

In the literature, there are many controversies about the typical collagen found in tendons, subcutaneous tissues, etc., and reticulin fibrils from stroma of parenchymal organs.

Up till now topographical distribution and affinity to silver salts were regarded conventionally as reliable criteria for differentiation of collagen and reticulin. But, bio-physical studies with polarized light and digestion tests have not, so far, given reliable data to prove actual differences between typical collagen and reticulin.

One of us, BAIRATI<sup>1</sup>, has found, with the aid of dark-field observations, that the web-like network in reticular tissues demonstrated with the usual silver method is not formed by elementary anastomosed fibrils, but is actually made up of plexus of submicroscopic fibrils. The facts reported in this paper are also in favour of this conception.

The essential electron optical characteristics of the reticulin fibrils described here, reveal quite a clear identity with the characteristics of typical collagen fibrils. The only apparent difference seems to be their different diameter.

In addition to the bio-physical and digestion tests already mentioned as basic methods for differentiating and identifying reticulin and collagen fibrils, we consider the use of X-ray diagrams to be the ultimate deciding method to define the actual characteristics of pure reticulin fibrils. As ASTBURY<sup>2</sup> rightly points out, up till now it has been extremely difficult to obtain a reticulin specimen which is proved to be free from traces of other substances, especially from collagen fibrils, and which would be suitable for X-ray diagram research to give data upon pure reticulin.

Some time ago an attempt was made to present X-ray diagrams showing an example of pure reticulin fibrils: in this connection, HERINGA<sup>3</sup> presented an amorphous X-ray diffraction pattern obtained from fibrils prepared from the subcutaneous tissue of new-born mice.

Later, however, GROSS<sup>4</sup> controlled HERINGA's data and found that HERINGA's experimental material gave X-ray diffraction patterns similar to those of typical collagen. We should like, however, to add that we cannot accept subcutaneous tissue of new-born mice as a typical case of pure reticulin fibrils.

Judging by the new facts, we come to the conclusion that there is no essential sub-microscopic structural difference between collagen fibrils and reticulin fibrils.

The authors wish to thank Dr. STUDER, chief Assistant of the Electron Microscopy Laboratory of the University of Berne, Switzerland, for his helpful cooperation in their electron microscopic work.

A. BAIRATI, F. MASSARI, and G. MARSICO

Theodor Kocher Institute Berne, and Institute of Normal Human Anatomy, University of Bari, June 16, 1952.

### Zusammenfassung

Die Verfasser haben die Gitterfasern von Milz und Lymphknoten mit verschiedenen Methoden präpariert und im Elektronenmikroskop untersucht. Die Gitterfasern sind zusammengesetzt aus voneinander unabhängigen Elementarfibrillen von periodischer Struktur. Zwischen dieser und der periodischen Struktur der typischen kollagenen Fibrillen besteht Übereinstimmung.

<sup>1</sup> A. BAIRATI, Z. Zellforsch. 30, 389 (1940). – A. BAIRATI, F. MASSARI, and G. MARSICO, Boll. Soc. Biol. Sper. 27, 1583 (1951).

<sup>2</sup> W. T. ASTBURY (personal communication).

<sup>3</sup> G. HERINGA and A. WEIDINGER, Acta Neer. Morph. 4, 51 (1942).

<sup>4</sup> J. GROSS, J. Gerontology 5, 343 (1950).

Faseranastomosen bestehen aus einem Geflecht von Elementarfibrillen. Es wird der Schluss gezogen, dass zwischen Retikulin- und kollagenen Fibrillen kein wesentlicher Unterschied in der submikroskopischen Struktur besteht.

### Über eine Doppelbrechung in Kulturen von *Bacillus anthracis*

In einer früheren Mitteilung<sup>1</sup> wurde eine optische Anisotropie in Kulturen von *Mycobacterium tuberculosis* beschrieben. Virulente Stämme von Tuberkelbakterien bilden in Kolonien zopfartige Gebilde («cords»). Diese «Zöpfe» setzen sich aus zahlreichen, mehr oder minder exakt parallel geordneten Bakterien zusammen. «Cords» von genügender Dicke sind negativ doppelbrechend, bezogen auf ihre Länge.

Eine ähnliche Doppelbrechung sollte auch in Kulturen anderer Mikroorganismen zu finden sein. Mit derartigem war vor allem in Kolonien von *Bacillus anthracis* zu rechnen. Diese sind, wie man weiß, im allgemeinen durch eine charakteristische Struktur gekennzeichnet: Die länglichen Bazillen liegen orientiert in lockenartigen Strängen.

*Methode.* Prüfobjekt waren 24 Stunden alte, auf gewöhnlichem Nähragar gezüchtete Kulturen eines apathogenen Stammes von *Bacillus anthracis*. Klatschpräparate wurden auf einen Objektträger gebracht und durch zwei unterlegte Deckgläser vor dem Zerdrücken geschützt. Um völlig undeformierte Kolonien untersuchen zu können, wurden auch Kulturen auf Cellophan angelegt und von dort vorsichtig auf ein Deckgläser geschwemmt. Alle Messungen geschahen in 0,9prozentiger NaCl-Lösung.

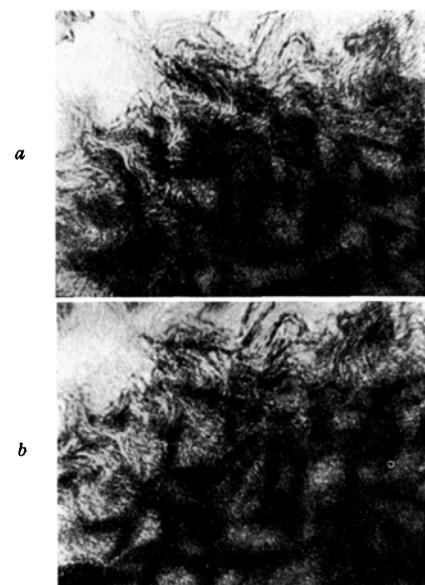


Abb. 1. Rand einer Kolonie von *Bacillus anthracis*. Vergrösserung ca. 45×. Gekreuzte Nikols und drehbarer Glimmerkompensator. Die Schwingungsrichtungen der Nikols entsprechen annähernd den Kanten der Bilder.

*a* Additionsstellung des Kompensators für Stränge, die von links unten nach rechts oben ziehen.

*b* Subtraktionsstellung des Kompensators für Stränge, die von links unten nach rechts oben ziehen.

Zahlreiche Stellen mit entsprechend gelagerten Strängen, die in *a* dunkel sind, sind in *b* hell, und umgekehrt.

<sup>1</sup> G. BOEHM, Exper. 5, 445 (1949).

Die Doppelbrechung wurde mit dem früher beschriebenen Glimmerkompensator<sup>1</sup> usw. geprüft. Mit Hilfe dieser Apparatur können auch sehr geringe Gangunterschiede ohne eine Halbschatteneinrichtung ermittelt werden.

**Befunde.** Ein Strang einer derartigen Kolonie, der sich bei gekreuzten Nikols in Diagonalstellung befindet, wird beim Hin- und Herbewegen des Kompensators abwechselnd hell und dunkel. Das Gesamtbild einer kleinen, nicht allzudicken Kolonie ist eindrucksvoll. Je nach ihrer Lage zu den Nikols und zur Stellung des Glimmerplättchens werden die «Locken» aufgehellt oder verdunkelt. Die ganze Kolonie ist auffallend gefleckt. Die beiden Abbildungen zeigen deutlich, wie ein und derselbe Strang bei Additions- und Subtraktionsstellung des Kompensators hell oder dunkel erscheint.

Der Charakter der Doppelbrechung ist, bezogen auf die Länge der lockenartigen Gebilde, *positiv*. Die Verzögerung beträgt bei «Locken» von genügender, bisher nicht messbarer Dicke ungefähr 4–5 m $\mu$  im weissen Licht. Das Vorzeichen ist also umgekehrt wie bei den «cords» der Tuberkelbakterien. Der Gangunterschied entspricht in der Größenordnung den dort bestimmten Werten.

Die optische Anisotropie ist vermutlich auf orientierte Feinbausteine der Zellwände oder der Kittsubstanzen, die die einzelnen Bakterien zusammenhält, zurückzuführen. Bei *Bacillus anthracis* weiss man heute nur Genaueres über die Zusammensetzung der Kapseln. Diese bestehen aus einem Polypeptid, das aus d(–)-Glutaminsäure zusammengesetzt ist<sup>2</sup>. Ob die Kapseln und die Kittsubstanzen ähnlich oder chemisch übereinstimmend sind, ist nicht bekannt. Sicher handelt es sich hierbei, wie auch bei den Zellwänden, um hochpolymere Verbindungen (wie zum Beispiel Polypeptide, Polysaccharide usw.), die bei fadenförmigen, entsprechend ausgerichteten Molekülen eine Doppelbrechung mit *positivem* Vorzeichen, bezogen auf die Längsrichtung, verursachen können. Die einzelnen orientierten Bazillen bilden vielleicht in den «Locken» einen sogenannten Stäbchenmischkörper. Die gesamte Doppelbrechung wird aber sehr wahrscheinlich nicht als eine «Stäbchendoppelbrechung» aufzufassen sein<sup>3</sup>. Ob die ermittelte optische Anisotropie mit einem lange zurückliegenden Befund von AMANN<sup>4</sup> zusammenhängt, wird noch besonders untersucht werden. AMANN hat seinerzeit einen Dichroismus einzelner Milzbrandbazillen beschrieben. Diese Beobachtung ist bis heute nicht überprüft und damit auch nicht genauer analysiert worden.

Mit den erwähnten Hilfsmitteln ist in ganz dünnen lockenartigen Strängen ein Gangunterschied nicht festzustellen. In dickeren «Locken» gibt es ohne Zweifel eine Summation der an sich schwachen optischen Anisotropie. Damit wird die Doppelbrechung in dem oben angegebenen Ausmass bestimmbar.

Die Untersuchung wurde mit Hilfe der Roche-Studienstiftung durchgeführt.

Für die Bereitstellung der Kulturen möchte ich Herrn Prof. J. TOMCSIK (Hygienisches Institut, Basel) auch an dieser Stelle danken.

G. BOEHM

Medizinische Universitätsklinik, Bürgerspital, Basel, den 30. Mai 1952.

<sup>1</sup> G. BOEHM, Exper. 5, 445 (1949).

<sup>2</sup> J. TOMCSIK und H. SZONGOTT, Z. Immunitätsforsch. 78, 86 (1933).

– G. IVÁNOVICS und V. BRUCKNER, Z. Immunitätsforsch. 90, 304 (1937); 91, 175 (1937). – W. E. HANBY und H. N. RYDON, Biochem. J. 40, 297 (1946).

<sup>3</sup> Vgl. hierzu G. BOEHM, I. c., S. 445/446.

<sup>4</sup> J. AMANN, Cbl. Bakteriol. 13, 775 (1893).

### Summary

Surface colonies of *Bacillus anthracis* consist, as is known, of hair-like curls. As is shown in this communication, these "curls" are birefringent. The sign of the double refraction is *positive*, with regard to the long axis of these "curls", while the sign in "cords" of colonies of virulent human tubercle bacilli is *negative*. Possible causes of this double refraction are discussed.

### Der Einfluss von Wechselströmen verschiedener Stärke auf die Antibiotikaproduktion durch Schimmelpilze in Oberflächenkulturen

Angeregt durch die Beobachtungen von KLIEWE und NEIDL<sup>1</sup> über den stimulierenden Effekt von Stromstößen auf das Wachstum von Bakterien untersuchten wir den Einfluss eines nicht unterbrochenen, niedrigen Wechselstromes von 18 mA auf die Produktion antibiotischer Stoffe durch die verschiedenen Schimmelpilze in Oberflächenkulturen<sup>2</sup>. Unter dieser Behandlung entwickelten sich die Kulturen schneller, die Sporulation trat früher ein, und die im Kulturfiltrat durch den Dilutionstest nachweisbare Aktivität war bis zu dreimal grösser als in den entsprechenden Kontrollen. Die erhöhte Aktivität wurde als Stimulierung durch schwache Reize aufgefasst, da sie nicht vorgetäuscht ist durch saure pH-Werte, durch die Bildung von Notatin und nicht bedingt ist durch ein grösseres Myzelgewicht. Wie die unten beschriebenen Versuche zeigen, besteht auch keine Beziehung zwischen der Aktivität und dem Gewicht des mit dem Azetonverfahren hergestellten Trockenmyzels oder dem des Glührückstands.

Nicht geklärt ist die Frage, ob es sich bei diesem Phänomen um eine Stimulierung aller Stoffwechselvorgänge der Pilze handelt, ob also zum Beispiel verschiedene von einem Pilz ausgeschiedene Antibiotika unter Stromeinfluss gleichzeitig vermehrt ausgeschieden werden. Wir wählten deswegen für unsere Versuche unter Beibehaltung der früher beschriebenen Technik<sup>3</sup> einen Stamm *Aspergillus oryzae*, der neben Flavicin auch Kojisäure ausschied (DE LUNA<sup>4</sup>). Da Flavicin vornehmlich gegen *Staphylococcus aureus* und die Kojisäure besonders gegen *Escherichia coli* aktiv ist, wurde jedes der täglich hergestellten Kulturfiltrate gegen beide Keime ausgetestet. Als Nährmedium diente das von VINCENT<sup>5</sup> angegebene modifizierte Czapek-Dox-Medium, da nach den Beobachtungen von KLIEWE und NEIDL die wachstumsstimulierende Stromwirkung in reinen organischen Medien, wie zum Beispiel in Bouillon, nicht darstellbar ist.

Aus der Tabelle ist zu entnehmen, dass unter der ununterbrochenen Einwirkung von Wechselstrom (18 mA) die Aktivität des Kulturfiltrates sowohl gegen *Staphylococcus aureus* wie auch gegen *Escherichia coli* grösser ist als in den nichtbehandelten Kulturen. Die wiedergegebenen Resultate stellen ein typisches Beispiel von zahlreichen Versuchen gleicher Art dar.

Zur Klärung der Frage wurden Versuche mit *Penicillium notatum* angesetzt unter Verwendung eines Wechselstromes von 10, 20 und 44 mA und 50 H und *Staphylococcus aureus* Sg 511 als Testkeim. Nach dem in der Tabelle wiedergegebenen Beispiel wurden die höch-

<sup>1</sup> H. KLIEWE und G. NEIDL, Arch. Hyg. 136, H. 4, 265 (1952).

<sup>2</sup> G. GILLISSEN, Vortrag Med. Ges. Mainz, 15. 6. 1951. – G. GILLISSEN und S. CARLSON, C. r. Acad. Sci. (31. 3. 1952).

<sup>3</sup> G. GILLISSEN und S. CARLSON, C. r. Acad. Sci. (31. 3. 1952).

<sup>4</sup> S. M. DE LUNA, 8. Congr. Chim. biol., Paris 1948.

<sup>5</sup> L. M. VINCENT, Bull. Soc. Chim. biol. (16. 11 1948).