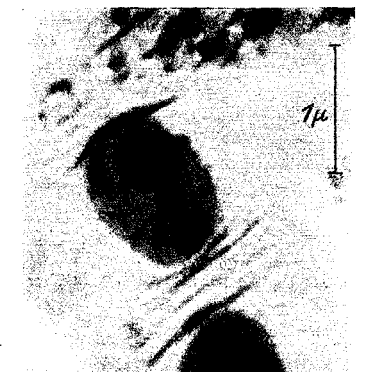


Abb. 7. Bacterium coli, 17 300 fach.

Partikeln das erheblich größere Auflösungsvermögen des Übermikroskops. Es gelang, neben den Bakterien Gebilde von 10 m $\mu$  Größe noch deutlich zu erkennen. Das sind Gebilde, die nur noch gut den doppelten Durchmesser des Moleküls des Eialbumins haben. Sie liegen im Größenbereich der kleinsten Bakteriophagen und Viruskörper. An Colibakterien konnten wir in ungefärbtem Zustand zahlreiche

Unsere von *Bacterium coli* bereits veröffentlichten Bilder (Abb. 4—7), die wir hier nochmals zeigen, lassen erkennen, daß eine Trennung von Ento- und Ektoplasma entsprechend der in den Worten enthaltenen Vorstellung auf Grund des elektronenoptischen Bildes nicht möglich ist. Es gibt Colibakterien, die sehr dicht und völlig homogen erscheinen, solche mit mittelständiger oder endständiger Aufhellung



Abb. 8. *Bacterium typhi*, 14 200fach. Es sind keinerlei Innenstrukturen zu sehen. Ein Erreger läßt Reste von Geißeln erkennen.



Abb. 9. *Bacterium typhi*, 13 500fach. Neben nahezu homogen dichten Bakterien erscheint ein Bacterium mit polaren und seitenständigen Verdichtungen.

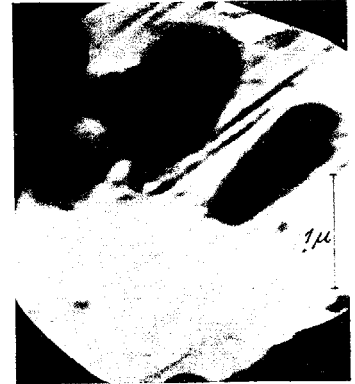


Abb. 10. *Bacterium typhi*, 15 600fach. Die Bilder sind aus älteren Kulturen gewonnen.

Innenstrukturen feststellen<sup>2</sup>, die größtenteils der lichtmikroskopischen Beobachtung nicht mehr zugänglich sind. Wir können jetzt Aufnahmen von Typhusbakterien, Bakterien der Paratyphusgruppe, der Ruhr und der Bang-Infektion zeigen, die neue Aufschlüsse über den Bau dieser Erreger geben. Wir haben außerdem Bilder von Pockenvirus, vom Virus der Ektromelie\* der weißen Maus und dem des Kaninchenmyxoms\*\* gewonnen.

Bisher konnten im Bakterienleib Differenzierungen auf Grund eines verschiedenen färberischen Verhaltens einzelner Teile vorgenommen werden. Es wurde versucht, Protoplasma und Kern oder Kernäquivalente zu unterscheiden, Entoplasma und Ektoplasma, Vakuolen und Körnchenbildungen wurden bei einzelnen Bakterien erkannt. Unsere Untersuchungen haben gezeigt, daß derartige Differenzierungen noch sehr viel weiterverbreitet sind, als das bisher angenommen werden konnte. Wir möchten jedoch die Begriffe, die aus dem mikrochemischen Verhalten gewonnen worden sind, noch nicht auf jene Gebilde anwenden, die sich nach der verschiedenen Massenverteilung erkennen lassen.

\* Die infektiöse Ektromelie der Maus ist eine Erkrankung, die sich bei plantarer Impfung der Versuchstiere in einer Schwellung und manchmal auch nachfolgender Gangrän und Abstoßung einzelner Glieder äußert. Ein großer Teil der Tiere erliegt der Infektion. Für die Überlassung eines Ektromeliestammes des Institutes für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg sind wir Herrn Prof. NAUCK zu großem Dank verpflichtet.

\*\* Das Kaninchenmyxom ist eine durch ein Virus hervorgerufene Geschwulst-erkrankung mit meist tödlichem Ausgang. Herr Prof. HAAGEN (Institut Robert Koch, Berlin) war so liebenswürdig, uns Material aus einer Eikultur zu überlassen. Er hat außerdem die lichtoptische Kontrolle der nach HERZBERG gefärbten Präparate und die Prüfung im Tierversuch übernommen, wofür ihm hier unser besonderer Dank ausgesprochen sei.



Abb. 11. *Bacterium enteritidis* Gaertner 13 500fach. Anfänge oder Reste von Geißelbildung?

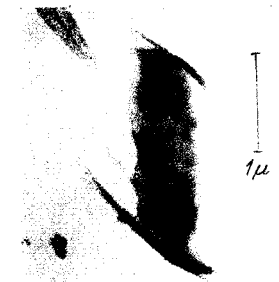


Abb. 12. *Bacterium enteritidis* Gaertner 13 500fach. Drei isolierte Innenkörper. An den Enden des Bakterienleibs sind Falten in der Objektträger-Folie, keine Geißeln.

und umgekehrt Colibakterien, die im ganzen hell erscheinen und eine oder mehrere endständige oder über den Bakterienleib verteilte Verdichtungen verschiedenster Größe besitzen. Es ist auch nicht möglich, einzelne dieser Gebilde als Kernäquivalente anzusprechen, solange nicht ein sehr eingehendes Studium des Formenwechsels der Bakterien während ihres ungeheuer raschen Wachstums eine Deutung der Bilder zuläßt. Es könnte der Einwand gemacht werden, daß unsere neu gefundenen Strukturen Kunstprodukte wären, die durch



Abb. 13. Bakterien der Y-Ruhr 17 300fach. Begleitkörper von 100 bis 20 m $\mu$ .

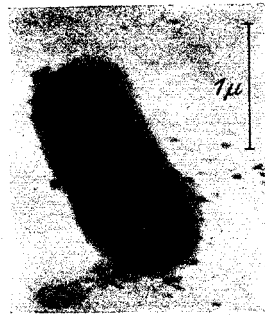


Abb. 14. Bakterium der Y-Ruhr 17 000fach. Begleitkörper von 100 bis 20 m $\mu$ .



Abb. 15. Bakterien der Kruse-Shiga-Ruhr 12 500fach. Begleitkörper von 250 bis 50 m $\mu$ .



Abb. 16. Bakterien der Kruse-Shiga-Ruhr 12 500fach. Begleitkörper von 250 bis 50 m $\mu$ .

das Vakuum oder die Elektronenstrahlen zustande kämen. Insbesondere liegt ein solcher Einwand nahe, wenn bislang nicht bekannte Hüllen oder Kapseln an den Bakterien erscheinen. Selbst wenn dies der Fall sein sollte, so vermittelt es doch einen Einblick in den Bau des Bacteriums und eine neue Möglichkeit der Differenzierung, denn nicht alle Bakterien zeigen solche Erscheinungen.

Bei *Typhus*- (Abb. 8—10) und *Paratyphusbacillen* (Abbildung 11 und 12) haben wir

lich geringerer Dichte als der Innenkörper. In der Hülle sind bei der Y-Ruhr (Abb. 13—14) noch feine Körnelungen zu erkennen, während sie bei der Kruse-Shiga-Ruhr (Abb. 15 bis 16) fast homogen erscheint. Die Außenform des Innenkörpers der Kruse-Shiga-Ruhr ist teilweise wellig und sehr scharf gegen die zarte Hülle abgesetzt. Beide Ruhrtypen zeigen außerdem Begleitkörper, deren mittlere Größe bei beiden Typen erheblich voneinander abweicht. Wir halten diese Körper nicht für „ultravisible Formen“ der Bakterien, wie sie KRAUSE<sup>8</sup> bei Heubacillen vermutet hat. Wir könnten

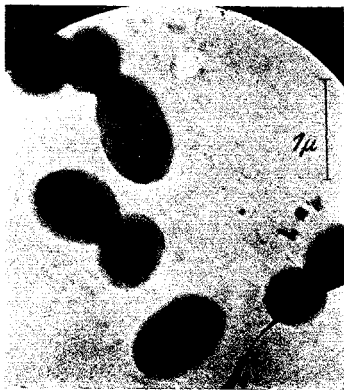


Abb. 17. *Bacillus abortus* Bang (MH). 13 500fach. Kokkenförmige bis länglich ovale Erreger mit deutlicher Hülle. Ein Bacillus zeigt bereits eine zentrale Auflockerung des Innenkörpers, wahrscheinlich Zustand kurz vor der Teilung.

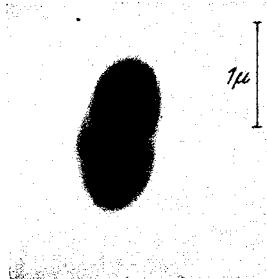


Abb. 18. *Bacillus abortus* Bang (938) 14 200fach. Kurz vor der Teilung.

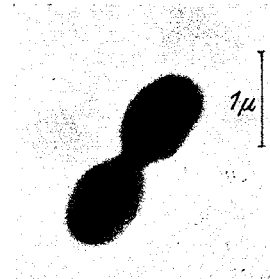


Abb. 19. *Bacillus abortus* Bang (MH) 13 000fach. Hantelförmige Innenkörper, wahrscheinlich Zustand kurz nach einer Teilung.

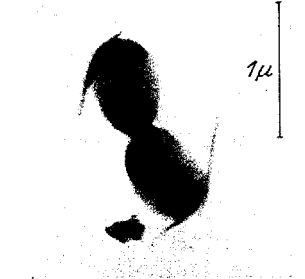


Abb. 20. *Bacillus abortus* Bang (MH) 18 500fach. Hantelförmige Innenkörper, wahrscheinlich etwas späteres Stadium als Abb. 19.

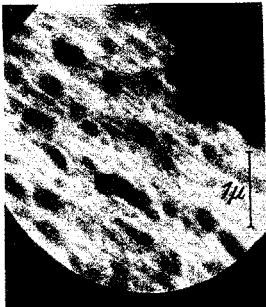


Abb. 21. Virus der Vaccine (Pocken) 10 200fach. Unschärfe Abbildung durch Verarbeitung des Virus mit Glycerin.

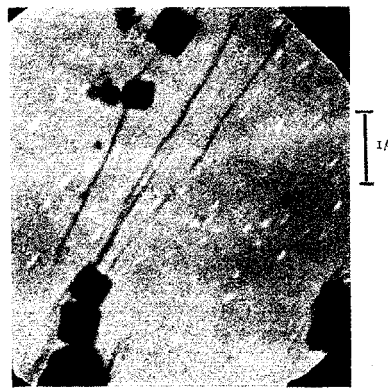


Abb. 22. Virus der infektiösen Ektromelie der Maus in Kochsalz (Kochsalzkrystalle) 11 500fach.

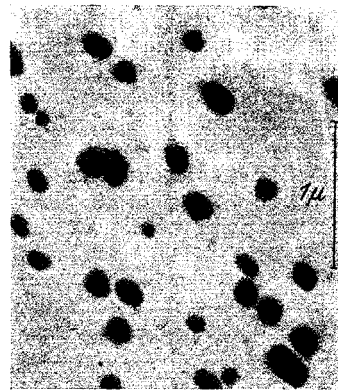
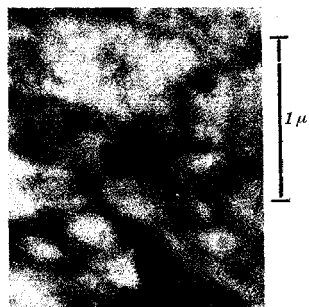


Abb. 23. Virus der infektiösen Ektromelie der Maus (gereinigtes Präparat) 20 100fach.



Abb. 24. Virus des Kaninchenmyxoms. 19 000fach und 22 000fach.



eine den Colibacillen ähnliche Vielfältigkeit der Formen und Strukturen gefunden. Abb. 8 und 11 zeigen Ansätze von Geißelbildung, Abb. 8 und 9 an einzelnen Bakterien eine völlig homogene, dichte Innenstruktur, Abb. 12 drei einzelne Verdichtungen innerhalb des Bakterienleibes. Daß die Geißeln nicht regelmäßig zur Darstellung kommen, liegt an der schon dem Lichtmikroskopiker bekannten großen Brüchigkeit dieser Gebilde. Ihr Nachweis muß einer besonders sorgfältigen Präparation vorbehalten bleiben.

*Ruhrbacillen* (Abb. 13—16) haben eine sehr viel einheitlichere Struktur. Sie zeigen durchweg eine Hülle von erheb-

uns vielmehr denken, daß sie als Abscheidungen der Bakterien zu betrachten sind, da sie in ihrer Dichte dem Innenkörper näherstehen und sich an manchen Stellen gehäuft in der Hülle, vielleicht auf dem Wege nach außen finden. Möglicherweise haben sie Beziehungen zu den „löslichen“, d. h. durch bakteriendichte Filter hindurchgehenden Toxinen. Beide Erreger sind auf der gleichen Blutagarplatte gewachsen, so daß die verschiedenen Begleitkörper sicher nicht unmittelbar aus dem Nährboden stammen. Sichereres kann über diese Begleitkörper unserer

Meinung nach noch nicht gesagt werden. Sie sind kleiner als die von W. BEYER<sup>9</sup> im Institut von Kruse gefundenen Granula. Die beschriebenen Unterschiede ermöglichen erstmalig eine morphologische Trennung verschiedener Bakterientypen, die seither nur serologisch oder toxikologisch trennbar waren.

Der *Bacillus abortus* Bang (Abb. 17—20) zeigt wie der Ruhrbacillus eine Hülle. Sein Innenkörper ist einem deutlichen Formenwechsel unterworfen. Die Reihenfolge, in der beim Wachstum und bei der Teilung die verschiedenen Formen angenommen werden, läßt sich aus den bisherigen Aufnahmen noch nicht sicher festlegen. Doch haben wir unseren Vermutungen in den Bildunterschriften Ausdruck gegeben. Man wird hier wie bei allen derartigen Entwicklungsproblemen danach streben müssen, aus Einzellkulturen Bakterien definierten Alters zu untersuchen, da es nicht möglich ist, im Übermikroskop die Bakterien lebend, während des Ablaufs des Entwicklungsvorganges, zu beobachten.

Nach dem Auffinden kleinster Begleitkörper von Bakterien war zu erwarten, daß auch Elementarkörper von Viruskrankheiten ohne Schwierigkeiten dargestellt werden können. Abb. 21 zeigt *Paschensche Körperchen*, die Elementarkörper der Vaccine. Das Ausgangsmaterial wurde uns von der Staatlichen Impfanstalt freundlichst überlassen und auf Kaninchen und die Allantois des bebrüteten Hühnereies weiter übertragen. Die von KRAUSE<sup>10</sup> nach dem elektronen-

optischen Bild gezeichneten Formen konnten wir nicht finden. Das gezeigte Bild ist unscharf und verwaschen durch die Präparation des Virus in Glycerin.

Wir sind deshalb bei der Darstellung der Ektromelie dazu übergegangen, das Virus in Kochsalzlösung zu überführen. Der Erfolg dieses Vorgehens ist in Abb. 22 zu sehen. Die gewonnenen Präparate zeigten kleine quadratische Gebilde verschiedener Größe. Rundliche Gebilde, wie wir sie als Elementarkörper erwartet hatten, waren nicht zu sehen, obwohl sich die Präparate im Tierversuch als infektiös erwiesen. Die Erscheinung ist so zu deuten, daß das Kochsalz um die Elementarkörper als Krystallisationsmittelpunkt beim Auftrocknen des Präparats auskrystallisiert. Die quadratischen Gebilde sind Würfel aus Kochsalz, die jeweils einen Elementarkörper einschließen. Erst Beseitigung des Kochsalzes läßt die Elementarkörper, wie es Abb. 23 zeigt, in ungefärbtem Zustand in ihrer wahren Größe und Form erkennen. Auch hier sind noch einzelne Elementarkörper von einer Salzkruste überzogen, wodurch sie sich von anderen durch die stärkere Schwärzung im Bild abheben. Die Präparate sind durch die Färbung nach HERZBERG und durch Mäuseversuch kontrolliert. Das letzte Bild (Abb. 24) zeigt Elementarkörper der Myxomkrankheit des Kaninchens. Die Anreicherung des Virus im Präparat war noch so gering, daß es nicht gelang, mehrere Elementarkörper gleichzeitig in ein Gesichtsfeld zu bekommen. Man sieht auf dem Bild, wie deutlich sich das Virus von restlichen Eiweißmengen, die dem Präparat anhaften, abhebt und erkennt, daß es eine eirunde Gestalt hat. Derartige Abweichungen von der Kugelgestalt stellen eine differentialdiagnostische Unterscheidung verschiedener Elementarkörper in Aussicht.

Die gezeigten Ergebnisse der Übermikroskopie auf dem Gebiet der Bakteriologie und Virusforschung sind nur ein Ausschnitt der Möglichkeiten, welche das Übermikroskop der ärztlichen Wissenschaft bietet. Es vermittelt nicht nur eine neue Morphologie der Bakterien und Elementarkörper, es vermag uns wahrscheinlich auch neue Aufschlüsse über den Bau der Zellen, des Zellkerns, der Chromosomen und der Gene zu vermitteln und läßt uns Einblicke erwarten in die Feinstruktur der Membranen, durch welche im lebenden Organismus der Austausch aller Stoffe stattfindet. Es hat das Reich der kolloiden Dimensionen dem menschlichen Auge erschlossen.

**Zusammenfassung:** Die physikalischen Grundlagen des Übermikroskops werden dargestellt, und das neue bei Siemens & Halske entwickelte Versuchsgerät wird beschrieben. Im Anschluß daran werden Ergebnisse der übermikroskopischen Bakterien- und Virusdarstellung mit 2000fachen Vergrößerungen verschiedener Erreger mitgeteilt:

An Coli-, Typhus- und Paratyphusbakterien werden ohne Anwendung von Färbemethoden äußerst vielfältige Innenstrukturen gefunden. An Ruhr- und Bang-Bacillen können Hüllen erkannt werden. Die Erreger der Y-Ruhr und Kruse-Shiga-Ruhr zeigen deutliche morphologische Unterschiede und treten mit verschiedenartigen Begleitkörpern auf. Die Bang-Bacillen lassen an ihrem Innenkörper einen eigenartigen Formwechsel erkennen. Elementarkörper (Virus) der Pocken, der Ektromelie und des Myxoms werden dargestellt.

Herrn Prof. Dr. R. SIEBECK danken wir, daß er so frühzeitig für die Verwendung des Übermikroskops auf dem Gebiete der Medizin eingetreten ist und uns die Hilfsmittel der I. Medizinischen Universitätsklinik der Charité zur Verfügung gestellt hat. Herrn Dipl.-Ing. H. O. MÜLLER sind wir für vielfache experimentelle Hilfe zu Dank verpflichtet.

**Literatur:** <sup>1</sup> B. v. BORRIES u. E. RUSKA, Wiss. Veröff. Siemens 17, 99 (1938). — <sup>2</sup> B. v. BORRIES, E. RUSKA u. H. RUSKA, Wiss. Veröff. Siemens 17, 107 (1938). — <sup>3</sup> M. KNOLL u. E. RUSKA, Z. Physik 78, 318 (1932). — <sup>4</sup> E. RUSKA, Z. Physik 87, 580 (1934). — <sup>5</sup> L. MARTON, Bull. Acad. r. Belg., Cl. Sci. 20, 439 (1934); 21, 553 u. 606 (1935); 22, 1336 (1936); 23, 672 (1937). — <sup>6</sup> L. C. MARTIN, R. V. WHELPTON u. D. H. PARNUM, J. Sci. Instrum. 14, 14 (1937). — <sup>7</sup> E. DRIEST u. H. O. MÜLLER, Z. Mikrosk. 52, 53 (1935). — <sup>8</sup> F. KRAUSE, Naturwiss. 25, 817 (1937). — O. BEISCHER u. F. KRAUSE, Naturwiss. 25, 825 (1937). — <sup>9</sup> W. BEYER, Z. Hyg. 115, 47 (1933). — <sup>10</sup> F. KRAUSE, Naturwiss. 26, 122 (1938).

## DER EISEN-KUPFERANTAGONISMUS IM BLUT-PLASMA BEIM INFEKTIONSGESCHEHEN.

Von

LUDWIG HEILMEYER und GÜNTHER STÜWE.

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Jena  
(Direktor: Prof. Dr. W. H. VEIL).

Bei ihren Serumeisenstudien haben HEILMEYER und PLÖTNER erstmals auf eine Erscheinung hingewiesen, welche die Bedeutung des im Organismus verfügbaren, beweglichen und leicht in ionisierbare Form überzuführenden Eisens für die Vorgänge beim Infektionsgeschehen in ein helles Licht rückt. Tritt bei einem gesunden Menschen ein plötzlicher Infekt ein, so stürzt der sonst beim Gesunden sehr konstante Plasmaeisenspiegel bereits in den ersten Tagen steil ab und bleibt so lange niedrig, bis der Infekt überwunden ist. Derselbe Vorgang läßt sich experimentell im Pyriferversuch feststellen. In wenigen Stunden kommt es dabei zu einem Absturz des Serumeisens, das erst nach einigen Tagen wieder seine Ausgangskonzentration erreicht. Der Verlauf der Serumeisenkurve beim Infekt gibt ein Spiegelbild des Infektionsablaufs. HEILMEYER und PLÖTNER konnten zeigen, daß die Rückkehr des Plasmaeisens nach Abklingen der akuten Erscheinungen ausbleibt, wenn neue Komplikationen eintreten, wie z. B. das Auftreten eines metapneumonischen Exsudats nach der kritischen Entfieberung. Besonders ausgeprägt waren diese Gesetzmäßigkeiten auch bei chronischen Infektionskranken, besonders bei der Tuberkulose und beim rheumatischen Infekt. Ähnliche Beobachtungen hat auch THOENES bei Kindern machen können. Dieselben Verhältnisse wie beim Infekt liegen auch bei malignen Tumoren und bei der Lymphogranulomatose vor. Spritzt man während eines akuten oder floriden chronischen Infekts Eisen intravenös ein, so verläßt es viel rascher als normal die Blutbahn. Da eine gesteigerte Ausscheidung des Eisens während des Infekts nicht nachzuweisen ist, ferner der Erythrocytenabbau, welcher als Eisenquelle in Frage kommt, nicht, wie THOENES meinte gebremst, sondern im Gegenteil meist deutlich gesteigert ist, so schlossen HEILMEYER und PLÖTNER aus den beobachteten Erscheinungen, daß das Eisen an anderer Stelle während des Infektionsgeschehens in gesteigertem Maße gebraucht wird. Dieser Verbrauch ist sogar so groß, daß für die Hämoglobinbildung während dieser Zeit nicht mehr genügend Eisen zur Verfügung steht, so daß es bei längerdauernden Infekten zur Entwicklung einer typischen Eisenmangelanämie kommt. Selbst bei der Malaria, bei welcher durch den enormen Blutzerfall massenhaft Eisen aus den Blutkörperchen frei wird, kommt es nicht, wie beim nicht-infektiösen Blutzerfall etwa beim hämolytischen Ikterus, zu einer Zunahme des Serumeisens. Vielmehr wird das gesamte freiwerdende Eisen im reticuloendothelialen System gespeichert. Aus diesen beobachteten Tatsachen ergab sich die Vorstellung, daß dem Eisen als einem wichtigen Katalysator im Stoffwechselgeschehen der Zelle bei der Infektionsabwehr eine ganz wesentliche Rolle zukommt.

Diese Beobachtungen waren für den einen von uns (HEILMEYER) der Anlaß, die Bedeutung eines anderen Schwermetalls, das in verhältnismäßig großer Menge im Blutplasma vorkommt und dessen physiologische und pathophysiologische Bedeutung bisher noch sehr im Dunklen lag, im Zusammenhang mit dem Infektionsgeschehen näher zu untersuchen, nämlich des Kupfers. Nach Überwindung einiger Schwierigkeiten gelang es uns, die Methodik von MCFARLANE, bei welcher das Kupfer in Form des gelb gefärbten Diäthylthiocarbamats bestimmt wird, mit Hilfe spektralphotometrischer Technik unter Verwendung des Zeißschen Stufenphotometers so auszubauen, daß wir absolut exakte Werte erhielten. Die genaue Mitteilung der Methodik erfolgt in einer demnächst erscheinenden ausführlichen Arbeit. Da die Werte nach Veraschung vollkommen mit den durch Eiweißfällung mit Trichloressigsäure erhaltenen übereinstimmten, waren wir sicher, mit der letzteren sehr viel einfacheren Methodik, das gesamte im Plasma zirkulierende Kupfer zu erfassen. Herrn Kollegen