

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAPHICA

Editor: G. WOLF

E 1813/1972

Mycoplasma hominis (Mycoplasmataceae)
Vermehrung

Mit 1 Abbildung

GÖTTINGEN 1972

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Mycoplasma hominis (Mycoplasmataceae)

Vermehrung

W. BREDT, Mainz

Allgemeine Vorbemerkungen¹

Die Familie der Mycoplasmataceae umfaßt bakterienähnliche Mikroorganismen, die in der Pathogenese von Infektionskrankheiten bei Mensch und Tier eine Rolle spielen können (SHARP [5]). Mycoplasmen besitzen im Gegensatz zu Bakterien keine starre Zellwand, sie benötigen zum Wachstum exogene Steroide (vorzugsweise Cholesterin) und ihre Desoxyribonucleinsäure (DNS) hat mit wenigen Ausnahmen einen relativ niedrigen GC-Gehalt (HAYFLICK [2]). Sie können auf besonders angereicherten Nährböden *in vitro* gezüchtet werden. Die kleinsten vermehrungsfähigen Einheiten sollen etwa 125—150 μm groß sein (HAYFLICK [2]). Diese Maße wurden durch Filtration ermittelt. Sie werden jedoch nach neueren Untersuchungen angezweifelt (BREDT [1], LEMCKE [4]), da die sehr plastischen Zellen bei dieser Methode durch kleinere Filterporen schlüpfen und damit zu geringe Werte vortäuschen können. Das Fehlen einer starren Zellwand hat zur Folge, daß Mycoplasmen außerordentlich polymorph und durch äußere Einflüsse leicht verformbar sind. Die bisher beobachteten unterschiedlichen Zellformen wurden daher teils als präparationsbedingte Artefakte, teils als Hinweise auf das Vorliegen bestimmter Entwicklungszyklen gedeutet (HAYFLICK [2]). Mikroskopische Studien an Mycoplasmen auf agarhaltigen Nährböden, elektronenmikroskopische Untersuchungen und indirekte Methoden haben bisher wenig über den Vermehrungsmechanismus und die Entstehung der unterschiedlichen Zellformen aussagen können. Erst ein Verfahren der längerdauernden mikroskopischen Beobachtung in flüssi-

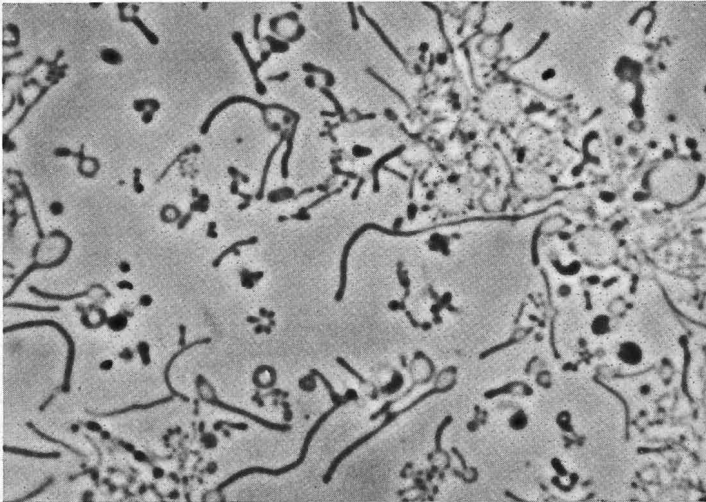
¹ Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft. — Angaben zum Film und kurzgefaßter Filminhalt (deutsch, englisch, französisch) s. S. 9.

gen Medien (BREDT [1]) hat die Möglichkeit geschaffen, das morphologische Verhalten von Mycoplasmen ohne nennenswerte Einwirkung äußerer Kräfte zu studieren.

Angaben zu *Mycoplasma hominis*

M. hominis wurde vermutlich 1937 erstmals isoliert (zit. bei SHARP [5]) und 1955 als eigene Species erkannt (HAYFLICK [2]). Sein Vorkommen ist nach bisheriger Kenntnis auf den Menschen beschränkt. Meist wird *M. hominis* auf den Epithelien des Urogenitaltraktes gefunden, gelegentlich wurde es auch aus Rachenabstrichen isoliert; es ist fakultativ pathogen (SHARP [5]).

M. hominis wächst auf agarhaltigen Nährböden in Form der für Mycoplasmen typischen spiegeleiförmigen Kolonien, die bis zu 1 mm Durchmesser erreichen können. Die Züchtung auf festen Nährböden gelingt vorwiegend im mikroaerophilen oder anaeroben Milieu. Die Nährbodenansprüche sind relativ gering. *M. hominis* wächst gut auf den üblichen



M. hominis, Vergrößerung 2048fach

Mycoplasma-Medien, wobei der Serumgehalt niedrig sein kann (1% Pferdeserum oder PPLO-Serumfraktion). Der Zusatz von Hefeextrakt ist nicht notwendig. Arginin wird unter Bildung von Ammoniak gespalten (HAYFLICK [2]). Erythrozyten können durch freigesetztes Wasserstoffperoxyd hämolysiert werden (HAYFLICK [2]).

Die Ultrastruktur von *M. hominis* gleicht der anderer Mycoplasmen: Die Zelle wird von einer dreischichtigen Membran umschlossen, das Cytoplasma enthält Ribosomen und DNS-Stränge (HAYFLICK [2]).

In flüssigen Medien wächst *M. hominis* in Form einzelner Zellen oder lockerer Anhäufungen. Eine wesentliche Trübung des Mediums erfolgt nicht. Die Zellen haften ausreichend an Glasoberflächen, so daß eine mikroskopische Beobachtung möglich ist. Die Zellen von *M. hominis* weisen einen relativ großen Durchmesser auf und sind phasenkontrastmikroskopisch gut darzustellen (BREDT [1]). Diese Eigenschaft sowie das relativ rasche Wachstum lassen diese Spezies als Modell für Wachstum- und Vermehrungsstudien geeignet erscheinen. Die Ergebnisse entsprechender Untersuchungen haben gezeigt, daß *M. hominis* in Form von kokkoiden Strukturen, Filamenten unterschiedlicher Länge und Ringen bzw. Scheiben mit verschiedenen Durchmessern wächst. Kombinationen aus diesen Grundformen sind relativ häufig.

Die Entstehung dieser Formen erklärt sich aus der Art der Vermehrung. Der Grundvorgang ist die Teilung (BREDT [1]). Dies läßt sich am deutlichsten bei der Vermehrung kokkoider Elemente beobachten. Die Tochterzellen werden dabei nicht durch ein neugebildetes Septum voneinander getrennt, sondern scheinen sich durch Kontraktion im Teilungsbereich zu separieren. Diese einfache Zweiteilung wird im Film nicht besonders dargestellt. Varianten dieses Vorganges sind das Entstehen von längeren Filamenten oder größeren Ringen und der spätere Zerfall solcher Strukturen in einzelne kokkoide Zellen. Vor dem endgültigen Zerfall können Kontraktionen eine reversible Kettenbildung bewirken. Neben diesen Teilungsmechanismen können Vorgänge beobachtet werden, die mehr an eine Sprossung erinnern (BREDT [1]). Dabei kann es zu wiederholten reversiblen Verkürzungen des betreffenden Filamentes kommen. Die auffälligsten Veränderungen finden sich bei der Vermehrung kleiner Ringformen. Derartige Ringe können sich zehnmal und häufiger in eine dreilappige Struktur und wieder zurück in die Ringform verwandeln (BREDT [1]). Der Mechanismus dieser aktiven Formänderungen ist unbekannt. Ähnliche Vorgänge wurden auch bei *M. orale* beobachtet (unveröffentlichte Ergebnisse). Ebenso ist über die intrazellulären Vorgänge während dieser Verformungen, so etwa die Verteilung des DNS, bisher noch nichts bekannt.

Die Filmaufnahmen zeigen mehrfach die wiederholten Formänderungen bei der Vermehrung von ring- bzw. scheibenförmigen Zellen. Derartige Verformungen unterscheiden sich sehr deutlich von scheinbaren Veränderungen, wie sie bei losem Kontakt zur Glasoberfläche durch Brownsche Molekularbewegung vorgetäuscht werden können.

Anhand der im Film enthaltenen Einstellung im Interferenzkontrast konnte gezeigt werden, daß eine aus einer Löffelform entstandene sproßähnliche Struktur zu weiterem Wachstum fähig ist und daher als voll-

ständige Zelle angesehen werden kann. Diese Frage konnte bei früheren Untersuchungen nicht geklärt werden (BREDT [1]). Die beobachteten Ringformen hatten äußere Durchmesser von etwa 1 bis 1,6 μm . Die Filamente wiesen Längen bis zu 90 μm auf. Eine aktive Fortbewegung wurde bei *M. hominis* nicht beobachtet.

Zur Entstehung des Films

Für die Aufnahmen wurden die Stämme W 444/69 und W 463/69 von *M. hominis* verwendet. Beide Stämme waren im eigenen Labor aus klinischem Material isoliert und serologisch identifiziert worden (BREDT [1]). Stamm 444 wuchs vorwiegend in kleineren Ringformen, während Stamm 463 zahlreiche längere Filamente bildete.

Das verwendete Nährmedium bestand aus 70% PPLO-Broth (Difco), 20% Agamma Horse Serum (Microbiological Associates) und 10% Hefedialysat. Die Viskosität des Mediums wurde durch Zusätze von 3 bis 5% Gelatine erhöht. Das fertige Medium wurde filtriert (0,2 μm), um störende Aggregate zu entfernen. Für einige Versuche wurde das Inoculum ebenfalls filtriert (0,45 μm), um Einzelzellen zu erzeugen. Das beimpfte Medium wurde in sterile Deckglaskammern (BREDT [1], [6]) gefüllt. Die geschlossenen Kammern wurden für die Aufnahmen in kleinen Stahlrähmen (HEUNERT [3]) eingelegt. Die Mycoplasmen wurden entweder am oberen Deckglas hängend (Phasenkontrast, Interferenzkontrast) oder auf dem unteren Deckglas aufliegend (Phasenkontrast) aufgenommen. Die Bebrütung erfolgte bei 37° C durch besondere, die Mikroskope umschließende Heizkästen (HEUNERT [3]), deren Regelmäßigkeit inzwischen erheblich verfeinert wurde. Als Mikroskope dienten WL-Stativen der Firma Zeiss. Die Aufnahmen wurden mit einer Askania 2-Kamera auf Kodak Double X gemacht.

Filmbeschreibung¹

8 und 4 B/min

1. und 2. Einstellung (Stamm 444, Phasenkontrast, aufliegend): Ausgehend von zwei Stellen mit wenigen Zellen entwickeln sich zwei kolonieartige Anhäufungen. Dabei treten mehrfach Formveränderungen einzelner Zellen auf, vorübergehend entstehen kurze Filamente. Bildfeldbreite 61,8 μm ; Aufn.-Freq. 8 und 4 B/min

Formveränderung bei der Vermehrung

8 B/min

3. Einstellung (Stamm 444, Phasenkontrast, hängend): Eine ring- bzw. scheibenförmige Zelle verformt sich mehr als 20mal zu einer segmentierten,

¹ Die *Kursiv*-Überschriften entsprechen den Zwischentiteln im Film.

meist dreilappigen Struktur und zurück zur Ringform. Die Häufigkeit der Verformung nimmt zu, der Ringdurchmesser wächst, die segmentierten Strukturen werden unregelmäßiger. Aus der schließlich vierlappigen Struktur entstehen zwei diplokokkoide Gebilde, die aber noch zusammenhängen und sich verformen können.

Bildfeldbreite 38 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/min

Koloniebildung aus einer Einzelzelle

8 B/min

4. Einstellung (Stamm 444, Phasenkontrast, aufliegend): Aus einer sich mehrfach verformenden Einzelzelle entsteht eine kleine kolonieartige Anhäufung.

Bildfeldbreite 45,5 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/min

5. Einstellung (Stamm 444, Interferenzkontrast, hängend): Eine kleine kolonieartige Anhäufung läßt besonders am Rand sehr deutlich die Schüssel- oder Scheibenform der im Phasenkontrast als Ringe erscheinenden Strukturen erkennen. Am linken oberen Rand ragt aus der Kolonie ein kurzes Filament heraus, das sich sehr bald in eine löffelartige Struktur umwandelt. Aus dem Löffel bildet sich kurz darauf eine segmentierte Struktur. Nach mehrmaliger Rückverwandlung in die Löffelform bleibt schließlich die Segmentform bestehen. Aus der linken unteren Hälfte der Kolonie wächst ein Filament aus, das ebenfalls eine Löffelform bildet. Bei der Rückverwandlung zum Filament bleibt an der Unterseite eine neugebildete kokkoide Struktur sichtbar (Pfeil). Sie vergrößert sich ständig und wächst bis zu einer diplokokkoiden Struktur heran. Das darüberliegende Filament zeigt in dieser Zeit einen mehrfachen reversiblen und schließlich irreversiblen Zerfall in mehrere kokkoide Zellen, an der Basis des ehemaligen Filamentes entsteht aus einer dieser kokkoiden Strukturen eine Ringform, die sich ebenfalls verformt.

Bildfeldbreite 46,3 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/min

Stamm mit überwiegender Filamentbildung

8 und 4 B/min

6. Einstellung (Stamm 463, Phasenkontrast, aufliegend): Zwei kleine Kolonien und ein kurzer Faden wachsen überwiegend zu langen Filamenten aus. Nach unterschiedlicher Wachstumsdauer zerfallen diese langen Strukturen innerhalb weniger Sekunden in Ketten und kurz darauf in kokkoide Einzelzellen.

Bildfeldbreite 149 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/min

7. Einstellung (Stamm 463, Phasenkontrast, aufliegend): Ein kurzes Filament mit verdickten Enden wächst nach der rechten Bildseite hin zu einem langen Faden heran. Während des Wachstums scheinen sich

auf der ganzen Länge des Fadens fortlaufend vorübergehende geringgradige Einschnürungen zu bilden. Aus dem Medium setzen sich zwei Zellkonglomerate in der Nähe des Filamentes am Glas ab und wachsen ebenfalls weiter.

Bildfeldbreite 45,5 μm ; Aufn.-Freq. 8 B/min

8. und 9. Einstellung: Das Filament wächst noch für einige Zeit weiter und wandelt sich dann in ganzer Länge fast gleichzeitig durch multiple Einschnürungen in eine Kette um. Diese Kette zerfällt schnell in einzelne, meist kokkoide Strukturen, die zum Teil wieder zu kurzen Filamenten fusionieren, meist jedoch einzeln weiterwachsen. In der Mitte des ehemaligen langen Filamentes wächst eine kokkoide Zelle erneut zu einem kurzen Faden heran (Pfeil), der sich in einen größeren Ring verformt und dann zerfällt. In seiner längsten Ausdehnung hat dieses Filament Kontakt mit einer links unterhalb gelegenen Zelle. Es kommt zu einer vorübergehenden Verklebung, bei der Verformung des Filamentes zum Ring reißen beide Strukturen wieder auseinander. Die berührte kleinere Zelle zeigt in der folgenden Zeit die aus Einstellung 3 bekannten Verformungen. Auch zahlreiche andere Zellen verformen sich in gleicher Weise. Die Formänderungen aller Strukturen verlangsamten sich zunehmend, ein weiteres Wachstum scheint in der gealterten Kultur nicht mehr stattzufinden.

Bildfeldbreite 113 μm ; Aufn.-Freq. 4 B/min; Dauer der Vorganges ca. 20 Stunden

Literatur und Filmveröffentlichung

- [1] BREDT, W.: Experimentelle Untersuchungen über Morphologie und Vermehrung der beim Menschen vorkommenden Mycoplasmen unter besonderer Berücksichtigung von *Mycoplasma hominis*. Z. med. Mikrobiol. u. Immunol. **155** (1970), 248—274.
- [2] HAYFLICK, L. (ed.): The Mycoplasmatales and the L-phase of bacteria. North Holland Publishing Company, Amsterdam 1969.
- [3] HEUNERT, H. H.: Methoden zur Verhinderung von Schärfeschwankungen bei Zeitrafferaufnahmen von Agarkulturen. Research Film **4** (1962), 382—387.
- [4] LEMCKE, RUTH: Sizing small organisms. Nature (Lond.) **229** (1971), 492—493.
- [5] SHARP, J. T. (ed.): The role of mycoplasmas and L-forms of bacteria in disease. Charles C. Thomas, Publisher, Springfield/Ill. 1970.
- [6] BREDT, W.: *Mycoplasma pneumoniae* (Mycoplasmataceae) — Bewegung, Vermehrung und Koloniebildung. Film E 1633 des Inst. Wiss. Film, Göttingen 1970.

Angaben zum Film

Das Filmdokument wurde 1972 zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht. Stummfilm, 16 mm, schwarzweiß, 131 m, 12 min (Vorführgeschw. 24 B/s).

Die Aufnahmen entstanden im Jahre 1971. Veröffentlichung aus dem Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg, Dr. W. BREDT, und dem Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen, Dr. K.-H. HÖFLING, H. H. HEUNERT.

Inhalt des Films

Der Film zeigt verschiedene Vermehrungsvorgänge von *Mycoplasma hominis* in flüssigem Medium an einer Glasoberfläche. Kleinere ringförmige Zellen verwandeln sich mehrfach in gelappte Strukturen und zurück zur Ringform. Aus kurzen Filamenten entstehen löffelfartige Formen, die nach mehrfacher Rückverwandlung fragmentieren. Bei dieser Gelegenheit können neue Zellen durch sprossungsähnliche Vorgänge entstehen. Im zweiten Teil werden das Wachstum und Zerfallen längerer Filamente dargestellt, dagegen werden einfache Teilungsvorgänge in diesem Film nicht gezeigt.

Summary of the Film

The film shows several, but not all, forms of multiplication of *Mycoplasma hominis*, growing in liquid medium on a glass surface. Small ring- or disc-shaped cells change their shape repeatedly, forming segmented structures and then switching back to the ring form. Short filaments are forming spoon-like structures, which after several cycles eventually are fragmenting into coccoid forms. Occasionally from such spoons new cells separate in a budding-like process. In the second part growth and fragmentation of long filaments are demonstrated, simple division is not shown in this film.

Résumé du Film

Le film montre diverses phases de la reproduction du *Mycoplasma hominis* dans un milieu liquide, sur une surface vitrée. Des cellules annulaires de dimension assez réduite se transforment à plusieurs reprises en sortes de lambeaux, pour reprendre ensuite la forme d'un anneau. A partir de filaments courts naissent des formes semblables à des cuillers, qui se fragmentent après retransformation multiple. De nouvelles cellules peuvent se constituer à cette occasion, par des processus analogues au bourgeonnement. La croissance et la désagrégation de filaments plus longs sont représentés dans la deuxième partie; en revanche, des phénomènes de division simple ne sont pas montrés dans ce film.