

ENCYCLOPAEDIA CINEMATOGRAFICA

Editor: G. WOLF

E 304/1960

Clostridium tetani **Vermehrung und Bewegung**

GÖTTINGEN 1961

INSTITUT FÜR DEN WISSENSCHAFTLICHEN FILM

Der Film ist ein Forschungsdokument und wurde zur Auswertung in Forschung und Hochschulunterricht veröffentlicht
Länge der Kopie (16-mm-Stummfilm, schwarz-weiß): 33 m
Vorführdauer: 4 Min. — Vorführgeschwindigkeit: 24 B/s

Die Herstellung des Films erfolgte im Jahre 1959 durch
das Institut für den Wissenschaftlichen Film, Göttingen
(Direktor: Dr.-Ing. G. WOLF)

Sachbearbeitung: Dr. H. KUCZKA

Aufnahme: K. PHILIPP

Wissenschaftliche Leitung: Dr. H. SPRANKEL,
Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Gießen
(Direktor: Prof. Dr. Dr. h.c. H. SPATZ)

Clostridium tetani

Vermehrung und Bewegung

Filmbeschreibung von Prof. Dr. J. KALICH

Im Film wird der Entwicklungszyklus eines *Clostridium tetani*-Stäbchens aus der Spore gezeigt, ein Vorgang, der allen aeroben und anaeroben Sporenbildnern der Gattung *Bacillus* und *Clostridium* eigen ist. Aus der Dauerform, der Spore, entsteht unter günstigen Lebensbedingungen die vegetative Form, das Stäbchen, das sich durch Teilung vermehrt, eine Kolonie bildet und nach einiger Zeit wieder versport. Das versportete Stäbchen zerfällt und die Spore bleibt als Dauerform übrig, womit sich der Kreislauf wieder schließt.

I. Allgemeine Vorbemerkungen

Bei *Clostridium tetani* handelt es sich um einen ubiquitär vorkommenden Keim. Wir finden ihn im Darmkanal von Menschen und Tieren, vor allem bei Herbivoren. Von da aus gelangt er in den Boden, und zwar ist der Tetanuskeim vorwiegend in Proben von kultivierter, also gedüngter Erde, nachzuweisen. Da *Cl. tetani* in allen von den europäischen Kriegsschauplätzen entnommenen Erdproben ermittelt werden konnte, erklärt sich die Häufigkeit der Wundstarrerkrankungen während des Krieges. Der Keim dringt mit der die Wunde verunreinigenden Erde in den Körper ein, verbleibt meist an der Infektionsstelle, vermehrt sich da und produziert sein Toxin, das das typische klinische Bild des Tetanus hervorruft. Bei Tieren tritt der Starrkrampf vor allem bei Vernagelungen sowie bei Kastrationswunden auf.

Cl. tetani ist ein 2 bis 4 μ langes und 0,3 bis 0,5 μ breites Stäbchen mit zahlreichen peritrichen Geißeln. In jungen Kulturen und auf sauerstoffreichem Medium ist es gut beweglich. Im infizierten Körper kommt der Keim als schlankes Stäbchen mit oder ohne endständige, runde Spore vor. In Kulturen bildet er auch Fäden und zeigt nach etwa 40 Stunden Neigung zur Sporenbildung. Die Spore verleiht dem Erreger seine typische Form, die als Stecknadel- oder Trommelschlägerform bezeichnet wird. Auch der versportete Keim hat noch Geißeln und kann sich aktiv bewegen. Nach 10 bis 14 Tagen löst sich ein Teil des *Cl. tetani*-Stäbchens völlig auf, so daß in Kulturen die freien Sporen überwiegen.

Die vegetativen Formen des Tetanuskeimes sind gegen Austrocknung, Erwärmung und Desinfektionsmittel nicht widerstandsfähig, die Sporen jedoch gehören zu den resistensten der pathogenen Anaerobier. Sie können Temperaturen von 60 bis 80° C ohne Schädigung vertragen und werden erst bei 90° C in ca. 1 Stunde oder bei 120° C in etwa 20 bis 30 Minuten abgetötet. Direkte Sonnenbestrahlung vernichtet die Sporen innerhalb von 6 Tagen. Für die Pathogenese des Tetanus ist die Tatsache, daß die Sporen von *Cl. tetani* eine erhebliche Resistenz besitzen und Jahre, ja sogar jahrzehntelang infektionsfähig bleiben können, von größter Bedeutung.

Wegen der hohen Empfindlichkeit der Anaerobier gegen Sauerstoff ist bei allen Kulturen zu berücksichtigen, daß sowohl der im Nährsubstrat gelöste Sauerstoff entfernt, als auch der Zutritt des atmosphärischen Sauerstoffes verhindert werden muß. Diese Bedingung erfüllt die Mikroplatte nach FORTNER, der wir uns bei der Durchführung unseres Filmvorhabens bedienten.

Die Herstellung einer solchen Deckglaskultur geht wie folgt vor sich: Das Deckgläschen wird mit einer dünnen Agarschicht bedeckt und diese mit einem kleinen Messer so zugeschnitten, daß das übriggebliebene Agarstück in die Aushöhlung eines Hohlobjektträgers paßt. Mit einer dünnen Nadel beimpft man die Mitte des Nährbodens mit der Sporensuspension, während am äußeren Rand *B. prodigiosum* aufgetragen wird. Dieser Keim entwickelt sich schnell und verzehrt, da er ein starker Aerobier ist, den Sauerstoff in der kleinen Kammer. Nach 24 Stunden beginnt *Cl. tetani* in dem sauerstofffreien Milieu zu wachsen. Sein Wachstumsoptimum liegt bei 36 bis 38° C.

Wir konnten beobachten, daß die Schnelligkeit der Auskeimung der auf die Mikroplatte gebrachten Tetanussporen von verschiedenen Faktoren abhängig war: vor allem vom Feuchtigkeitsgrad des verwendeten Nährbodens, von der Bebrütungstemperatur sowie von der Filterung des Lichtspektrums bei der Bebrütung der Keime. Es hat sich gezeigt, daß die Tetanusspore bei 25° C für ihre Auskeimung fast die doppelte Zeit benötigt als bei 38° C. Weiterhin konnte beobachtet werden, daß je höher der Feuchtigkeitsgehalt des festen Nährbodens war, um so schneller die Auskeimung zustande kam.

Bei der Prüfung der Lichteinwirkung auf die Sporenceimung wurde festgestellt, daß die Wellenlängen des Lichtspektrums zwischen Ultraviolett und Gelb, also im Bereich der chemischen Wirkung der Lichtstrahlen, nachteilig im Sinne einer mehr oder weniger deutlichen Hemmung auf die Keimentwicklung wirken. Ohne Einfluß auf die Auskeimung blieb oranges und rotes Licht, da dieses außerhalb des Bereiches der oben erwähnten chemischen Wirkung der Strahlen liegt.

Zwischen den Kulturen, die bei orangem und rotem Licht und den Kontrollen, die im Dunklen bebrütet wurden, bestand zeitlich in der Auskeimung kein Unterschied.

Alle mikroskopischen Aufnahmen dieses Filmes wurden 1958 im Tierhygienischen Institut der Universität München, Vorstand Professor Dr. A. MEYER, mit der Mikrokino-Einrichtung von Zeiss-Winkel auf 16-mm-Film gemacht. Dabei wurde das Zeiss-Winkel Standard mikroskop GF 414 mit der Phasen-Kontrasteinrichtung verwendet, das in einer aus Plexiglas hergestellten, heizbaren Brutkammer untergebracht war. Als Lichtquelle diente eine eingebaute Niedervoltglühlampe von 100 Watt (12 V, 8 A). Die Aufnahme Frequenz war je nach dem aufzunehmenden Objekt verschieden: bei der Sporenkeimung und Kolonienbildung waren es 2 Bilder pro Minute, bei den Aufnahmen der Bewegung innerhalb der Kolonie 24 Bilder pro Sekunde, bei der Versporung der Keime 20 Bilder pro Stunde.

Der größte Teil der Aufnahmen wurde mit einer 1000fachen, einige Bilder mit einer 800fachen Vergrößerung gemacht.

II. Filminhalt

Sporenkeimung, Mikroplatte nach Fortner¹⁾

Zuerst wird der Entwicklungsvorgang der *Cl. tetani*-Keime aus den auf die Mikroplatte aufgetragenen Sporen gezeigt. Man sieht zunächst in der mit einer Aufnahmegeschwindigkeit von 2 B/min gemachten Aufnahme einzelne lichtbrechende, runde bis ovale Gebilde im Gesichtsfeld liegen. Nach etwa 8stündiger Bebrütung bei 38° C wird eine Verdichtung in der Spore sichtbar, die sich optisch in einer Dunkelfärbung äußert. Etwa 2 Stunden danach tritt eine eruptionsartige Sprengung der Sporenkapsel mit Austritt des fertig entwickelten Tetanusstäbchens ein. Die geplatzte leere Hülle bleibt liegen. Bei der „Auskeimung“ der Tetanus-spore handelt es sich also nicht, wie bisher angenommen wurde, um ein „Keimen“, sondern um ein „Ausschlüpfen“ des fertigen Stäbchens.

Koloniebildung

Das geschlüpfte Stäbchen vermehrt sich durch Querteilung. Aus wiederholten Teilungen entsteht ein Faden, der vielfach „abbricht“. Seine Teile legen sich dann durch Vorwärts- und Rückwärtsbewegungen nebeneinander und bilden eine Kolonie, deren Entstehung aus einem

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

einzelnen Keim im Film in allen Phasen deutlich verfolgt werden kann (2 B/min). Sie scheint in einer gewissen Ordnung und wie nach einem Plan zu erfolgen. Die einzelnen Keime unternehmen dann vom Kolonienrand her kleine „Stoßtrupps“ auf der Suche nach neuem Lebensraum. Manche kehren zwar wieder zur Kolonie zurück, doch die anderen dringen als Ausläufer nach allen Richtungen vor, so daß zu guter Letzt die ganze Oberfläche des Nährbodens wie von einem dünnen Schleier bedeckt zu sein scheint. Durch diese Ausläufer wird das Kolonienwachstum von *Cl. tetani* auf festen Nährböden charakterisiert.

Bewegung in der Kolonie

In der Mitte der gebildeten Kolonie herrscht eine lebhaftere Bewegung der einzelnen Stäbchen, die ohne Unterlaß in dem ihnen zur Verfügung stehenden Raum kreisen. Im Gesamtbild (zunächst 1 B/s, später 24 B/s) wirkt dies wie die Bewegung von mehreren Wasserwirbeln, von denen ein jeder eine andere Drehrichtung verfolgt. Welche Kräfte den Keimen diese gewisse Ordnung in der Bewegung innerhalb der Kolonie diktieren, wissen wir noch nicht. Der Rand der Kolonie zeigt keine so lebhaftere Bewegung wie das Zentrum.

Versporung

Im weiteren Verlauf der Entwicklung merkt man bei 20 B/h kurz vor der Versporung auch am Rande der Kolonie eine zunehmend lebhaftere Bewegung der Keime. Die Versporung des einzelnen Stäbchens wird optisch mit deutlich erkennbaren Verdichtungen und Verdickungen am Pol eingeleitet. Aus diesen entwickelt sich dann eine endständige, runde, helle Spore. Nach einer gewissen Zeit sieht man innerhalb der Kolonie eine Reihe heller Sporen-Kügelchen aufblitzen, die immer zahlreicher werden, je älter die Kolonie wird. Der einzelne Keim stirbt nach der Sporentstehung ab und die Spore bleibt als Dauerform übrig.