

Die bakteriologische Mikrofotografie ist fast so alt wie die Bakteriologie selbst. Robert Koch hat bereits im Jahre 1877, als er noch Kreisphysikus in Wollstein war, eine grundlegende Arbeit über die Bakterienmikrofotografie veröffentlicht. In dieser Arbeit schreibt er, daß ein Mikrofotogramm gegenüber der Zeichnung den entscheidenden Vorteil der größeren Originalgetreue hätte, daß die fotografische Platte das mikroskopische Bild besser oder vielmehr sicherer wiedergebe, als es die Netzhaut des Auges zu empfinden vermöge, und daß die Mikrofotografie durch die Unbestechlichkeit des Films wohl manche wissenschaftlichen Streitfragen würde lösen können. Die weitere Entwicklung der Mikrofotografie hat Robert Kochs Ansichten voll bestätigt.

Wenn man heute die Arbeiten Robert Kochs liest und die ihr beigegebenen Mikrofotogramme betrachtet, kann man es nur bewundern, mit welcher Meisterschaft er unter den damaligen technischen Voraussetzungen fotografisch gearbeitet hat. Wir können heute mit den modernen feinkörnigen Filmen, den besten Lichtquellen und den neuesten Mikroskopen kaum bessere Aufnahmen machen, als Robert Koch sie vor nahezu 80 Jahren in einem behelfsmäßigen Laboratorium mit einem komplizierten Apparat und mit Sonnenlicht angefertigt hat. Seine Aufnahmen sind auch heute noch vorbildlich. Viele der jetzt in Zeitschriften publizierten Abbildungen erreichen sie nicht.

Es fällt auf, daß von allen heute veröffentlichten Mikrofotografien die Bakterienmikrofotogramme noch die stärksten Mängel aufweisen. Woran liegt das? Die Bakterienpräparate erfordern die stärkste Vergrößerung, die man mit dem Lichtmikroskop erreichen kann. Es gibt kaum Präparate in der Bakteriologie, die man unter einer 800- bis 900fachen Vergrößerung betrachtet. Das Gebiet der Mikrofotografie beginnt aber schon mit einem Abbildungsmaßstab von 25 : 1. In diesen Bereich fallen bereits viele histologische Präparate. Mit der Stärke der Vergrößerung wachsen die technischen Schwierigkeiten des Fotografierens, weil die Lichtstärke wesentlich abnimmt und die Randunschärfe größer wird. Man hat in der Mikrofotografie den Begriff der „förderlichen Vergrößerung“ aufgestellt und versteht darunter einen Vergrößerungsbereich, der zwischen dem 500- und 1000fachen der numerischen Apertur des verwendeten Objektivs liegt. Mit histologischen Präparaten gelingt es leicht, in der Mitte dieses Bereichs zu bleiben. Bei bakteriologischen Präparaten muß man aber stets an die obere Grenze dieses Bereichs gehen. Eine weitere Schwierigkeit liegt in der Struktur der aufzunehmenden Objekte. Bakterien sind scharf konturiert. Ein Bakterienpräparat ist somit fast ein Testpräparat, wie es für die Prüfung von fotografischen Objektiven verwendet wird. Daher fällt dabei jeder Fehler des Mikroskops, aber auch jeder Fehler des Einstellens als Unschärfe viel stärker auf, als das bei weniger fein strukturierten anderen Präparaten der Fall ist. Hierin wird man wohl die Gründe für manches noch nicht befriedigende Bakterienmikrofotogramm zu sehen haben.

Eigene Untersuchungen

Es soll in folgendem über eigene Arbeitserfahrungen bei der Mikrofotografie von Bakterien berichtet werden. Hierbei ist es nicht möglich, die allgemeinen Voraussetzungen der Mikrofotografie, wie die Beleuchtungseinstellung nach dem Köhlerschen Prinzip oder die Berechnung des Abbildungsmaßstabs, zu erörtern. Es muß hierfür auf die Lehrbücher der Mikrofotografie verwiesen werden.

Wir verwandten für unsere Aufnahmen ausschließlicly den Kleinbildfilm, weil er wirtschaftlicher ist als die großen Formate, weniger Hilfseinrichtungen erfordert und eine kurze Belichtungszeit gestattet (siehe auch Weibel).

1. Hellfeldmikrofotografie

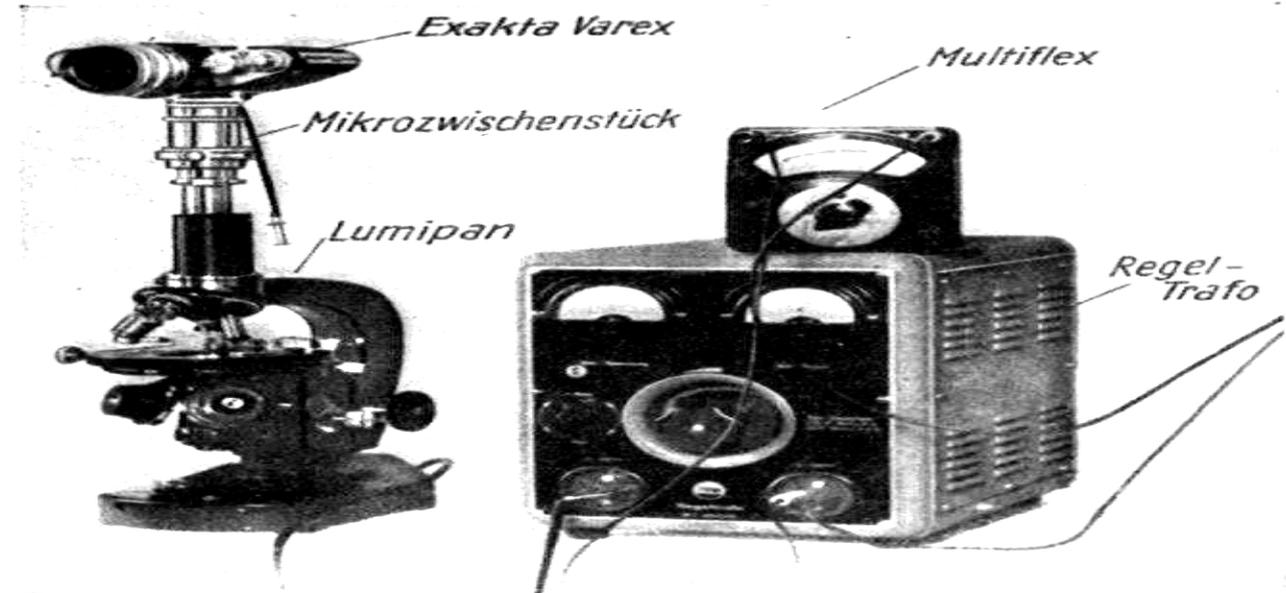
In der Hellfeldmikrofotografie hat sich das Zeiss-Lumipan-Mikroskop mit apochromatischen Objektiven und Kompensationsokular in Verbindung mit der EXAKTA Varex, bei der der normale Lichtschachteinsatz durch den Objektivlupeneinsatz mit Klarglaslupe ersetzt war, gut bewährt. Auch die Zeiss-Miflex-Aufsetzkamera mit den Projektiven lieferte gute Resultate. Wir versuchten auch mit dem Homal IV von Zeiss, dem Ihagee-Vielzweckgerät und der EXAKTA Varex bakteriologische Mikroaufnahmen herzustellen. Die Bilder waren weniger befriedigend, weil auf dem Kleinbildformat ein zu geringer Ausschnitt dargestellt wurde und die Nachvergrößerung außerdem über den Bereich der „förderlichen Vergrößerung“ hinausführte. Keine guten Erfahrungen machten wir mit dem Mikrophot der Rathenower Optischen Werke. Das Mikrophot ist in seiner Idee, Kamera und Mikroskop in einem Gerät zu vereinen, ausgezeichnet. Aber die technischen Voraussetzungen genügen für die Ansprüche der bakteriologischen Mikrofotografie noch keineswegs. Die Mattscheibeneinstellung dieses Gerätes erlaubt keine

genaue Scharfeinstellung der feinstrukturierten Bakterienpräparate, und die Justierung zwischen Kamerabild und Mikroskopbild ist nicht so exakt, als daß man sich darauf verlassen könnte. Außerdem kann man im Mikrophot nur achromatische Objektive verwenden, deren optische Fehler für die Fotografie sehr störend wirken.

2. Dunkelfeldmikrofotografie

Unser besonderes Interesse galt der Dunkelfeldmikrofotografie lebender Bakterien, speziell der Dunkelfeldmikrofotografie lebender Leptospiren, einer besonderen Spirochätenart. Die Dunkelfeldmikroskopie hat in den letzten Jahren im Phasenkontrastverfahren einen sehr starken Konkurrenten auf dem Gebiete der Lebendarstellung mikroskopischer Objekte erhalten. Ihr Platz für die Spirochäten-diagnostik ist aber noch unumstritten, weil die Spirochäten in ihrer Dicke gerade unterhalb der Auflösungsgrenze des Lichtmikroskops stehen. (Leptospiren haben eine durchschnittliche Dicke von 0.13 bis 0.14 μ .) Das Dunkelfeldverfahren erlaubt dennoch durch seinen Kontrasteffekt ein deutliches Erkennen der leuchtenden Leptospiren auf dem dunklen Untergrund. Es ist besonders wünschenswert, daß für die fotografische Darstellung von Spirochäten ein technisch nicht so schwieriges Verfahren geschaffen wird, weil es, wie Kathe nachwies, immer wieder zu Irrtümern und Verwechslungen zwischen Pseudospirochäten, die in jedem Blut-Nativpräparat spontan entstehen können, und Leptospiren kommt. Solche Verwechslungen ließen sich vermeiden, wenn die betreffenden Autoren einwandfreie Fotografien ihrer Befunde beibringen würden.

Fotografisch ist die Dunkelfeldmikrofotografie lebender Bakterien ein sehr heikles Kapitel. Neumann hat zwar schon 1929 ein sehr brauchbares Verfahren zur Mikrokinematografie lebender Bakterien und Spirochäten angegeben, aber Momentaufnahmen davon sind doch nur selten gelungen. In letzter Zeit wird der Elektronenblitz sehr für solche Aufnahmen empfohlen (Berger, Willnow u. a.). Da es noch kein spezielles mikrofotografisches Blitzgerät gibt, das Mikroskopierlampe und Blitz in einem System nach dem Köhlerschen Prinzip vereint, sind verschiedene Hilfsverfahren ausgearbeitet worden. Bei ihnen wird das Licht zum Einstellen des Präparates teils von einer anderen Stelle eingeblendet (Bergner), teils wird der Körper der Blitzröhre direkt in den Strahlengang der Einstelllampe gebracht (Fiedler). Wir haben die Verfahren von Fiedler durchprobiert und außerdem noch das Lumipan genommen, dessen Niedervoltlampe wir durch eine Blitzröhre ersetzt hatten — ohne jeden Erfolg. Zwar ließ sich im Hellfeld eine ausreichende Schwärzung für Negative erreichen, im Dunkelfeld



blieb der Filmstreifen aber völlig leer. Die Firma Preßler stellte uns freundlicherweise zwei ihrer Spezialblitzröhren für die Mikrofotografie zur Verfügung. Es handelte sich um die Röhre 00 G-108 und 00 G-125, die dem Ideal der punktförmigen Lichtquelle weitgehend entsprechen sollen. Auch diese Röhren waren für unsere Zwecke unbrauchbar. Die Dunkelfeld-Elektronenblitzaufnahmen, die sich in der Literatur finden, sind bisher auch noch nicht überzeugend.

Wir haben versucht, auf dem Wege der Langzeitentwicklung, wie sie von Kroll und von Otto früher in dieser Zeitschrift beschrieben wurde, weiterzukommen. Es handelt sich dabei um die 2-Stunden-Entwicklung in 1 : 40 verdünntem Rodinal, die besonders für lichtschwache Objekte empfohlen wird und nahezu eine 8fache Unterbelichtung gestattet (Kroll). Diese Langzeitentwicklung wendeten wir für Aufnahmen mit normaler Dunkelfeldbeleuchtung und für Elektronenblitzaufnahmen an. Der Film blieb vollständig ungeschwärzt. Erst die Kombination von Belichtung durch Überspannung und Langzeitentwicklung ermöglichte es uns, bei $\frac{1}{25}$ bis $\frac{1}{50}$ Sekunde Belichtungszeit Aufnahmen von Leptospiren zu erhalten¹⁾. Die Überspannung wurde mit einem Regeltransformator dosiert und mit einem Multiflex-Galvanometer kontrolliert. Die normale Belastung der Lumipan-Niedervoltlampe beträgt 6 V 15 W. Wir erhöhten kurzfristig die Spannung auf 10 bis 12 V. Als Filmmaterial verwendeten wir den Agfa-Isopan-Ultrafilm von 23/10 DIN Empfindlichkeit. Es ließ sich für diese Aufnahmen nur die EXAKTA Varex mit dem Objektivlupeneinsatz verwenden, weil die Miflex-Kamera nur etwa 20 % des Lichtes zur subjektiven Betrachtung im Einstellfernrohr verwertet und diese 20 % nicht ausreichen, um damit das Dunkelfeld gut einstellen zu können.

Die mit unserem Verfahren erzielten Aufnahmen zeigen noch eine gewisse Bewegungsschärfe, weil die Eigenbeweglichkeit schneller vor sich geht, als sie in einem Intervall von $\frac{1}{25}$ bis $\frac{1}{50}$ Sekunden zu fassen ist.

Dennoch sind Leptospiren als solche gut zu erkennen und von den Pseudospirochäten zu unterscheiden, so daß es wohl empfohlen werden kann, mit diesem Verfahren die Dunkelfeldmikrofotografie lebender Bakterien zu versuchen.

¹⁾ Für die technische Hilfe bei der Langzeitentwicklung sei der Fotografin des Hyg. Institutes, Fotomeisterin Frl. Ilse Seemann, herzlich gedankt.

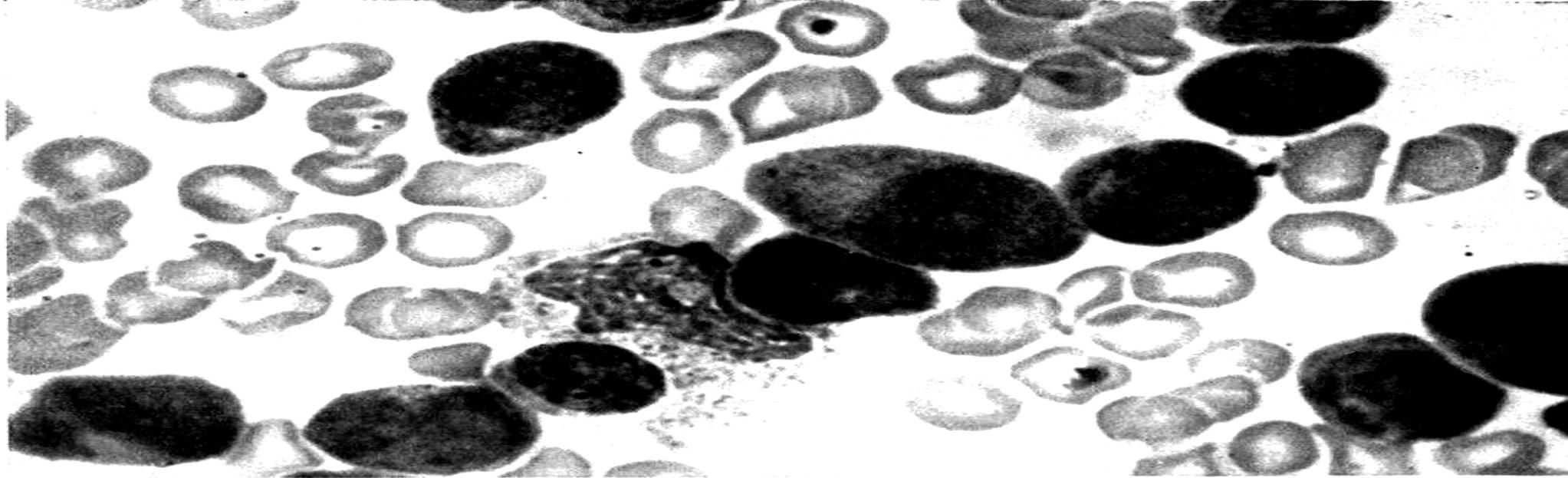
Der hier gegebene Überblick über Arbeitserfahrungen bei der bakteriologischen Mikrofotografie kann nur als Zwischenbericht darüber angesehen werden, was sich mit einfachen Hilfsmitteln auf diesem Gebiete erreichen läßt. Wie die Mikrofotografie überhaupt, so ist auch die bakteriologische Mikrofotografie z. Z. in der Entwicklung begriffen. Es ist zu hoffen, daß sich mit den neuen planachromatischen und planapochromatischen Objektiven des VEB Carl Zeiss Jena in Kürze noch bessere Resultate werden erzielen lassen.

Literaturangaben:

1. Bergner: „Der Elektronenblitz in der Mikrophotographie“ Feingerätetechnik Heft 9 (1952)
2. Fiedler: „Exakta Makro- und Mikrofotografie“ Halle 1954
3. Kathe: „Der Nachweis der Leptospiren im Blut“ Folia Hämatologica 71, 4 (1952)
4. Robert Koch: „Verfahren zur Untersuchung, zum Konservieren und zum Photographieren der Bakterien“ Cohns Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Breslau 1877
5. Kroll: „Unterbelichtung und lange Entwicklung“ Fotografie 1952, S. 391
6. Richard Neuhaus: „Lehrbuch der Mikrophotographie“ Braunschweig 1890
7. Neumann: „Bewegungsvorgänge beweglicher Mikroorganismen, insbesondere von Spirochaeten, festgehalten mit dem Kinematograph“ Klinische Wochenschrift 8 (1929), S. 2081
8. Otto: „Noch einmal: Unterbelichtung und Langzeitentwicklung“ Fotografie 1953, S. 75
9. Weidel: „Aus Theorie und Praxis der Kleinbild-Mikrophotographie“ Fotografie 1953, S. 128
10. Willnow: „Elektronenblitz-Mikrophotographie“ Fotografie 1953, S. 49

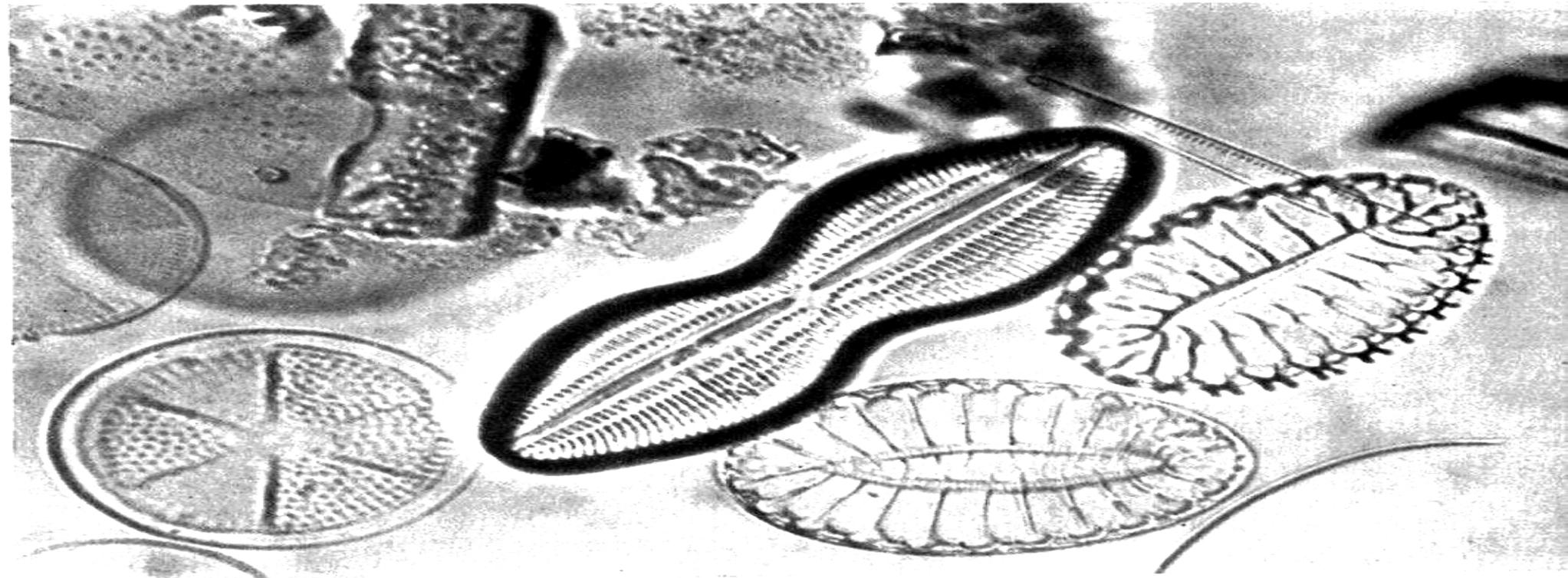
Dr. med. Heinz Höring, Rochlitz
Myeloblasten — Leukaemie
(Blutbild)

EXAKTA Varex mit Mikrozwichen-
stück II,
Mikroskop: Zeiss-Lumipan,
Semiapochromat 90/135,
Periplan-Okular 8 x,
Film IFF, Bel.-Zeit: 3 Sek.
Olimmersion



Dr. med. Heinz Höring, Rochlitz
Diatomeen am Yokohama

EXAKTA Varex mit Mikrozwichen-
stück II,
Mikroskop: Zeiss-Lumipan,
Apochromat 20 0,65,
Periplan-Okular 8 x,
Film IFF, Bel.-Zeit: 3/4 Sek.
Olimmersion



Dr. med. Hans Lothar Kölling,
Jena

Endomyces lactis
(Michsäure-Erreger)

EXAKTA Varex mit Zeiss-Mikroskop,
Phasenkontrast-Einrichtung, Objektiv
90 x, Olimmersion, Okular „Projek-
tiv“ 6,3 : 1, Film IFF-Agfa, Abb.-Maß-
stab auf dem Negativ 24 x 36 mm:
567 : 1

