Über die Milchsäurebakterienflora frischer und gelagerter Kälber-Labmagen

Von der

Eidgenössischen Technischen Hochschule
in Zürich

zur Erlangung der

Würde eines Doktors der Technischen Wissenschaften

genehmigte

Promotionsarbeit

vorgelegt von

Otto Richard aus Wynau (Kt. Bern)

Referent: *Herr Prof. Dr. M. Düggeli*
Korreferent: *Herr Dozent Dr. E. Zollikofer*

Buchdruckerei Turbenthal Rob. Furrers Erben 1942

Leer - Vide - Empty

Inhaltsverzeichnis

I. Einleitung und Problemstellung 5

II. Die Gewinnung der Milchsäurebakterien-Stämme 11

A. Gewinnung, Behandlung und Verarbeitung der Labmagen . 11

B. Die verwendeten Nährsubstrate 12

C. Isolierung und Reinzüchtung 14

D. Aufbewahrung der Stämme 15

III. Bestimmung der Artzugehörigkeit der isolierten Stämme . . 16

A. Allgemeines zur Bestimmung von Bakterien 16

a) Das Koloniebild 17

b) Das mikroskopische Aussehen 17

c) Die Optimalteperatur 18

d) Das Verhalten in Milch bei verschiedenen Bebrütungstemperaturen 19

e) Die Lakmusmilchprobe 20

f) Der Volutinnachweis 21

g) Die Nadelstichprobe 21

h) Die sogenannte «Zuckerreihe» 22

i) Das Kaseinabbauvermögen 24

B. Die isolierten Streptokokken 24

a) Streptococcus thermophilus Orla-Jensen 26

b) Streptococcus lactis Orla-Jensen 31

c) Streptococcus faecium Orla-Jensen 38

d) Streptococcus glycerinaceus Orla-Jensen 39

e) Streptococcus inulinaceus Orla-Jensen 43

f) Kritische Betrachtungen zur Streptokokkenklassifikation nach Orla-Jensen 43

C. Die Thermobakterien 49

a) Thermobacterium helveticum Orla-Jensen 51

b) Thermobacterium lactis Orla-Jensen 56

c) Betrachtungen zur Gattung Thermobacterium Orla-Jensen 62

D. Die Streptobakterien 66

a) Streptobacterium casei Orla-Jensen 67

b) Streptobacterium plantarum Orla-Jensen 70

c) Diskussion der Untersuchungsbefunde bei der Gattung Streptobacterium Orla-Jensen 76

E. Die Betabakterien 77
a) Betabacterium breve Orla-Jensen 78
b) Betabacterium longum Orla-Jensen 84
c) Vergleichende Betrachtungen zwischen den Angaben von Orla-Jensen und unseren Befunden für die Gattung Betabacterium 89
F. Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Artzugehörigkeit der isolierten Stämme 90

IV. Der quantitative und qualitative Keimgehalt der untersuchten Labmagen 92
A. Die Mikroflora der aus dem Handel bezogenen Magen . . 92
B. Der Bakteriengehalt frischer Kälber-Labmagen 94
C. Die mittels Anreicherungskulturen nachweisbaren Milchsäurebakterien 97
D. Zusammenfassung 100

V. Untersuchungen über Dissoziationserscheinungen in der Zuckerreihe 102
A. Geschichtliches und der Begriff der Dissoziation . . . 102
B. Dissoziationsformen der «Zuckerreihe» 108
a) Die Befunde bei Streptococcus thermophilus 110
b) Dissoziationsvorgänge bei Streptococcus lactis . . . 114
c) Die Ergebnisse bei Thermobacterium helveticum und Thermobacterium lactis 117
C. Diskussion der bei den Dissoziationsprüfungen erzielten Untersuchungsbefunde 121

VI. Zusammenfassung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse . 123

Anhang 125

Literaturnachweis 131

I. Einleitung und Problemstellung

Als erster vertrat im Jahre 1875 Cohn (16) die Auffassung, daß der Käsereifungsprozeß auf durch Bakterien verursachte Stoffumsetzungen zurückzuführen und die Labflüssigkeit als Ursprungsort dieser Mikroorganismen zu betrachten sei. Er wurde in dieser Ansicht durch die mikroskopische Untersuchung verschiedener Labauszüge bestärkt, bei denen er zahlreiche Spaltpilze feststellen konnte, die er allerdings als identisch mit seinem «Bacillus subtilis» betrachtete. Trotz dieser unrichtigen Schlußfolgerung hatte Cohn durch seine Beobachtungen den richtigen Weg zur Lösung der Frage des Käsereifungsprozesses gewiesen.

Cohns Auffassung über die Reifung der Käse wurde in der Folge durch die Untersuchungen von Duclaux (22), Adametz (1), v. Freudenreich (24) u. a. als richtig befunden. Dabei wies der letztgenannte Autor erstmals auf die grundlegende Bedeutung gewisser Milchsäurebakterien hin, während Duclaux die auf der Rinde gedeihenden Tyrothrixarten als Reifungserreger betrachtete und Adametz seinem Bacillus nobilis die wichtigste Rolle zuschrieb. Die auseinander gehenden Ansichten über die Natur der Reifungserreger von v. Freudenreich, Orla-Jensen, Thöni, Burri, Kürsteiner u. a. einerseits und Duclaux, Adametz, Weigmann, Rodella u. a. anderseits, brachten der Erforschung der Mikroflora des Käses einen mächtigen Auftrieb.

Während so alle Aufmerksamkeit den bakteriologischen Verhältnissen im Käse zugewandt wurde, fiel die Labflüssigkeit mit ihren Kleinlebewesen der Vergessenheit anheim. Erst im Jahre 1889, also volle 14 Jahre nach den ersten mikroskopischen Untersuchungen Cohns, berichtete Adametz (l. c.) über die bakteriologische Zusammensetzung von je zwei Proben Kunst- und Naturlab. Er fand in den beiden Kunstlabproben 650 und 800, im Naturlab 640 000 und 900 000 Mikroorganismen im Kubikzentimeter. In qualitativer Hin-

sicht konnten neben einigen Torulaarten und dem Bacillus subtilis die gleichen Organismen nachgewiesen werden, wie er sie auch im Käse angetroffen hatte, nämlich:

6 Mikrokokkenarten,
5 Sarcinaarten,
8 Bazillenarten,
3 Hefearten.

Einige Jahre später machte Herz (28) Angaben über die Bakterienflora des Labes und deren Vermehrung während eines gewissen Zeitablaufes. Er fand im frisch angesetzten Lab 11 000, nach 24 Stunden 3 306 000 und nach Ablauf von 48 Stunden 101 Millionen Keime im Kubikzentimeter. Was die qualitative Veränderung anbelangt, so zeigten sich im frischen Auszuge des Kälbermagens noch erhebliche Mengen Gelatine verflüssigender Bakterien und einige Schimmelpilze, die im älteren Lab samt und sonders verschwunden waren.

Die ausführlichsten Untersuchungen auf diesem Gebiete um die Jahrhundertwende stammen von v. Freudenreich und Orla-Jensen (25). Wie Herz zeigten auch sie, daß mit dem Naturlab eine Unmenge Bakterien in die Käsemasse gebracht werden. Als erste suchten sie die Herkunft dieser Mikroorganismen, insbesondere der sogenannten Milchsäurebakterien im Lab zu ergründen. Im Kunstlab konnten sie keine Vertreter dieser Spaltpilzgruppe finden, und da auch die Untersuchung eines Labmagens ein negatives Resultat zeitigte, gaben sie der Auffassung Ausdruck, daß die Erreger der Milchsäuregärung aus den zum Labansatze verwendeten Schotten stammen müßten. Die Beobachtung, daß Schotten, wie sie in Käsereien anfallen, bei Bruttemperatur aufgestellt nach kurzer Zeit große Mengen solcher Milchsäurebakterien aufwiesen, schien ihre Ansicht zu bestätigen.

Weitere Beiträge zur Kenntnis der Mikroflora von Kälberlabmagen und Lab lieferten Peter (53) und Köstler (37). Peter konnte im Naturlab häufig die Blähungserreger aus der Coli-Gruppe, die die Ursache der Preßlerkäse darstellen, nachweisen. Köstler hat durch Untersuchung an drei Labmagen über die Verteilung von Blähungserregern und Milchsäurebakterien in den einzelnen Magenpartien Aufschluß gegeben.

Erst im Jahre 1906 folgten ausgedehntere Untersuchungen an Labmagen durch J. Thöni. In seiner Arbeit: «Bakteriologi-

sche Studien über Labmägen und Lab» (65), berichtete dieser Forscher über die Ergebnisse seiner Prüfungen von Labmagen, Schotten und Lab. Er konnte dabei nachweisen, daß die für die Käserei wichtigen Milchsäurebakterien nicht aus den zum Labansatz verwendeten Schotten, sondern aus dem Labmagen stammen. Zwei von frisch geschlachteten Kälbern herrührende Magen gestatteten einen Einblick in die Mikroflora des Labmagens lebender Tiere.

Von den 20 untersuchten, aus dem Handel bezogenen Labmagen enthielten deren 14 Milchsäurebakterien in durch direkte Kulturen nachweisbaren Mengen, während bei den restlichen sechs nur Kokken und Vertreter der häufig fast in Reinkultur auftretenden Colibakterien gefunden wurden. Interessant ist Thönis Befund, daß bei den aus den Kälbermagen hergestellten Labkugeln der prozentuale Anteil der Milchsäurebakterien an der Gesamtflora ein viel höherer war, als bei den Magen. Wie der Autor bemerkte, wird diese Erscheinung dadurch zu erklären sein, daß bei der Herstellung der Kugeln durch das Eintauchen der Magen in Schotte oder Molkenessig eine Anreicherung der Milchsäurebakterien stattfindet. Thöni vermochte aus Anreicherungskulturen in Schotte die milchwirtschaftlich wichtigen Arten Bacterium lactis acidi, Bacillus casei α, β, γ, δ und ε zu isolieren.

In neuerer Zeit hat Schwarz (62) an gelagerten Labmagen Erhebungen gemacht und dabei teils durch direkte Kulturen, teils durch Anreicherungskulturen in bei 37 und 45 Grad bebrüteter Schotte verschiedene Arten der Orla-Jensen'schen Gattungen Streptococcus, Thermobacterium, Streptobacterium und Betabacterium nachweisen können.

Kantardjieff (31) beschrieb die Spaltpilzflora von Naturlab; Karnicki und Dorner (32) u. a. haben sich mit den in der Emmentaler-Käserei üblichsten Labarten und zugefügten Bakterienkulturen befaßt.

Bei allen diesen Arbeiten neueren Datums wurde der Versuch unternommen, die isolierten Milchsäurebakterien in das System von Orla-Jensen (51) einzuordnen. Alle diese Forscher stießen dabei auf mehr oder weniger große Schwierigkeiten, indem sie nicht alle angetroffenen Organismen zu identifizieren vermochten. Insbesondere gelang es Schwarz in den meisten Fällen nicht, seine Stämme zu bestimmen, was ihn dazu bewog, diese als «Zwischenformen» und «Mittelformen» von verschiedenen Arten aufzufassen. Kantard-

jieff beschrieb ein thermophiles Milchsäurelangstäbchen, welches weder mit Thermobacterium helveticum noch mit Thermobacterium lactis Orla-Jensen identisch sein soll und belegte es mit einem neuen Namen, Thermobacterium Burrii. Karnicki und Dorner isolierten eine Anzahl Stämme von Betabakterien, die sich unter keine der von Orla-Jensen beschriebenen Arten einreihen ließen.

Durchgeht man die ältere und neuere Fachliteratur, so fällt auf, daß sowohl in der Beschreibung als auch in der Benennung der Milchsäurebakterien große Uneinheitlichkeit herrscht. Als Ursache dieses Übelstandes müssen mehrere Momente angeführt werden. Einmal fehlte es an jeder einigermaßen einheitlichen Untersuchungsmethodik, die auch heute noch weit von einer Standardisierung entfernt ist. Eine befriedigende, allgemein anerkannte Systematik stand nicht zur Verfügung und wird leider auch heute noch vermißt. Jeder Autor beschrieb, gewöhnlich unter völliger Mißachtung der Variationsmöglichkeiten (Dissoziation) der Bakterien, die Spaltpilze nach ihrem kulturellen und mikroskopischen Aussehen in den von ihm verwendeten Nährsubstraten und auf Grund der durch sie bewirkten Stoffumsetzungen. Stimmten seine Befunde nicht genau mit denen eines anderen Forschers überein, so stellte er ohne Hemmungen eine neue Art auf. Leider haben diese Bemerkungen bis heute ihre Gültigkeit nicht ganz verloren.

Weigmann (67) unternahm als erster im Jahre 1899 den Versuch, die Milchsäurebakterien des Molkereigewerbes in ein System einzuordnen. Unter Berücksichtigung der Art der gebildeten Milchsäure (l-, d- oder i-Milchsäure), des Peptonisierungsvermögens von Gelatine und Milch, des Grades der Anaerobiose und weiterer Merkmale gelangte er zu 6 verschiedenen Gruppen. In welchem Maße es sich innerhalb einer Gruppe bei den einzelnen Organismen um selbständige Arten oder nur Varietäten handelte, vermochte er nicht endgültig zu entscheiden.

«Wir (Weigmann) wären also auf diese Weise, d. h. durch Aufstellung bestimmter Merkmale als Differenzierungsmomente zu 6 Gruppen gelangt. In jeder dieser Gruppen sind mehrere Organismen vereinigt und es fragt sich, ob diese als verschiedene Arten zu betrachten sind oder ob sie identisch sind resp. wenigstens zu einer Art vereinigt und als Varietäten betrachtet werden können. An die Beantwortung dieser Frage würde man wohl nur denken können, wenn es gelänge, die einzelnen Organismen in einer Hand zu vereinigen, durch welche sie verglichen werden könnten. Leider ist dafür jedoch

wenig Aussicht, da viele von den bereits beschriebenen Bakterien durch Absterben verloren gegangen sind, was gerade bei Milchsäurebakterien häufiger als bei anderen Bakterien sich ereignet.»

Weitere Bemühungen, dem immer größer werdenden Chaos Halt zu gebieten, gehen insbesondere auf Löhnis (44) zurück, der in seinem «Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien» auch dieser Spaltpilzgruppe nahe stehende Organismen in sein System einbezog, so z. B. die Vertreter der Coli-Aerogenesgruppe, ja selbst Kokken, die überhaupt keine Säure bilden, sondern Milch alkalisch machen.

Die Kritik ließ denn auch nicht lange auf sich warten und es war hauptsächlich Wolff (69), der der Löhnis'schen Systematik jegliche Existenzberechtigung absprach.

Ebenso wenig fanden die Vorschläge Orla-Jensen (50) und Gorinis (26) allgemeine Anerkennung.

Wesentlich später, im Jahre 1919, erschien Orla-Jensens Standardwerk «The lactic acid bacteria» (51), eine genaue Beschreibung der einzelnen Gattungen und Arten, sowie eine relativ einfache Systematik umfassend. Den Gärungsleistungen kommt darin für die Diagnostik eine besondere Bedeutung zu. Der Autor ließ den bisherigen Gattungsbegriff Bacterium fallen, welcher bis anhin alle stäbchenförmigen nicht sporenbildenden Spaltpilze umfaßt hatte, und teilte die Milchsäurestäbchen nicht nur in mehrere Arten, sondern auch in verschiedene Gattungen auf. Einzelheiten über den Aufbau dieses Systems, welches im Bereiche der Molkereibakteriologie weitgehend Eingang und Verwendung gefunden hat, werden wir an anderer Stelle unserer Arbeit folgen lassen.

Es ist eine längst bekannte, aber viel zu wenig berücksichtigte Tatsache, daß Bakterien in kultureller, zellmorphologischer und physiologischer Hinsicht Änderungen zeigen können. Englische und amerikanische Forscher bezeichnen diese Erscheinung als Dissoziation *. Darunter versteht man das bei Bakterien und anderen Mikroorganismen zu beobachtende Vermögen, ihre Eigenschaften in einem gewissen Umfange und mit einer gewissen Plötzlichkeit zu ändern. Diese Dissoziationserscheinungen, und zwar besonders diejenigen auf physiologischem Gebiete, verunmöglichen häufig die sichere Einordnung einer Bakterienart in das von Orla-Jensen aufgestellte

---

* nach Burri (9).

Klassifikationssystem, was viele Bakteriologen dazu bewegt, neben anderen Gründen, von diesem Abstand zu nehmen. Burri (9), Burri und Elser (13), sowie Burri und Kollmann (14) haben in neuester Zeit ausgedehnte Untersuchungen über solche dissoziative Vorgänge bei einigen Milchsäurebakterienarten durchgeführt und dabei gezeigt, daß nach deren Kenntnis eine Bestimmung und Einreihung nach dem Schema von Orla-Jensen oft mit größerer Sicherheit vorgenommen werden kann.

In Anbetracht, daß die Untersuchungen Thönis über Labmagen bis heute die einzigen von größerem Umfange geblieben sind, bei den anderen handelte es sich mehr nur um Tastversuche, schien es uns der Mühe wert, auf diesem Gebiete erneut ausgedehntere, dem heutigen Stande der Kenntnisse und Methoden angepaßte Erhebungen vorzunehmen. Um die erforderliche Arbeit bewältigen zu können, mußten wir uns insofern eine Einschränkung auferlegen, als niemals alle Gattungen nach Orla-Jensen berücksichtigt werden konnten. Die Gattungen Tetracoccus, Betacoccus und Microbacterium wurden deshalb nicht in die Untersuchungen einbezogen. Ein Hauptaugenmerk sollte dabei auf die sogenannte Zuckerreihe nach Orla-Jensen gelegt werden, deren Verwertbarkeit zu diagnostischen Zwecken noch vielfach umstritten ist. Ferner soll diese Arbeit einen Beitrag zur Kenntnis der Milchsäurebakterienflora von frischen Kälberlabmagen leisten; zu diesem Zwecke wurden neben 20 aus dem Handel bezogenen (10 polnischer, 10 schweizerischer Provenienz) auch 20 aus dem Schlachthof Zürich von frisch geschlachteten Saugkälbern stammende Labmagen einer näheren Untersuchung unterworfen*.

Zusammengefaßt stellten sich für die vorliegenden Untersuchungen folgende Probleme:

1. Welche Arten von Milchsäurebakterien lassen sich durch direkte Kulturen einerseits und durch Anreicherungskulturen anderseits in gelagerten und in den von frisch geschlachteten Tieren enthobenen Labmagen nachweisen?

2. Lassen sich die isolierten Milchsäurebakterien in das System nach Orla-Jensen einreihen und welcher Wert für die Dia-

* Die Magen wurden uns in zuvorkommender Weise vom Chef der Kuttlerei des Schlachthofes, Herrn Marquart, überlassen, wofür ihm an dieser Stelle der verbindlichste Dank ausgesprochen sei.

gnostik kommt dabei den einzelnen Merkmalen, besonders der Zuckerreihe, zu?

3. Wieviele und welche Milchsäurebakterien lassen sich einerseits in frischen, anderseits in präparierten Labmagen auffinden? Welche Arten gehen demzufolge anläßlich der Präparierung der frischen Magen zu Handelsware zahlenmäßig zurück oder ganz zugrunde?

4. Wie verhält es sich mit der Dissoziation einiger isolierter Milchsäurebakterienstämme? Sind auf Grund dieser Ergebnisse alle Orla-Jensen'schen Spezies wirklich als selbständige Arten oder zum Teil nurmehr als Varietäten zu betrachten?

Es ist mir ein Bedürfnis, an dieser Stelle meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Professor Dr. M. Düggeli, für die Überlassung des Themas und das wohlwollende Interesse, welches er meiner Arbeit stets entgegenbrachte, aufrichtig zu danken.

Ferner bin ich Herrn Dozent Dr. E. Zollikofer für seine Anregungen und Ratschläge zu großem Dank verpflichtet.

II. Die Gewinnung der Milchsäurebakterien-Stämme

A. Gewinnung, Behandlung und Verarbeitung der Labmagen

Die frischen Magen wurden im Schlachthof unter Beachtung der nötigen Vorsichtsmaßnahmen, daß keine Berührung mit Darminhalt oder Blut stattfand, den Tieren entnommen, an beiden Enden zugebunden, in sterile Gläser verpackt und unmittelbar anschließend im Laboratorium der bakteriologischen Untersuchung unterworfen. Unter leichtem Druck wurde vorerst der Mageninhalt herausgestreift, wobei wir darauf achteten, daß der sich zwischen den Falten befindliche Magenschleim zurückblieb. Kardia- und Pylorusdrüsenzone wurden weggeschnitten, ebenso entfernten wir anhaftende Fettadern. Vom übrig bleibenden Teil der Magen (Fundusdrüsenzone), welcher auch bei der Herrichtung zu Handelsware Verwendung fin-

det, enthoben wir mit steriler Schere mehrere Teilstücke und zerschnitten sie zu kleinen Schnitzeln. 20 g dieser Mittelprobe wurden in 200 cc sterilen Wassers mit einem Pistill gut bearbeitet. Diese Suspension diente uns als Ausgangsverdünnung ($^1/_{10}$) für die quantitativen und zugleich qualitativen Untersuchungen.

Von den gelagerten, bereits gereinigten Labmagen gewannen wir auf dieselbe Art und Weise Mittelproben. Davon wurden 2 g mit 20 cc sterilen Wassers ebenfalls zu einer Aufschwemmung verarbeitet.

B. Die verwendeten Nährsubstrate

Zur Isolierung und Reinzüchtung der Milchsäurebakterien verwendeten wir den auf Grundlage von Schotte (von Albumin durch Säurezusatz unter Erhitzen befreite Molke) hergestellten Peptonschottenagar mit ½ % Pepton «Witte», ½ % Pepton für bakteriologische Zwecke «Merck» (Kaseinpepton) und 1,5 % Agar-Agar, der jeweils auf ein pH von 6.8 eingestellt wurde. Daneben fand auch gewöhnlicher Fleischwasseragar (Nähragar) mit gleicher Stickstoffquelle und gleichem pH Verwendung.

Um bei der Isolierung den Verlust von Stämmen zu vermeiden, wurden diese jeweils sofort, noch bevor sie sicher rein waren, auf Schrägagar nach Demont und Dorner (20) verimpft.

Die verwendete sterile Magermilch war jeweilen bei 0.6 Atü Überdruck im Autoklaven keimfrei gemacht worden. Für die einzelnen Untersuchungsserien wurde immer Milch gleichen Gewinnungsdatums gebraucht.

Die benützte Lakmusmilch enthielt pro Liter Magermilch 10 cc einer 0.6-%igen wässerigen Lakmuslösung.

Zur Anreicherung der Milchsäurebakterien sowie zu zellmorphologischen Studien leistete Peptonschotte (Schotte mit 1 % Pepton), in gewissen Fällen Hefeextrakt gute Dienste. Letzterer wurde so gewonnen, daß entbitterte Brauereihefe in Flaschen gepreßt, verschlossen und zu 50 ° C gestellt wurde. Nach beendigter Autolyse, d. h. nach 1—2 Tagen wurde filtriert. Das saure Filtrat enthielt bis 2 % Stickstoff. Zur Gewinnung der Kulturflüssigkeit verdünnten wir mit Leitungswasser, bis die Lösung einen Stickstoffgehalt von 0.5 % aufwies.

Um die Stämme auf ihr Verhalten gegenüber der Zuckerreihe

nach Orla-Jensen zu prüfen, verwendeten wir die von Karnicki und Dorner (l. c. p. 1080) aufgeführte Grundnährlösung, welche auf Fleischabsud aufbaut, dem 1 % Pepton «Witte», 1 % Pepton für bakteriologische Zwecke «Merck» (Kaseinpepton) und ½ % Hefeextrakt «Difco»* zugefügt werden. Nach erfolgter Filtration wird auf pH 6,8 eingestellt, der gewünschte Zucker resp. Alkohol zugesetzt, in Reagiergläser abgefüllt und fraktioniert sterilisiert. Weil wir es im Falle der Milchsäurelangstäbchen zum Teil mit sehr kräftigen Säurebildnern zu tun hatten, wurden die Zucker in 2-%igen Lösungen verwendet, zudem ist dies nach den Untersuchungen Orla-Jensens ungefähr die optimale Konzentration. Wir sahen von einer Entzuckerung des Fleischabsudes durch Bacterium coli oder Bäckereihefe ab, weil bekanntlich Bakterien bei Anwesenheit von Spuren vergärbarer Zuckerarten häufig Stoffe angreifen, welche sonst nicht oder nur unbedeutend zersetzt werden können. Um den Organismen möglichst optimale Verhältnisse zu bieten, schien es uns außerdem vorteilhafter, ihnen ein Nährsubstrat zur Verfügung zu stellen, welches nicht schon durch Stoffwechselprodukte anderer Mikroorganismen verunreinigt war.

Zur Aufbewahrung unserer Stämme verwendeten wir neben sterilisierter Magermilch den von Orla-Jensen (l. c. p. 6) für seine sich über mehrere Jahre erstreckenden Untersuchungen gebrauchten Kaseinagar. 100 g zuckerfreies Säurekasein werden während einer Woche bei 37 ° in einem Liter Wasser, enthaltend 0,46 % Salzsäure (nicht wie in der Originalarbeit a gegeben 4,6 %!) und 2 g Pepsin verdaut. Die Lösung enthält nach erfolgter Neutralisation, Filtration und Sterilisation ungefähr 1 % Stickstoff und 1,2 % Kochsalz. Sie wird so weit verdünnt, daß der fertige Agar einen N-gehalt von 0,5 % aufweist. Zur Erhöhung der Pufferung des Nährbodens werden noch 0,2 % Dikaliumphosphat und 0,1 % Magnesiumsulfat zugesetzt. Wir fügten ferner 0,5 % Kochsalz und 0,25 % Glucose zu; letztere fördert das Wachstum ganz erheblich, ohne daß eine Schädigung der Bakterien durch die gebildete Milchsäure zu befürchten wäre, denn diese diffundiert vom Stichkanal weg in den Agar hinein und außerdem ist der Nährboden ja gut gepuffert. Die Versteifung erfolgt mit 1.5 % Agar-Agar; das pH soll 7,0 betragen.

---

* Hersteller: Difco Laboratories, 920 Henry Street, Detroit, Michigan, U. S. A.

Hin und wieder zogen wir auch die von Baumann (4) erwähnte Elektivnährlösung für Streptobakterien heran. Da diese zu Anreicherungszwecken gute Dienste leisten kann, sei ihre Zusammensetzung kurz wiedergegeben:

2 % Hefeextrakt,
1 % Maltose,
ad 100 % Leitungswasser.
Mit Salzsäure auf pH 4,0 einstellen.

C. Isolierung und Reinzüchtung

Um möglichst aller in den Magen sich befindlichen Milchsäurebakterien habhaft zu werden, kamen mehrere Kulturen zur Anwendung. Zum direkten Nachweis legten wir quantitative Gußkulturen von Nähragar und Peptonschottenagar, sowie Verdünnungsreihen auf Peptonschottenagar in hoher Schichtkultur an, die einerseits bei 30 °, anderseits bei 37 ° bebrütet wurden. Auf diesem direkten Wege konnten in den Labmagen, insbesondere denen des Handels, nur eine bescheidene Anzahl von Milchsäurebakterien gefunden werden. Um auch die zahlenmäßig schwach vertretenen Arten isolieren zu können, mußte daher zuerst eine Anreicherung derselben vorgenommen werden. Zu diesem Zwecke gaben wir Magenschnitzel in Stutzerfläschchen, enthaltend ca. 250 cc Schotte mit einem pH von 5,2 resp. 6,6, welche bei 30, 37 und 42 ° aufgestellt wurden. Ferner legten wir, ausgehend von der unter A. erwähnten Ausgangsaufschwemmung, Verdünnungsreihen in Peptonschotte mit verschiedenen pH-Werten an, die ebenfalls bei den oben erwähnten Temperaturen bebrütet wurden. Von diesen Kulturen zeigte in der Folge fast jedes Gläschen schon bei der mikroskopischen Prüfung ein anderes Bild, indem in tieferen Verdünnungen ausschließlich oder vorwiegend Stäbchen, in den mittleren neben diesen auch Streptokokken und in den höchsten immer nur Kugelketten zu beobachten waren. Zur Isolierung der in diesen Anreicherungskulturen zur Entwicklung gelangten Milchsäurebakterien bedienten wir uns der qualitativen Ausstrichkulturen nach Burri auf Peptonschottenagar, aerob und unter dem anaeroben Verschluß nach Wright-Burri mod. von Ritter und Dorner (56), die einerseits zu 30, anderseits zu 37 ° gestellt wurden.

Von jedem auftretenden Kolonietyp wurden 3—4 einzeln liegende Kolonien auf sterile Magermilch, Schrägagar nach Demont und Dorner sowie in Peptonschottenagar hohe Schichtkulturen überimpft; durch diese dreifache Überimpfung sollten eventuelle Verluste vermieden werden. Die auf diese Weise isolierten Stämme wurden zur sicheren Reinzüchtung solange durch hohe Schichten oder Ausstrichkulturen geschickt, bis sie kulturell das Aussehen von Reinkulturen zeigten. In den meisten Fällen war dies nach der ersten oder zweiten Passage der Fall; dagegen zeigte sich bei vielen Stämmen, daß sie auch nach mehreren Passagen kulturell noch uneinheitlich aussahen, indem zwei oder mehr Kolonietypen neben einander auftraten. Stellten sich solche voneinander abweichende Dissoziationsformen ein, denn es handelte sich zweifelsohne um dieses Phänomen, so bildeten wir aus jedem Kolonietyp einen Stamm. Bei ausgedehnterer Untersuchung, d. h. bei der Bestimmung mehrerer anderer Merkmale erwiesen sich solche Polymorphismusstämme immer als identisch.

D. Aufbewahrung der Stämme

Nach erfolgter Reinzüchtung wurden die Stämme zur weiteren Aufbewahrung in sterile Magermilch geimpft; diejenigen, welche diese nicht zu koagulieren vermochten, züchteten wir auf Schrägagar weiter, unter Einschaltung einer Passage in Glucosebouillon bei jeder zweiten Überimpfung. Die in Milch aufbewahrten Stämme wurden alle 10 Tage wieder in frische Magermilch übertragen. Es ist eine bekannte Erscheinung, daß bei dieser Übertragung die Verwendung kleiner Impfmengen zur Degeneration der Milchsäurebakterien führt; deshalb entnahmen wir den geronnenen Milchen mittels steriler Pipette ca. 1 cc und ließen diesen auf den Grund des neuen Aufbewahrungsglases ausfließen; auf diese Art blieb die Vitalität unserer Stämme mit wenigen Ausnahmen erhalten. Da infolge der Generalmobilmachung eine regelmäßige Weiterimpfung nicht mehr sichergestellt werden konnte, verimpften wir im August 1939 alle Stämme auf den von Orla-Jensen zum gleichen Zwecke verwendeten Kaseinagar in Form von Stichkulturen. Hier wurde eine Weiterübertragung nur alle 4—6 Wochen vorgenommen, wodurch während einer über mehr als zwei Jahre sich erstreckenden

Aufbewahrungsdauer nur einige wenige Stämme (hauptsächlich S c. thermophilus) geschwächt wurden oder gänzlich eingingen. Aufbewahrt wurden diese Kulturen immer bei Temperaturen zwischen 14 und 18 °, nachdem sie jeweilen bis zum sichtbaren Anwachsen bei 30 ° resp. 37 ° gestanden hatten.

III. Bestimmung der Artzugehörigkeit der isolierten Stämme

A. Allgemeines zur Bestimmung von Bakterien

Das Charakteristikum einer Bakterienart stellt die Gesamtheit verschiedenster Eigenschaften dar, deren Wertigkeit zu diagnostischen Zwecken von den einzelnen Forschern zu verschiedenen Zeitepochen bis in die Gegenwart nicht gleich eingeschätzt wurde. Der eine schwört auf die Zuverlässigkeit eines bestimmten Merkmals, der andere sieht dasselbe als für die Bestimmung unbrauchbar an. Das schwierigste ist meistens, bei einem Stamm festzustellen, welche Eigenchaften stabil und welche schwankend sind, und besonders bei den letzteren, in welchen Grenzen sich die Schwankungen bewegen. In dieser Schwierigkeit ist auch der Hauptgrund des unbefriedigenden Standes der Bakteriensystematik zu suchen.

Bei unseren Untersuchungen wollten wir nicht dem Fehler verfallen, zum vornherein einem bestimmten Merkmal oder Eigenschaftenkomplex die Hauptwertigkeit zuzumessen. Die Häufigkeit der einzelnen Erscheinungen sollte vermerkt und danach der Wert einer Eigenschaft zu diagnostischen Zwecken beurteilt werden.

Die Bestimmung der Art der isolierten Milchsäurebakterien nahmen wir an Hand der folgenden Merkmale vor:

a) des Koloniebildes,
b) des mikroskopischen Aussehens der Organismen in flüssigen und auf festen Nährsubstraten,
c) der Optimaltemperatur,
d) des Verhaltens in Milch (Säuerungsintensität und Säuerungsgeschwindigkeit, maximale Säuerungstemperatur),

e) der Lakmusmilchprobe (nur bei Streptokokken),

f) der Volutinbildung (nur bei den Langstäbchen),

g) der Nadelstichprobe (bei Streptobakterien und Betabakterien),

h) der Zuckerreihe,

i) des Kaseinabbauvermögens.

a) Das Koloniebild

Durch die Beobachtung, daß die kulturellen Eigenschaften, unter anderen auch die Kolonieform, großen Schwankungen unterworfen sind, ohne daß irgendwelche Ursachen festgestellt werden könnten (siehe z. B. die Angaben von Burri und Kollmann für Tbm. lactis [l. c. p. 415]), sind viele Bakteriologen dazu gekommen, diesen Merkmalen für die Diagnostik keine große Bedeutung beizumessen. Trotzdem erachteten wir es als nicht überflüssig, auch dem Aussehen der Kolonien unser Augenmerk zu schenken. Zu diesem Studium verwendeten wir qualitative Ausstriche nach Burri auf Peptonschotten- und Nähragar, sowohl bei 30 als auch bei 37 ° bebrütet, einerseits aerob und anderseits anaerob verschlossen. Um einzeln liegende, einander nicht störende Kolonien zu erhalten, gingen wir so vor, daß wir einen Tropfen einer 24 Stunden alten Milchkultur, resp. Glucosebouillonkultur bei den Betabakterien, in einem Röhrchen sterilen Wassers aufschwemmten und daraus eine Platinöse auf zwei gut angetrocknete Agarstriche ausstrichen.

b) Das mikroskopische Aussehen

Früher glaubte man, in den genauen Längen- und Breitenmaßen sowie in der exakten Beschreibung der Form der einzelnen Bakterienzelle untrügliche Artmerkmale zu besitzen. Auch diese morphologischen Eigenschaften zeigen aber die gleiche Variabilität wie das Koloniebild. Es ist deshalb nicht verwunderlich, daß dieses Merkmal immer mehr vernachlässigt wurde, ja häufig der vollständigen Vergessenheit anheimfiel. Um uns diesbezüglich ein Bild von der Dissoziationsbreite unserer Stämme machen zu können, unterzogen wir den größten Teil unserer Milchsäurebakterienstämme einer eingehenden mikroskopischen Prüfung. Das Ausgangsmaterial hierzu

lieferten uns einerseits die Kolonien auf den unter a) erwähnten Nährböden, anderseits Peptonschotte und Nährbouillon, in einigen Fällen Hefeautolysat. Bei derartigen Angaben muß natürlich immer, wie übrigens auch bei der Beschreibung der Kolonien, Art und Bebrütungszeit der verwendeten Kulturen vermerkt werden. Wo in unseren Ausführungen diese Vermerke fehlen, dienten zur Bestimmung des Koloniebildes 4—5 Tage lang bebrütete Kulturen, welche im selben Zeitpunkte auch zur Beschreibung der mikroskopischen Morphologie verarbeitet wurden, während die Mikroskopierung der Nährflüssigkeiten nach einer Bebrütungszeit von 24, höchsten 36 Stunden erfolgte.

c) Die Optimaltemperatur

Die meisten Bakteriologen, die sich mit Milchsäurebakterien beschäftigen, bestimmen für Milch koagulierende Arten oder Stämme die Optimaltemperatur an Hand der Gerinnungszeit von Milch; diejenige Temperatur, bei welcher die Milch zuerst dick gelegt wird, sprechen sie als optimalen Wärmegrad für den betreffenden Organismus an. Wir können uns mit dieser Methode nicht einverstanden erklären, denn unter der Optimaltemperatur versteht man doch allgemein diejenige Temperatur, bei der die intensivste Bakterienvermehrung stattfindet und nicht diejenige, bei der irgend eine Stoffumsetzung am ausgesprochensten ist. So liegen zum Beispiel die Optima für die Säuerung von Milch meisten etwas, für den Kaseinabbau beträchtlich unterhalb der Optimaltemperatur, weil eben die einzelnen, diese Stoffumsetzungen bewirkenden Enzyme verschiedene optimale Temperaturen aufweisen. Es ist allgemein bekannt, daß Milch bei ansteigender Temperatur durch abnehmende Mengen von Säure innerhalb derselben Zeit zur Gerinnung gebracht wird; kraft dieses Umstandes ist es allerdings häufig der Fall, daß man mit Hilfe der Gerinnungsmethode auf die Optimaltemperatur stoßen wird. Daß sie aber ganz unrichtige Ergebnisse zeitigen kann, zeigt sich z. B. bei der rasch säuernden Art Thermobacterium lactis, indem in diesem Falle die Milch oft bei mehreren Temperaturen zugleich dickgelegt wird (z. B. bei 37—48 °), ohne daß alle diese Wärmegrade für die Zellvermehrung gleich günstig wären. Vielleicht am offensichtlichsten wird der Trugschluß bei den Betabakterien, von denen die Mehrzahl die Milch, wenn schon, dann nur

bei 42 ° dicklegen kann; nur ganz vereinzelte Stämme zeigen aber bei dieser Temperatur die lebhafteste Vermehrung. Deshalb haben wir bei unseren Bestimmungen auf den Trübungsgrad von Glucosebouillon abgestellt. Die Prüfungen müssen bei dieser Methode relativ früh, nach 8, 16, 24 und 48 Stunden vorgenommen werden, weil später eintretende Sedimentation der Bakterien und durch die gebildete Säure bedingte Ausflockungen im Nährsubstrat den nephelometrischen Vergleich zwischen den verschiedenen Temperaturen verunmöglichen. Infolge der beschränkten Anzahl der zur Verfügung stehenden Bruträume und Thermostaten erstreckten sich unsere Untersuchungen nur auf die Temperaturen von 20, 30, 37, 42, 45 und 48 ° C.

d) Das Verhalten in Milch bei verschiedenen Bebrütungstemperaturen

Das Wachstum und die Stoffumssetungen der Milchsäurebakterien in Milch und deren dadurch bewirkte Veränderung sind nicht nur für die Praxis von Wichtigkeit und Interesse, sondern können auch für diagnostische Zwecke wertvolle Merkmale darstellen. Die Gerinnungszeit von Milch, welche Aufschluß gibt über die Geschwindigkeit des Säuerungsverlaufes, ist häufig das zuverlässigste Kriterium für die Beurteilung der Vitalität eines Stammes. Ihre Kenntnis kann wie die der Säuerungsintensität für die Artenbestimmung wertvoll sein. Eine besondere Bedeutung für die Diagnostik kommt in vielen Fällen der maximalen Säuerungstemperatur zu. Wir verstehen darunter die höchste Temperatur, bei welcher von einem Organismus in Milch noch Säure gebildet werden kann. Der Begriff ist also nicht identisch mit Maximaltemperatur, worunter man bekanntlich den höchsten, Wachstum gerade noch zulassenden Wärmegrad versteht. Zur Bestimmung der letzteren standen uns nicht genügend Thermostaten zur Verfügung. Die maximale Säuerungstemperatur ist bisweilen die am meisten geeignete Eigenschaft, zwei Arten von Milchsäurebakterien voneinander zu unterscheiden und besagt in der Regel ebenso viel, wenn nicht mehr als die in einer bestimmten Zeit gebildete Höchstsäuremenge.

Zur Untersuchung dieser Vorgänge wurden Reagiergläser, enthaltend 10 cc sterilisierte Magermilch, mit 0,1 cc einer 24stündigen Bouillon- oder Peptonschottenkultur geimpft und zu den unter c)

aufgeführten Temperaturen gestellt. Nach 14tägiger Bebrütung wurde der Inhalt der Röhrchen mit n/10 Natronlauge auf Phenolphtalein titriert und die gebildete Säuremenge in % umgerechnet.

In Milch wird gewöhnlich noch eine weitere Eigenschaft bestimmt, nämlich die Art der gebildeten Milchsäure. Da diese aber zufolge der relativ komplizierten Methodik nicht zu den auf einfache Weise bestimmbaren Merkmalen gerechnet werden kann und deshalb bei unserer großen Zahl von Stämmen nicht hätte durchgeführt werden können, haben wir sie bei unseren Untersuchungen nicht berücksichtigt. Wir glaubten dies umso eher tun zu dürfen, als die Studien Kantardjieffs (l. c.), Neubergs und Simons (49) u. a. gezeigt haben, daß dieses Merkmal nicht arttypisch ist, sondern vom jeweiligen Zustande eines Stammes abhängt, was übrigens zum Teil bereits aus den Tabellen in Orla-Jensens Originalarbeit hervorgeht.

e) Die Lakmusmilchprobe

Bitter und Buchholz (7), Heim (27), sowie Rudolf (59) glaubten, im Ausfall der Lakmusmilchprobe ein für Streptococcus lactis typisches Merkmal gefunden zu haben. Demeters Untersuchungen (17), wie auch diejenigen Baumanns (l. c.) lassen jedoch erkennen, daß eine bestimmte Veränderung der Lakmusmilch weder für Streptococcus lactis noch irgend eine andere Streptokokkenart charakteristisch ist, indem ein und derselbe Stamm einmal eine pseudotypische und dann plötzlich eine typische Reaktion ergeben kann. Auch Keitel (33) kam zum Ergebnis, daß der typische Ausfall dieser Probe für Streptococcus lactis nicht beweisend ist.

Nach Demeter kann die Lakmusmilch wie folgt verändert werden:

1. typisch, der blaue Farbstoff wird zuerst reduziert (Milch farblos), darauf erfolgt Gerinnung und anschließend Rötung der Milch von oben nach unten (Reoxydation des Farbstoffs).
2. pseudotypisch, Rötung der Milch, dann Gerinnung und schließlich Reduktion des roten Lakmus von unten nach oben.
3. negativ, nur Rötung der Milch ohne nachfolgende Gerinnung.

Bei der Angabe der Prüfungsergebnisse werden wir uns an diese Nomenklatur halten.

f) Der Volutinnachweis

Die Milchsäurelangstäbchen zeigen im Innern ihrer Zellen bisweilen metachromatische Körnchen, sogenanntes Volutin. Da dieses die gleiche Färbbarkeit zeigt wie die Einschlüsse der Diphteriebazillen, nimmt Wikullich (68) an, daß auch bei den Milchsäurebakterien aus Nucleinsäure aufgebaute Körperchen vorliegen. Dieses Volutinbildungsvermögen wurde von einzelnen Autoren auch schon zu diagnostischen Zwecken verwendet. So unterscheidet z. B. Kleeberg (35) zwischen einem Thermobacterium bulgaricum mit und einem ohne Körnchen, wobei sich die eine Form nie in die andere überführen lassen soll; zudem ergeben nach ihm nur die Körnchenorganismen echten Joghurt.

Es sei nur nebenbei erwähnt, daß Rudakow (57) diese Einschlüsse sogar als Gonidien ansieht, aus denen er bei Thermobacterium helveticum das Aussprossen der jungen Zellen beobachtet haben will. Später sieht dann derselbe Autor (58) in den «Nucleotiden» des Volutins Zwischenprodukte für die Milchsäurebildung.

Wir verfolgten deshalb das Auftreten dieses Volutinbildungsvermögens bei den Thermobakterien etwas näher. Zum Nachweis dieser metachromatischen Körnchen wurden Ausstrichpräparate aus während 24—36 Stunden bebrüteten Milchkulturen hergestellt und mit Methylenblau nach Löffler (43) gefärbt.

g) Die Nadelstichprobe

Zwischen den echten Milchsäurebakterien, welche außer Milchsäure nur Spuren anderer Stoffwechselprodukte bilden und den unechten (Coli-Aerogenesbakterien), die in der Hauptsache nicht Milchsäure, sondern andere Zersetzungsprodukte aus Kohlehydraten hervorbringen wie CO_2, H_2, Essig-, Bernstein- und andere Säuren, gibt es in Form der Orla-Jensenschen Gattungen Betacoccus und Betabacterium Übergangsformen, die neben Milchsäure bemerkenswerte Mengen von CO_2, Essig-, Bernstein- und anderen Säuren produzieren. Die Prüfung auf Gasbildung gestattet bei positivem Ausfall, was bei frisch isolierten Stämmen in der Regel der Fall ist, diese Gas bildenden Milchsäurebakterien in die Gattung Betacoccus resp. Betabacterium einzureihen. Zur Prüfung unserer Stämme auf ihr Gasbildungsvermögen verwendeten wir die

Nadelstichprobe nach Bürri und Staub (15), welche mit einfachsten Mitteln gestattet, mit Hilfe von Peptonschottenagar- oder Zukkeragar-Schüttelkulturen auf diese Fähigkeit zu prüfen.

Zu diesem Zwecke wird mit nicht zu dicker Platinnadel in 1—2 mm Entfernung von der Glaswandung parallel zu dieser bis in die Tiefe des Nährbodenzylinders gestochen. Unmittelbar oder kurze Zeit nach dem Herausziehen der Nadel zeigen sich im Stichkanal kleinere oder größere Gasbläschen, die unter Umständen derart anwachsen, daß es zu einer Spaltung des Nährbodens kommt. Offenbar bewirkt die durch diese Manipulation bedingte Veränderung der Druckverhältnisse in der gleichmäßigen Gallertmasse eine Entbindung der Gase, mit welchen der Nährboden übersättigt war. Die verwendete Nadel darf auf keinen Fall verkrümmt sein und muß mit ruhiger Hand geführt werden, damit man nicht Gefahr läuft, auf rein mechanischem Wege erzeugte Risse und Klüfte mit Gasspalten zu verwechseln.

h) Die sogenannte «Zuckerreihe»

In den Abschnitten a) und b) haben wir kurz dargelegt, wie und weshalb im Laufe der Zeit die kulturellen und zellmorphologischen Eigenschaften der Bakterien zu Klassifikationszwecken an Bedeutung einbüßten und dafür immer mehr Gewicht auf die physiologischen Merkmale gelegt wurde.

Orla-Jensen hat in Anlehnung an diese Strömung in seinem schon öfters zitierten Standardwerk über die Milchsäurebakterien den Gärungsleistungen dieser Mikroorganismen eine besondere Stellung eingeräumt. Bei den physiologischen Leistungen hat man zwischen der Einwirkung der Mikroorganismen auf stickstoffhaltige Substanzen einerseits (Eiweiße und ähnliche Stoffe) und stickstofffreie anderseits (Kohlehydrate, Alkohole u. a.) zu unterscheiden. Die Verwendung letzterer zu diagnostischen Zwecken wurde vom erwähnten Autor in ein System gebracht, welches in der Prüfung der zu bestimmenden Milchsäurebakterienart auf ihr Verhalten gegenüber verschiedenen stickstofffreien Substanzen besteht, von denen die meisten Zucker oder höhere Alkohole darstellen. Diese sogenannte «Zuckerreihe» nach Orla-Jensen umfaßt folgende 18 stickstofffreien Stoffe:

1. Glycerin
2. Xylose
3. Arabinose
4. Rhamnose
5. Sorbit
6. Mannit
7. Fructose
8. Glucose
9. Mannose
10. Galactose
11. Saccharose
12. Maltose
13. Lactose
14. Raffinose
15. Inulin
16. Dextrin
17. Stärke
18. Salicin

Obwohl verschiedene Autoren darauf hinweisen, daß auf die vier Hexosen Fructose, Glucose, Mannose und Galactose nicht geprüft werden muß, da sie in der Regel von allen Milchsäurebakterien kräftig angegriffen werden, untersuchten wir trotzdem auch die Vergärung dieser Zucker, um eine eventuelle Bevorzugung des einen oder anderen feststellen zu können.

Inbezug auf die Technik ist zu bemerken, daß die Zucker- und Grundnährlösungen in Reagiergläser zu je 10 cc abgefüllt, mit je einem Tropfen einer 24stündigen Bouillon- bezw. Peptonschottenkultur geimpft wurden. Die 14 Tage umfassende Bebrütung erfolgte für die thermophilen Arten bei 37 °, für alle übrigen bei 30 ° C. Um bei solchen Experimenten vergleichbare Resultate zu erhalten, müssen sie alle unter den genau gleichen Bedingungen vorgenommen werden, deshalb kam bei jeder Serie von zu prüfenden Stämmen nur Nährlösung gleichen Herstellungsdatums zur Anwendung. Als Maß für die Intensität, mit der ein Zucker angegriffen wurde, bestimmten wir die pH-Erniederigung im Nährsubstrat. Diese ergibt sich aus der Differenz zwischen der Wasserstoffionenkonzentration des ungeimpften, aber mitbebrüteten Röhrchens eines Zuckers und derjenigen des geimpften, wobei vom erhaltenen Resultat eine eventuelle Säuerung der ebenfalls geimpften und bebrüteten Grundnährlösung in Abzug zu bringen ist. Die pH-Messungen wurden mit Hilfe des Jonometers nach Lautenschläger ausgeführt.

Die Ergebnisse werden wir nur ausnahmsweise in Form von Tabellen darstellen, welche die pH-Erniedrigungen wertmäßig enthalten, sondern das von Burri (l. c.) vorgeschlagene Symbol verwenden. Das qualitative Resultat der Prüfung wird dabei durch die Nummer der vergorenen Substanz, die ihr gemäß der Reihenfolge in der «Zuckerreihe» nach Orla-Jensen zukommt, ausgedrückt. Als Maß der Intensität der Vergärung werden drei Grade unterschieden, indem Fettdruck kräftige, normaler Druck mittelstarke und eingeklammerte Ziffern schwache Zersetzung der betreffenden Substanzen bedeuten. So wäre z. B. das Gärungssymbol **7 8** (9) 10 **11 12 13** (16) derart auszulegen, daß von den in der «Zuckerreihe» enthaltenen Substanzen die Nummern 7 (Fructose), 8 (Glucose), 11 (Saccharose), 12 (Maltose) und 13 (Lactose) kräftig, 10 (Galactose) mittelstark, 9 (Mannose) und 16 (Dextrin) schwach angegriffen wurden.

Bei unseren Studien über die gärungsphysiologische Dissozia-

tion bestimmten wir aus Gründen der Material- und Arbeitsersparnis die Aziditätsänderungen bei den letzten Untersuchungsserien zum Teil auf eine etwas andere Art. Verwendung fand wiederum die gleiche Grundnährlösung, die jedoch nach Zusatz der einzelnen Zucker auf ein pH von 6,0 eingestellt und mit einem Indikatorengemisch von Bromkresolpurpur und Bromkresolgrün versetzt wurde *). Die derart zubereiteten Zuckerlösungen wurden in Portionen von 5 cc verwendet. Der Farbton verändert sich mit zunehmender Säuerung von purpur über grün nach gelb. Auch bei dieser Methode wurden wiederum die drei Grade der Vergärungsintensität unterschieden.

i) Das Kaseinabbauvermögen

Da für die Bestimmung der Milchsäurebakterien nach Orla-Jensen das Kaseinabbauvermögen für einzelne Arten eine ausschlaggebende Rolle spielt, prüften wir eine große Zahl unserer Stämme auf diese Fähigkeit, indem wir sie in kleine, 40 cc Magermilch und 6 % Kreide enthaltende Erlenmeyerkölbchen impften und während eines Monats bei 30 ° bebrüteten. Nach Fällung der unlöslichen Stickstoffverbindungen durch Erhitzen und Zusatz von etwas Essigsäure bestimmten wir nach Kjeldahl (34) im Filtrat den löslichen Stickstoff. Aus der Differenz mit einer ungeimpften, aber mitbebrüteten Kontrollprobe ergab sich die durch bakterielle Tätigkeit bedingte Vermehrung des wasserlöslichen Stickstoffs, die in % des Gesamtstickstoffgehaltes der verwendeten Magermilch umgerechnet wurde.

B. Die isolierten Streptokokken

Die Untersuchung unserer isolierten Streptokokken erstreckte sich auf die Bestimmung der Kolonieform, des mikroskopischen Aussehens, der Optimaltemperatur, des Verhaltens in gewöhnlicher Ma-

---

* Pro Liter Nährlösung wurden von beiden Farbstoffen je 17,5 cc von 1 ‰igen wässerigen Lösungen zugefügt.

Herstellung der Indikatorlösungen: 0,5 g Bromkresolpurpur resp. Bromkresolgrün werden in einer Reibschale fein zerrieben und mit 6 cc n/4 Natronlauge gut vermischt. Unter kräftigem Schütteln werden allmählich 500 cc Wasser zugefügt.

germilch und Lakmusmilch, zum Teil des Kaseinabbauvermögens und vor allem des Verhaltens gegenüber der «Zuckerreihe» nach Orla-Jensen. Letztere wurde in der vorliegenden Arbeit in den Vordergrund gerückt, nicht weil wir ihr für die Diagnostik zum vornherein einen überragenden Wert beimaßen, sondern weil dieser zum Teil auch heute noch umstritten ist. Aus der Konstanz dieses Merkmals konnte auf dessen Wert zu Bestimmungszwecken geschlossen werden. Zudem sollte untersucht werden, ob eine Aufteilung unserer Stämme in die von Orla-Jensen aufgestellten Arten auch ohne Kenntnis dieser Eigenschaft, deren Bestimmung nicht zu den einfachen gezählt werden kann, möglich gewesen wäre.

Die Vertreter der Gattung Streptococcus Orla-Jensen bilden immer d-Milchsäure, wachsen gut in Milch, nicht so gut oder sogar schlecht in Hefeextrakt. Streptococcus pyogenes, von dem gewöhnlich einige Stämme Lactose nicht vergären, gedeiht indessen schlecht in Milch. In der Regel teilen sie sich nur in der Richtung der Ebene.

Die von Orla-Jensen in drei Gruppen unterteilten 10 Arten zeigen die folgenden hauptsächlichsten Unterscheidungsmerkmale:

a) Meist kürzere oder längere Ketten. Nie Pentosenvergärung.

Sc.* thermophilus:	vergärt Saccharose, aber nicht Maltose, Dextrin und Salicin. Greift Kasein nicht an. Maximaltemperatur 45—50 ° C.
Sc. cremoris:	vergärt weder Saccharose noch Maltose und Dextrin, häufig auch Salicin nicht. In der Regel Kaseinabbau. Maximaltemperatur 35 bis 38 ° C.
Sc. mastitidis:	vergärt Saccharose, Maltose, Dextrin, Stärke und Salicin. Greift Kasein nicht an.
Sc. pyogenes:	vergärt Saccharose, Maltose, Dextrin und Salicin, oft auch Stärke. Bringt die Milch nicht zum Gerinnen.

b) Sowohl Diplokokken als auch längere Ketten. Meistens Pentosenvergärung. Vergären immer Maltose, Dextrin und Salicin, in der Regel auch Saccharose. Maximaltemperatur 45 ° C.

Sc. liquefaciens:	vergärt Sorbit und Glycerin. Kaseinabbau; verflüssigt Gelatine.

* Abkürzung für Streptococcus, die wir in der Folge immer verwenden werden.

Sc. glycerinaceus: vergärt Sorbit und Glycerin. Kein Kaseinabbau; verflüssigt Gelatine nicht.

Sc. inulinaceus: vergärt Raffinose und Inulin, oft Stärke und Xylose. Greift Kasein nicht an.

Sc. bovis: Vergärt als Regel Raffinose, Inulin, Stärke und Arabinose. Baut Kasein ab. Wächst nicht unterhalb 22 ° C.

c) Meist Diplokokken. Vergären immer Maltose, Dextrin und Salicin, meistens auch Pentosen.

Sc. faecium: vergärt immer Arabinose, in der Regel auch Saccharose, häufig Rhamnose und Raffinose. Baut Kasein nicht ab. Maximaltemperatur 50 ° C.

Sc. lactis: vergärt nie Saccharose, Raffinose oder Rhamnose. Häufig Kaseinabbau. Maximaltemperatur in der Regel 38—40 ° C.

Die von uns isolierten 181 Stämme von Streptokokken ließen sich wie folgt in die verschiedenen Arten aufteilen:

Sc. thermophilus	56 Stämme
Sc. lactis	36 Stämme
Sc. faecium	59 Stämme
Sc. glycerinaceus	27 Stämme
Sc. inulinaceus	3 Stämme

In den folgenden Abschnitten sollen die Befunde bei den einzelnen Arten einer näheren Betrachtung unterzogen werden. Um den Zusammenhang der verschiedenen Nomenklaturen mit derjenigen nach Orla-Jensen herzustellen, werden wir bei jeder Spezies, auch bei den in späteren Kapiteln aufgeführten Milchsäurestäbchen, eine Übersicht über die verschiedenen Synonyme geben; teils handelt es sich dabei um ältere, teils um besonders in der angelsächsischen Literatur gebräuchliche Namen.

a) Streptococcus thermophilus Orla-Jensen

Über die von uns zu dieser Spezies gerechneten Stämme gibt die Tabelle 1 Auskunft (siehe Tabelle 1).

Unsere Stämme zeichneten sich durch eine sehr große Variabilität ihrer makroskopisch- und mikroskopisch-morphologischen sowie der physiologischen Eigenschaften aus; Befunde, welche sich

mit denen von Orla-Jensen (l. c. p. 137), Burri (l. c. p. 99), Karnicki und Dorner (l. c. p. 1090) u. a. decken.

Auf den aeroben Ausstrichen von Peptonschottenagar blieb das Wachstum in den meisten Fällen ganz aus, hin und wieder machte es sich durch punktförmige Kolonien («pin-point colonies») bemerkbar, dagegen war dieses auf dem gleichen Nährboden anaerob verschlossen immer kräftig. Das häufigste Koloniebild waren runde, stark gewölbte, weißliche, feuchte Kolonien, opak oder von schwach kristallinischer Struktur, daneben konnten in großer Zahl solche mit unregelmäßigem Umriß beobachtet werden, welche durchscheinend waren und kürzere oder längere wurzelartige Ausläufer zeigten, sodaß das Aussehen bisweilen an kleine Mycoideskolonien erinnerte. Die Kolonien ein und desselben Stammes bildeten auf der gleichen Ausstrichkultur recht oft beide Typen nebeneinander, sodaß bei Nichtkenntnis der dissoziativen Erscheinungen leicht der Eindruck einer Mischkultur hätte erweckt werden können.

Noch bedeutend inkonstanter schien die Form der einzelnen Zellen und Zellverbände zu sein. Auf den festen Nährmedien zeigten sich Diplokokken, kurze und lange Ketten, deren einzelne Glieder bisweilen aus ausgesprochenen Stäbchen bestanden; diese Erscheinung trat besonders deutlich bei den «Mycoideskolonien» zu Tage. In andern Fällen konnten Stäbchenketten beobachtet werden, deren gestreckte Zellen in der Mitte eingeschnürt waren, sodaß man den Eindruck hatte, nicht vollständig geteilte Diplokokken vor sich zu haben. Eine ähnliche Unausgeglichenheit wiesen die mikroskopischen Präparate aus Peptonschotte auf, auch hier waren Monstrositäten immer festzustellen.

Sämtliche untersuchten Stämme zeigten ausgesprochene Thermophilie, lagen ihre Optimaltemperaturen doch durchwegs oberhalb 40 ° C. Dagegen säuerten viele die Milch schon bei 48 ° nicht mehr; einige zeigten bei dieser Temperatur in Glucosebouillon keine Vermehrung mehr. Die maximale Säuremenge wurde in den meisten Fällen bei 30 ° erreicht, anderseits bildeten einige Stämme selbst bei 48 ° noch über ½ % Milchsäure in der Magermilch, was verständlich erscheinen läßt, daß diesem Organismus die Hauptrolle bei der raschen Säuerung des Emmentalerkäses unter der Presse zugeschrieben wird, umso mehr als er ja anaerobe Verhältnisse vorzieht. Beachtenswert ist ferner die Geschwindigkeit, mit welcher die Säurebildung und damit die Dicklegung der Milch vor sich gehen.

Tabelle 1

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Stunden	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	45	0,69	24	0,1	**7** 8 (9) (10) **11** (12) **13**
2	45	0,58	24	0,0	(3) (6) 7 8 (9) **11** **13**
3	42—45	0,74	18	0,0	(5) 7 8 (9) (10) **11** **13** (17)
4	42	0,75	18	—	(7) 8 10 **11** **13** (16) (18)
5	45	0,67	24	—	7 8 (9) **10** **11** 12 **13**
6	45	0,54	24	—	(1) 7 8 (9) 10 **11** 12 **13**
7	42	0,65	24	—	(4) (5) (6) 7 8 (9) 10 **11** **13** (15) (17)
8	42	0,80	18	—	(3) 7 8 (9) **10** **11** (12) **13**
9	42	0,50	24	—	7 8 (9) **11** (12) **13**
10	42	0,66	18	0,5	(6) 8 10 **11** **13** (14)
11	37—42	0,54	24	0,0	7 8 (9) 10 11 **13** (18)
12	45	0,80	18	2,3	7 8 **11** **13**
13	45	0,80	18	0,3	(2) (4) (6) **7** **8** **9** **10** **11** 12 **13**
14	42	0,92	16	0,9	(5) (6) 7 8 (9) **11** (12) **13**
15	45	0,61	24	0,0	7 8 9 10 **11** **13** (18)
16	42—45	0,51	24	1,2	(3) (7) 8 9 **11** **13**
17	42—45	0,73	18	—	(7) 8 **9** 10 11 **13** (14)
18	37—45	0,76	14	—	(1) **7** 8 (9) 10 11 (12) **13**
19	42	0,77	18	—	7 8 9 **10** **11** 12 **13** (16) (18)
20	42	0,80	14	—	(7) 8 (9) 10 **11** (12) **13** (14) (16)
21	42—45	0,80	18	—	(2) (6) **7** 8 (9) 10 **11** (12) **13**
22	45	0,62	24	—	(3) (6) 7 8 (9) **11** (12) **13** (14)
23	45	0,71	18	—	(4) 8 (9) **11** **13** (17)
24	42	0,45	36	—	(2) (3) (4) 7 8 (9) (10) **11** **13**
25	42	0,85	12	—	(3) (5) (6) 8 10 **11** **13**
26	42	0,81	18	—	**7** 8 (9) 10 **11** (12) **13**
27	42	0,69	18	—	7 8 (9) (10) 11 (12) **13**
28	42—45	0,59	24		8 (10) 11 **13**

| | | |

Die erdrückende Mehrzahl unserer Stämme von Sc. thermophilus vermochte die Milch in einem Tage oder weniger dickzulegen; immerhin waren die Gerinnungszeiten nicht so kurze wie vielfach in der Literatur, z. B. von Karnicki und Dorner (l.c. p. 1092) angegeben. Bei den von den zitierten Forschern geprüften Thermophilus-Stämmen dürfte es sich um an die besonderen Verhältnisse der Emmentalerkäserei angepaßte Formen gehandelt haben, eine Vermutung, deren Richtigkeit an Wahrscheinlichkeit noch gewinnt, wenn man berücksichtigt, daß einige jener Stämme die Milch sogar sei 55 ° noch zu säuern vermochten.

Ein Zusammenhang zwischen Intensität und Geschwindigkeit der Säurebildung scheint nicht zu bestehen; so brauchte unser Stamm Nr. 39 mit einer Höchstsäuremenge von 0,61 % nur 16 Stunden, um die Milch zu koagulieren, Nr. 14 dagegen, der bedeutend mehr Säure zu bilden vermochte (0,92 %), 24 Stunden.

In Lakmusmilch zeigten nur 6 Stämme eine nach Demeter typische Reaktion, d. h. der Lakmusfarbstoff wurde vor der Gerinnung der Milch reduziert. Alle andern erwiesen sich als pseudotypisch, die Milch wurde vor der Gerinnung rot und erst nachher farblos. Die Reduktion verlief in diesen Fällen immer äußerst langsam und blieb öfters überhaupt aus.

Ein deutliches Kaseinabbauvermögen konnten wir bei keinem der auf diese Fähigkeit geprüften Stämme wahrnehmen.

Stellt man nach den Angaben von Orla-Jensen (l. c. p. 58) für Sc. thermophilus ein allgemein gültiges Gärungssymbol auf, soweit dies an Hand von nur 7 geprüften Stämmen überhaupt möglich ist, so würde sich nach unserer Schreibweise ungefähr folgendes ergeben:

7 8 9 10 **11** (12) **13**

Vergleichen wir damit die bei unseren Stämmen gefundenen Symbole, so konstatieren wir, daß von den 56 untersuchten ungefähr ein Drittel, nämlich 18, sämtliche von diesen 7 Substanzen überhaupt vergärten, ohne daß dabei allerdings die Intensität in allen Fällen übereingestimmt hätte. Von der oben angeführten Reihe wurden häufig die als mittelstark und schwach vergärbar angegebenen Stoffe 9 (Mannose), 10 (Galactose) und 12 (Maltose) entweder einzeln oder in der Mehrzahl, wobei die verschiedensten Kombinationen beobachtet werden konnten, nicht zersetzt. Diese Symbole nähern sich dadurch mehr dem von Bergey (6) für diesen Orga-

nismus angegebenen: **7 8 11 13,** welches auch Burri (l. c.) bei seinen Untersuchungen über Sc. thermophilus in der Regel antraf. Einige unserer Stämme ließen selbst die Vergärung von 7 (Fructose), die nach Orla-Jensen und anderen Autoren zu den immer angegriffenen Substanzen gehört, vermissen, sodaß nach unseren Befunden als konstante Symbolglieder einzig 8, 11, 13, also Glucose, Saccharose und Lactose übrig bleiben. Nach Burri (l. c. p. 102) soll auch Glucose hin und wieder ausfallen.

Außer diesen Lücken zeigten sich aber weitere Unregelmäßigkeiten, indem hin und wieder auch zusätzliche Glieder in der Zuckerreihe auftraten wie 1 (Glycerin), 2 (Xylose), 3 (Arabinose), 4 (Rhamnose), 5 (Sorbit), 6 (Mannit), 14 (Raffinose), 15 (Inulin), 16 (Dextrin), 17 (Stärke) und 18 (Salicin), also alle übrigen 11 Zucker, von denen die Pentosen (2 und 3), 12 (Maltose), 16 (Dextrin) und 18 (Salicin) nach Orla-Jensen nicht vergärt werden sollten. Diese, in den verschiedensten Kombinationen auftretenden Vergärungen waren allerdings immer nur schwach, sodaß ihnen wohl keine allzu große Bedeutung beigemessen werden darf.

Die Inkonstanz ist also auch für die Zuckerreihe bei Sc. thermophilus die Regel, sodaß von einem typischen Gärungssymbol nicht gesprochen werden kann; charakteristisch für diese Art scheint einzig die in der Regel geringe Anzahl von angegriffenen Zuckern zu sein. (Siehe auch Fig. 1 im Anhang.)

Für die Klassifikation standen uns aber leichter zu bestimmende Merkmale zur Verfügung, wie die ausgesprochene Thermophilie, die hohe und rasche Säuerung der Milch, das äußerst schwache oder fehlende Reduktionsvermögen von Lakmus und die starke Tendenz, Monstrositäten (Stäbchen mit und ohne Einschnürung) zu bilden, sowie das schlechte Wachstum in aerober Kultur.

b) Streptococcus lactis Orla-Jensen

Synonyme: Sc. lactis Lister,
Sc. lactis (Lister) Löhnis,
Sc. acidi lactici Grotenfelt,
Micrococcus acidi paralactici Nencki et Sieber,
Bacillus acidi lactici Günther et Thierfelder,
Bacterium Güntheri Lehmann et Neumann,
Bacterium lactis acidi Leichmann,
Bacillus lacticus Kruse,
Bacterium lacticus Chester,

Bacillus paralactici Kozai,
Sc. paralacticus Migula,
Bacterium lacticum Migula,
Bacterium truncatum Migula,
Sc. grotenfeltii Chester,
Lactococcus lactis Beijerinck,
Sc. lacticus Kruse,
Sc. Güntheri Lehmann et Neumann,
Bacillus lactis acidi Sewerin,
Bacterium leichmanni Wolff.

Als zu dieser Art gehörend bestimmten wir 36 der isolierten Streptokokkenstämme, die in der Tabelle 2 aufgeführt sind (siehe Tabelle 2).

In ihrer makroskopischen und mikroskopischen Morphologie zeigten diese Organismen eine ziemliche Ausgeglichenheit. Auf Peptonschotten- und Nähragar entwickelten sich einerseits runde, feuchte Kolonien von schwach kristallinischer Struktur, nie Ausläufer zeigend, anderseits häufig runde, erhabene, opake Anhäufungen, welche an Mikrokokkenkolonien erinnerten. Auf den beiden verwendeten Nährböden war das Wachstum sehr gut, bei anaeroben Verhältnissen meistens etwas üppiger als in aerober Kultur. Im mikroskopischen Aussehen waren die lactis-Stämme relativ konstant, sowohl was die Formen der verschiedenen Stämme auf ein und demselben, als diejenigen eines Stammes auf verschiedenen Nährsubstraten anbelangt. Neben vereinzelten kurzen Ketten und Einzelkokken waren Diplokokken vorherrschend; auf den Strichkulturen konnten häufig stäbchenartig gestreckte Zellen beobachtet werden (Bact. Güntheri).

Die erdrückende Mehrzahl unserer Stämme legte die Milch bei 30 ° in 24 Stunden oder früher dick. Die Optimaltemperatur betrug in der Regel 30 °, in einigen Fällen 37 °. Große Unterschiede zeigten sich bei der maximalen Säuerungstemperatur, indem die meisten Stämme bei 42 ° die Milch nicht mehr zu säuern vermochten, einige sie bei diesem Wärmegrad sogar noch koagulierten, diese müssen demnach eine über der von Orla-Jensen angegebenen liegende Maximaltemperatur von 40 ° besitzen.

In Lakmusmilch zeigten 23 Stämme eine typische, 4 eine pseudotypische und die restlichen 9 eine negative Reaktion, ein Ergebnis, welches in Anlehnung an die Untersuchungsresultate Demeters (l. c. p. 505), Baumanns (l. c. p. 17) u. a. besagt, daß der Ausfall

der Lakmusmilchprobe für Sc. lactis nicht typisch ist und somit dessen Trennung von anderen Streptokokken nicht erlaubt. Interessant an unseren Befunden ist, daß außer dem Stamm Nr. 20, der unmittelbar nach der Isolierung als einziger die Magermilch nicht koagulierte, noch weitere 8 Stämme (Nrn. 4, 5, 12, 16, 19, 25, 30 und 31), die das Gerinnungsvermögen besaßen, die Lakmusmilch nur röten, aber nicht dicklegen konnten. Nach längerer Weiterzüchtung in Milch brachten auch sie anläßlich einer späteren Prüfung die Milch zur Gerinnung und lieferten alle pseudotypische Resultate. Inwieweit bei diesen Stämmen eine Empfindlichkeit gegenüber Lakmus vorlag oder ein anderes ungünstiges Moment einwirkte, konnte nicht beurteilt werden.

Das Kaseinabbauvermögen, auf dessen große Inkonstanz schon Orla-Jensen hingewiesen hatte, bei dessen Herbeiziehung zu Bestimmungszwecken deshalb große Vorsicht geübt werden muß, konnte des öftern festgestellt werden, fehlte aber bisweilen auch gänzlich.

Nach obigem Autor käme dem Sc. lactis ohne Berücksichtigung der Gärungsintensität das Symbol:

7 8 9 10 12 13 16 18

zu, wobei häufig noch weitere Substanzen der Zuckerreihe in verschiedener Kombination vergoren werden können, besonders häufig die Pentosen Xylose und Arabinose, entweder einzeln oder auch beide zusammen.

Unsere Stämme zeigten als konstanten Teil des Gärungssymbols die oben angeführten Glieder, wobei als inkonstante Komponenten vor allem Mannit und Arabinose unter wechselnder Intensität angegriffen wurden, seltener auch andere Zucker. Ganz allgemein entwickelten sie ein geringeres Pentosenvergärungsvermögen als aus den Angaben von Orla-Jensen hervorgeht.

Als Übergangsformen zur nächstfolgenden Art, dem Sc. faecium, sind die Saccharose zersetzenden Stämme zu betrachten. Trotz der relativ großen Konstanz der Gärungsleistungen dieser Streptokokken gegenüber den stickstofffreien Substanzen der «Zuckerreihe» (siehe auch die Fig. II des Anhanges) kommt ihnen für die Diagnostik nach unseren Befunden keine besondere Stellung zu, was nach Besprechung der Ergebnisse für die folgenden Streptokokkenarten deutlicher in Erscheinung tritt.

Tabelle 2

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Stunden	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	30	0,58	24	0,0	(1) **7** **8** **9** 10 **12** **13** (14) 16 18
2	37	0,48	24	10,5	(1) (3) **6** **7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 18
3	30—37	0,69	18	11,7	(3) **7** **8** **9** **10** 11 **12** **13** 16 18
4	30	0,61	24	10,8	(3) **7** **8** **9** **10** **12** **13** (15) **16** **18**
5	30	0,63	24	19,5	(1) **7** **8** **9** **10** (11) **12** **13** 16 **18**
6	30	0,68	16	—	(2) (4) **6** **7** **8** **9** 10 **12** **13** (14) 16 18
7	30	0,55	24	—	**7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 **18**
8	37	0,70	18	15,2	3 **7** **8** **9** **10** **11** **12** **13** 14 **16** **18**
9	30	0,49	24	7,3	(2) 6 **7** **8** **9** 10 (11) **12** **13** **16** **18**
10	30	0,55	24	1,4	**7** **8** **9** **10** **12** **13** **16** (17) **18**
11	30—37	0,66	16	0,0	1 (3) (5) 6 **7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 (17) **18**
12	30	0,45	36	3,2	(2) 3 **6** **7** **8** **9** (10) **12** **13** 16 18
13	30	0,68	12	0,0	3 (4) 6 **7** **8** **9** **10** **12** **13** (14) **16** 18
14	30	0,62	18	0,1	1 (4) **7** **8** **9** **10** (11) **12** **13** **16** (17) **18**
15	30	0,57	24	9,0	6 **7** **8** **9** **10** **12** **13** **16** **18**
16	30—37	0,52	24	11,8	(1) (6) **7** **8** **9** 10 **12** **13** 16 18
17	37	0,61	18	0,5	6 **7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 **18**
18	30	0,73	14	—	3 4 **6** **7** **8** **9** **10** **12** **13** 14 **16** (17) 18
19	30	0,46	48	—	**7** **8** **9** 10 **12** 13 (16) 18
20	30	0,31	nach 10 Tagen flüssig	9,7	**7** **8** **9** (10) **12** (13) 16 18
21	30	0,60	16	20,4	(2) 3 5 **6** **7** **8** **9** **10** 11 **12** **13** 14 **16** **18**
22	30	0,47	24	6,5	1 (3) **7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 18
23	20—30	0,59	24	13,5	(1) (3) 6 **7** **8** **9** **10** (11) **12** **13** **14** 16 **18**
24	37	0,71	14	—	**6** **7** **8** **9** **10** **12** **13** **16** **18**
25	30	0,68	18	16,7	3 **6** **7** **8** **9** **10** **11** **12** **13** **16** **18**
26	30	0,66	16	—	(1) **7** **8** **9** 10 (11) **12** **13** **16** **18**
27	30	0,58	24	—	1 3 6 **7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 **18**

29	30	0,55	36	—					6	7	8	9	10	(11)	12	13		16	18
30	30	0,58	24	—					(6)	7	8	9	10	(11)	12	13	(14)	16	18
31	30	0,60	24	—	(1)		3			7	8	9	10		12	13		16	18
32	30	0,54	18	7,9				4 (5)	6	7	8	9	10		12	13		16	18
33	30	0,75	14	14,3						7	8	9	10		12	13	14	16	18
34	37	0,50	24	1,0		(2)			6	7	8	9	10		12	13		16	18
35	37	0,79	16	5,7					(6)	7	8	9	10	(11)	12	13		16	18
36	30	0,65	16	17,4					6	7	8	9	10		12	13	14	16	18

Tabelle 3

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Stunden	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	37	0,63	24	2,3	(1) (3) **6 7** 8 **9 10 11 12 13** 14 (15) 16 **18**
2	30	0,58	24	1,3	**1** (3) **7** 8 **9 10** 11 **12 13** 16 (17) **18**
3	30—37	0,52	18	0,6	4 6 **7** 8 **9** 10 **12** 13 **14** 16 (17) 18
4	37	0,41	36	0,2	**1** 3 4 **6 7** 8 **9 10 11 12 13** **16** **18**
5	30	0,49	24	14,0	**3** 4 **6 7** 8 **9 10 11 12 13** (14) **16** (17) **18**
6	30—37	0,45	24	0,0	1 **6 7** 8 **9 10 11 12 13** 16 18
7	30	0,53	18	0,0	(3) **7** 8 **9 10** 11 **12 13** **16** **18**
8	30	0,46	24	3,8	**3** 4 6 **7** 8 **9 10 11 12 13** 14 16 **18**
9	30	0,65	18	—	(4) 6 **7** 8 **9 10 11 12 13 14** 16 **18**
10	37	0,53	48	—	**1** **3** **7** 8 **9 10** (11) **12 13** 14 **16** **18**
11	30—37	0,42	36	0,5	1 3 (4) **6 7** 8 **9 10** **12 13** 14 (15) 16 18
12	30—37	0,48	18	4,1	(1) **6 7** 8 **9 10 11 12 13** 16 (17) 18
13	30	0,58	24	4,4	(3) (4) **6 7** 8 **9 10** 11 **12 13** 16 18
14	30	0,73	16	0,7	1 (3) **6 7** 8 **9 10** 11 **12 13** (16) (17) 18
15	37	0,52	18	—	(1) **6 7** 8 **9 10** (11) **12 13** 15 16 17 18
16	37	0,44	24	0,0	**3** 4 **6 7** 8 **9 10** **12 13** (15) **16** **18**
17	37	0,66	24	0,0	3 (4) (6) **7** 8 **9 10** (11) **12 13** (14) 16 **18**
18	37	0,57	24	0,0	**1** **7** 8 **9** 10 **11 12 13** 16 18
19	37	0,51	24	0,2	1 3 **6 7** 8 **9 10** **12 13 14** **16** **18**
20	30—37	0,57	24	0,0	(3) 6 **7** 8 **9 10** (11) **12 13** 14 16 (17) **18**
21	30	0,53	24	0,0	(1) **6 7** 8 **9 10** 11 **12 13** 14 (15) 16 (17) 18
22	30	0,79	14	0,0	1 (2) 3 (4) **5** **6 7** 8 **9** 10 (11) **12 13** 14 (15) **16** **18**
23	30	0,61	24	0,0	1 (3) 4 5 **6 7** 8 **9 10** 11 **12 13** (14) (15) 16 **18**
24	37	0,42	48	2,9	1 (4) (5) **6 7** 8 **9 10** (11) **12 13** (14) 16
25	37—42	0,64	24	4,3	1 (2) 3 4 6 **7** 8 **9 10** **12 13** 14 16 **18**
26	37	0,71	48	8,4	3 (4) **7** 8 **9 10 11 12 13** **16** **18**
27	30	0,49	24	3,3	(3) (6) **7** 8 **9 10** 11 **12 13** (14) 16 (17) **18**
28	37	0,60	18	1,3	3 4 6 **7** 8 **9** 10 **12 13** 14 16 18

| | | |

c) Streptococcus faecium Orla-Jensen

Synonyme: Enterococcus Thiercelin,
Gastrococcus Gorini,
Micrococcus ovalis Escherich,
Sc. glycerinaceus Orla-Jensen,
Sc. faecalis Andrewes et Horder.

Als Sc. faecium bezeichnete Orla-Jensen einen Streptokokkus, der einer der häufigsten Vertreter der Mikroflora des menschlichen und tierischen Verdauungstraktus darstellen und sich durch große Vitalität und Widerstandskraft gegen die mannigfaltigsten Einflüsse auszeichnen soll, was vom erwähnten Autor mit folgenden Worten ausgedrückt wurde:

"It is also fairly omnivorous, and can grow at widely different temperatures, so that it should be able to thrive practically everywhere throughout the world."

59 der isolierten Stämme ließen sich als Sc. faecium erkennen. Über sie gibt die Tabelle 3 Auskunft (siehe Tabelle 3).

Kulturelles und mikroskopisches Bild waren gleich wie bei Sc. lactis, mikrokokkenähnliche Kolonien neben solchen mehr fein kristallinischer Struktur. Kulturen unter dem anaeroben Verschluß zeigten ein um nur weniges besseres Wachstum als aerobe, auf denen die Kolonien auch bis drei Millimeter im Durchmesser erreichten.

Die Optimaltemperatur für diese Stämme lag mit 37 ° für die Mehrzahl und 30 ° für wenige Vertreter ungefähr im gleichen Rahmen wie für Sc. lactis. Dagegen erwies sich die Temperaturtoleranz bedeutend größer als bei der vorgehend beschriebenen Art, legten doch sämtliche der geprüften Stämme die Magermilch noch bei 42 ° dick und viele von ihnen selbst bei 48 °, während bei Sc. lactis nur in vereinzelten Fällen oberhalb 40 ° noch eine Säurebildung wahrgenommen werden konnte. Ein merklich schlechteres Wachstum in Milch als bei der vorstehend besprochenen Spezies konnten wir im Gegensatz zu Orla-Jensen bei unseren faecium-Stämmen nicht beobachten; die meisten Stämme brachten die Milch innert 24 Stunden zum Gerinnen.

Die 59 Stämme veränderten die Lakmusmilch wie folgt: in 46 Fällen trat eine typische, in 9 eine pseudotypische und bei 4 Proben eine negative Reaktion ein. Ein weiterer Beweis, daß der Ausfall dieser Prüfung nicht spezifisch für eine bestimmte Art ist.

Ohne Berücksichtigung der Intensität würde dem Sc. faecium gemäß Tabelle XX von Orla-Jensens Standardwerk folgendes Gärungssymbol zukommen:

1 3 6 7 8 9 10 11 12 13 14 16 18

dabei haben wir die Resultate der Kolonnen für die C-Stickstoffquelle (verdautes Kasein) berücksichtigt. Das Symbol für unsere Stämme weist eine bedeutend geringere Anzahl von regelmäßig zersetzten Zuckern auf:

7 8 9 10 12 13 16 18

d. h. die für Sc. faecium konstanten Glieder sind die gleichen wie für Sc. lactis (vergl. Fig. III im Anhang), was zweifellos für eine nahe Verwandtschaft dieser beiden Organismen spricht. Daneben wurden allerdings sehr häufig 1 (Glycerin), 3 (Arabinose), 6 (Mannit), 11 (Saccharose) und 14 (Raffinose) angegriffen, also jene Substanzen, die nach Orla-Jensen immer vergoren werden sollten. Diese Abweichungen mögen zum Teil daher rühren, daß sich seine Untersuchungen zahlenmäßig nur ungefähr auf ein Drittel der von uns geprüften Stämme erstreckten.

Nach Orla-Jensen sollte Sc. faecium Kasein nicht angreifen. Ein kräftiges Peptonisierungsvermögen konnte nur in einem Falle (Stamm Nr. 5) festgestellt werden, dagegen griffen viele faecium-Stämme den Käsestoff invensiver an als manche der geprüften Vertreter von Sc. lactis, welchem diese Fähigkeit in der Regel zukommen sollte. Diese Befunde weisen erneut darauf hin, daß dieses Merkmal zu Bestimmungszwecken nicht viel taugt.

d) Streptococcus glycerinaceus Orla-Jensen

Synonyme: Enterococcus Thiercelin
Gastrococcus Gorini
Micrococcus ovalis Escherich
Sc. faecium Orla-Jensen
Sc. faecalis Andrewes et Horder.

Mit diesem Namen belegte Orla-Jensen einen Stroptokokkus, der sich durch sein ausgeprägtes Glycerinvergärungsvermögen auszeichnet und in morphologischer Hinsicht sich dadurch von Sc. faecium unterscheidet, daß er neben der Diplokokken- auch in Kettenform auftritt.

Tabelle 4

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Tage	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	37	0,44	3	2,6	**1** 4 5 **6** **7** 8 9 10 **11** **12** **13** 14 (15) 16 18
2	37	0,49	3	6,2	1 *2* 5 6 **7** 8 9 10 11 **12** **13** 16 18
3	30	0,46	1	0,5	**1** (3) (4) **5** **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 16 17 18
4	37	0,39	5	1,9	**1** (2) **4** **5** **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) 16 18
5	37	0,41	3	0,0	1 4 **5** **6** **7** 8 **9** 10 **11** **12** **13** (14) (15) **16** 17 18
6	30	0,38	7	0,0	(1) *2* 4 5 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) 16 18
7	30	0,51	1	3,2	**1** *2* (4) **5** **6** **7** 8 **9** **10** (11) **12** **13** 16 **18**
8	30	0,66	1	0,9	**1** **2** **4** **5** **6** **7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** 16 **18**
9	30	0,47	4	1,4	1 (2) 4 **5** 6 **7** 8 9 10 **11** **12** **13** (15) 16 18
10	37	0,54	1	2,2	1 5 **6** **7** 8 9 10 **11** **12** **13** (14) **16** **18**
11	37—42	0,46	6	0,0	**1** *2* **4** (5) 6 **7** 8 9 **10** (11) **12** **13** 14 (15) (16) (17) 18
12	37	0,54	1	3,3	**1** (3) 5 **6** **7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** 16 **18**
13	37	0,52	1	1,7	1 (2) 4 **5** **6** **7** 8 9 **10** 11 **12** **13** **14** 16 (17) 18
14	30	0,46	3	0,7	1 (2) (4) 5 6 **7** 8 9 10 **11** **12** **13** (14) 16 18
15	30	0,40	6	2,0	(1) 5 **6** **7** 8 9 10 **11** **12** **13** 16 (18)
16	30	0,60	7	4,3	**1** *2* **4** 5 6 **7** 8 **9** 10 **11** **12** **13** (15) 16 **18**
17	30	0,42	1	5,1	**1** **2** (4) 5 6 **7** 8 9 10 **11** **12** **13** **14** (15) **16** **18**
18	37	0 50	1	—	(1) *2* **4** **5** **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 **16** 18
19	37	0,47	5	—	1 **4** **5** 6 **7** 8 9 10 11 **12** **13** 16 18
20	30	0,66	1	—	**1** 5 **6** **7** 8 9 10 (11) **12** **13** 14 16 (17) 18
21	30	0,41	8	—	(1) 5 **6** **7** 8 **9** 10 (11) **12** **13** 16 18
22	42	0,52	1	2,1	**1** 5 6 **7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** (14) 16 **18**
23	37	0,69	1	0,8	**1** (2) **5** **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) **16** (17) 18
24	37	0,49	1	3,6	(1) (4) 5 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 (15) 16 17 18
25	30	0,57	6	0,7	**2** (3) 4 5 **6** **7** 8 9 10 11 **12** **13** 16 18
26	30	0,48	7	—	**1** *2* (4) 5 6 **7** 8 9 10 11 **12** **13** (14) 16 18
27	30	0,66	1	—	1 *2* 4 **5** **6** **7** 8 9 10 **11** **12** **13** **14** **16** (18)

Das kulturelle Bild unserer 27 zu dieser Spezies gezählten und in der Tabelle 4 vereinigten Stämme deckte sich mit demjenigen von Sc. lactis und Sc. faecium. Das mikroskopische Aussehen schien uns dagegen weniger einheitlich, indem neben den vorherrschenden Diplokokken vermehrt Ketten verschiedener Länge auftraten.

Als optimale Temperaturen fanden wir 30 und 37 °. Das Milchgerinnungsvermögen, d. h. die Säuerungsgeschwindigkeit war in den meisten Fällen weniger entwickelt als bei den vorgehend beschriebenen Arten, indem die Magermilch erst nach Ablauf eines oder mehrerer Tage dickgelegt wurde; ein Befund, welcher sich mit den Angaben von Orla-Jensen zum Teil deckt und denen von Burri und Elser (l. c. p. 191) teilweise widerspricht. Nach ersterem beträgt die Gerinnungsdauer immer mehr als 24 Stunden, nach letzteren wird die Milch von diesem Organismus in der Regel in ebenso kurzer Zeit dickgelegt wie z. B von Sc. lactis. Die von den beiden letztgenannten Forschern gefundenen Untersuchungsergebnisse können damit erklärt werden, daß ihre aus Käse stammenden Vertreter von Sc. glycerinaceus eben an Milch angepaßt waren und somit in ihr innert kürzester Zeit Stoffumsetzungen vollbringen konnten.

Ein deutliches Kaseinabbauvermögen konnten wir nicht feststellen; die Verhältnisse waren ähnliche wie bei Sc. faecium.

Alle Stämme veränderten die Lakmusmilch typisch, d. h. die Reduktion des Farbstoffes fand vor der Gerinnung statt.

Nach Orla-Jensen sind alle Stämme mit dem Gärungssymbol 1 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 16 18

als typisch zu betrachten. Die weitaus größte Zahl der unserigen entspricht diesem Bilde, mit dem Unterschiede, daß meistens auch 14 (Raffinose) vergoren wurde. Im konstanten Teil des Symbols fehlte dagegen 4 (Rhamnose). Wir glauben nicht, daß deshalb zwischen einer Rhamnose vergärenden Unterart und einer diesen Zukker nicht angreifenden zu unterscheiden ist, sonst müßten wir konsequenterweise auch in anderen Fällen mehrere Unterarten ausscheiden.

In seinem Verhalten den 18 Zuckern gegenüber zeigten die einzelnen Stämme von Sc. glycerinaceus von allen Streptokokken die geringsten Schwankungen (vergl. Anhang, Fig. IV), sodaß bei

Tabelle 5

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Tage	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	30	0,44	2	0,9	**7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 **15** 16 (17) 18
2	30	0,58	1	1,6	(2) 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** **15** 16 17 18
3	30	0,51	2	—	2 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 **15** 16 (17) 18

dieser Art die Zuckerreihe für die Diagnostik von besonderer Bedeutung zu sein scheint. Eine andere Frage, auf die wir noch zurückkommen werden, ist die, ob es überhaupt gerechtfertigt ist. Sc. glycerinaceus als selbstständige Art aufzufassen.

e) Streptococcus inulinaceus Orla-Jensen

Synonyme: Bargen'scher Streptococcus,
(Sc. salivarius Andrewes et Horder),
Sc. bovis Orla-Jensen.

3 unserer Stämme reihten wir infolge des kräftigen Inulinvergärungsvermögens unter diese Art ein, welche nach Bergey (l. c.) identisch ist mit Sc. bovis, den wir aus den Kälberlabmagen nie isolieren konnten.

In ihren Eigenschaften stimmten sie recht gut mit den Angaben von Orla-Jensen überein. In Lakmusmilch bewirkte der Stamm Nr. 1 eine typische, die beiden anderen eine pseudotypische Reaktion. Keiner griff das Kasein der Milch in bemerkenswertem Maße an. Infolge der geringen Anzahl von geprüften Stämmen verzichten wir auf eine Diskussion der Ergebnisse der Zuckervergärung, sondern verweisen auf die Tabelle 5.

f) Kritische Betrachtungen zur Streptokokkenklassifikation nach Orla-Jensen

Unter Heranziehung verschiedener Isolierungsverfahren ist es uns gelungen, in Kälberlabmagen Vertreter der 5 Arten: Sc. thermophilus, Sc. lactis, Sc. faecium, Sc. glycerinaceus und Sc. inulinaceus nachzuweisen und mit mehr oder weniger Schwierigkeiten in das System nach Orla-Jensen einzuordnen. Dabei erfolgte die Trennung in die verschiedenen Spezies auf Grund von mehreren Eigenschaften, wie makroskopische und mikroskopische Morphologie, Optimaltemperatur, Wachstum in gewöhnlicher Magermilch und Lakmusmilch, Kaseinabbauvermögen und endlich Verhalten gegenüber der Zuckerreihe.

Welcher Wert ist nun dem einzelnen Merkmal für die Diagnostik beizumessen? Müssen für eine sichere Bestimmung alle diese Eigenschaften bekannt sein oder gibt es unter ihnen einzelne, denen zu Bestimmungszwecken eine überragende Bedeutung zukommt?

Wir wollen im folgenden versuchen, diese Fragen an Hand der gemachten Erfahrungen zu beantworten.

Schon in den einleitenden Kapiteln haben wir darauf hingewiesen, wie im Laufe der Zeit die morphologischen Eigenschaften zu diagnostischen Zwecken an Bedeutung verloren haben und heute bei Beschreibungen von Bakterien vielfach überhaupt nicht mehr erwähnt werden, wie uns scheint zu Unrecht.

Betrachten wir die verschiedensten Kolonietypen, welche innerhalb ein und derselben Art auftreten können, einerseits und anderseits die gleichen Bilder, die bei verschiedenen Arten zu beobachten sind, so erscheint es vorerst hoffnungslos, das kulturelle Merkmal zu Bestimmungszwecken verwenden zu wollen. Ähnlich verhält es sich mit der mikroskopischen Morphologie. Berücksichtigt man aber, daß die Zellform häufig für das Aussehen der Kolonien bestimmend ist (z. B. stäbchenförmige Zellen in den «Mycoideskolonien» bei S c. t h e r m o p h i l u s), so können bei großer Übung und Erfahrung des Untersuchenden die kulturellen und mikroskopischen Eigenschaften der Organismen für die Diagnostik sicher wertvolle Anhaltspunkte liefern, besonders wenn man dabei die Einflüsse der geringen und schwer erfaßbaren Unterschiede in den verwendeten Nährsubstraten (Alter, Hell- und Dunkelfärbung bedingt durch Veränderungen bei der Sterilisation, u. a. m.) auf die Ausbildung der Kolonien und Individuen kennt. Da uns besonders die fermentativen Eigenschaften interessierten, mußten wir auf ein in dieser Richtung in die Einzelheiten gehendes Studium verzichten.

Der Optimaltemperatur darf nach unseren Befunden keine allzu große Bedeutung beigemessen werden, da einerseits die einzelnen Arten keine deutlichen Unterschiede zeigen und anderseits aber die einzelnen Stämme ein und derselben Spezies, sogar die Nachkommen eines Stammes Abweichungen beobachten lassen. Es scheint, daß gerade dieses Merkmal besonders leicht und rasch durch Umweltsverhältnisse verändert werden kann. Unsere Befunde ließen zwischen den einzelnen Arten keine so großen Unterschiede erkennen wie nach den Angaben von O r l a - J e n s e n zu erwarten gewesen wäre.

Sehr wertvolle Resultate vermittelt die Prüfung der Milchsäurebakterien auf ihr Wachstum in sterilisierter Magermilch und der dadurch bewirkten Veränderungen. Sie gibt einmal Auskunft über die Eignung der Milch als Nährsubstrat für die einzelnen Gattungen

und Arten. Ferner über das Säuerungsvermögen bei verschiedenen Temperaturen und, sofern letztere einen genügenden Bereich umfassen, auch über minimale und maximale Säuerungstemperaturen, welche bei bestimmten Milchsäurebakterien zu den charakteristischsten Merkmalen gehören. Im weiteren gestattet sie einen Einblick in die Säuerungsgeschwindigkeit, welche in der Gerinnungszeit ihren Ausdruck findet und die zugleich ein Maß für die Vitalität eines Stammes darstellt, indem sich eine Schwächung derselben sofort im größeren Zeitaufwand für die Dicklegung oder im gänzlichen Ausbleiben dieser Milchveränderung auswirkt.

Diejenige Eigenschaft, die bei den Milchsäurebakterien wohl den größten Schwankungen unterworfen ist, lernten wir im Kaseinspaltungsvermögen kennen. Schon Orla-Jensen machte auf diese Erscheinung aufmerksam (l. c. p. 36):

"The bacteria have, as mentioned, their own power of gradual adaption to a new nitrogenious food, and great caution should therefore be observed in taking their proteolytic qualities as species character."

Umso erstaunlicher ist es, daß der gleiche Forscher eine derart variierende Eigenschaft als ein Hauptunterscheidungsmerkmal für nahestehende Arten verwendete (Sc. lactis und Sc. faecium, Sc. bovis und Sc. inulinaceus [l. c. p. 107]).

Den psychologischen Leistungen und darunter besonders den Einwirkungen der Milchsäurebakterien auf stickstofffreie Substanzen, in der Hauptsache Kohlehydrate und höhere Alkohole («Zuckerreihe») hat Orla-Jensen für die Klassifikation eine überragende Stellung eingeräumt. Die Tabellen in seinem Standardwerk zeigten aber bereits, daß bei den arttypischen Forderungen an die verschiedenen Gärungsvermögen ein breiter Spielraum gelassen werden muß, indem innerhalb einer Art Stämme auftreten können, welche einen für sie typischen Zucker nicht, dafür eventuell einen oder mehrere andere Substanzen angreifen. Ein und derselbe Stamm kann zu verschiedenen Zeiten, aber sonst unter gleichen Bedingungen untersucht, abweichende Gärungssymbole liefern (fermentative Dissoziation).

Würde das Gärungssymbol einen festen Wert darstellen, so müßte demnach bei jeder Art zwischen mehreren Unterarten unterschieden werden. Nun zeigen aber Untersuchungen über dissoziative Vorgänge in der Zuckerreihe, daß die meisten Symbolglieder einen schwankenden Charakter aufweisen; irgendwelche Artenunterteilung

auf dieser Basis ist demnach nicht statthaft. Berücksichtigt man nur die konstant vergorenen Substanzen, so bleibt wenig oder nichts brauchbares übrig, indem nur einige wenige Glieder, welche zudem für mehrere sonst scharf zu trennende Arten die gleichen sein können, verbleiben.

Wir sind deshalb der Auffassung, daß die Zuckerreihe für die Diagnostik in der Regel nur von zweifelhaftem Werte ist. Auf alle Fälle darf bei deren Verwendung niemals auf das Ergebnis einer einzigen Prüfung abgestellt werden, es müssen vielmehr anläßlich der Weiterzüchtung eines Stammes zu verschiedenen Zeiten die Untersuchungen wiederholt werden, um einen Anhaltspunkt über die Dissoziationsbreite zu erhalten. Dasselbe Verfahren ist ebenfalls für die Festlegung der anderen Eigenschaften zu empfehlen und muß für das Studium scheinbar neuer Arten unbedingt gefordert werden. Nur auf diese Weise wird verhindert, daß längst beschriebene Spezies als «neu entdeckte» unter anderen Namen auftauchen.

Weil die einzelnen Eigenschaften der Bakterien derart großen Schwankungen unterworfen sind, gehen alle Bakteriologen in der Forderung einig, daß sich zwei Organismen, um als selbständige Arten aufgefaßt werden zu können, nicht nur in einer, sondern mehreren Eigenschaften, einem Eigenschaftenkomplex, voneinander unterscheiden müssen.

Zeigen nun die von Orla-Jensen aufgestellten Streptokokkenarten alle einen solchen spezifischen Eigenschaftenkomplex? Für Sc. thermophilus müssen wir diese Frage bejahen, bei Sc. lactis, Sc. faecium und Sc. glycerinaceus aber entschieden verneinen.

Alle unsere thermophilus-Stämme zeigten auf anaeroben Ausstrichen von Peptonschottenagar ein bedeutend besseres Wachstum als in aerober Kultur; ferner zeichneten sie sich aus durch ausgesprochene Thermophilie, langsame oder ausbleibende Reduktion von Lakmus in Milch, hohe maximale Säuerungstemperatur, starke Tendenz zur Bildung von Monstrositäten. Durch diesen Eigenschaftenkomplex haben sie sich von allen anderen Streptokokkenstämmen unterschieden. Bei späteren Wiederholungen der Prüfungen haben sich diese Gegensätze noch schärfer herausgeschält.

Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den übrigen Streptokokken. Morphologische Unterschiede zwischen Sc. lactis und Sc. faecium konnten wir nicht beobachten; ebensowenig zeigten

sich eindeutige Differenzen in den Temperaturansprüchen oder im Wachstum in Milch. Viele der faecium-Stämme wiesen einzig eine etwas erhöhte maximale Säuerungstemperatur auf, dagegen vermochten die Stämme dieser Art, entgegen den Angaben von Orla-Jensen, die Milch in ebenso kurzer Zeit zum Gerinnen zu bringen wie Sc. lactis. Zur Differenzierung verblieben uns also vielfach nur noch die beiden stark variablen Eigenschaften Kaseinabbauvermögen und «Zuckerreihe». Daß dadurch die Bestimmung zu einer spekulativen, subjektiven Einflüssen stark unterworfenen Angelegenheit wurde, war kaum zu verhindern. Da für beide Arten der konstante Teil des Gärungssymbols aus den gleichen Gliedern bestand (siehe auch Anhang Fig. II u. III):

7 8 9 10 12 13 16 18

mußten wir durch Kombinieren des Kaseinabbauvermögens mit den unregelmäßig vergorenen Zuckern die mögliche Artzugehörigkeit ergründen. Die dabei aufgetretene Unsicherheit sei an Hand einiger Beispiele beleuchtet.

Sc. lactis: (siehe Tabelle 2).

Die Stämme Nrn. 1, 10, 11, 12, 13, 14, 17, 34 ließen das Kaseinspaltungsvermögen vermissen, gehören also in dieser Beziehung eher zu Sc. faecium, zeigten aber anderseits das für Sc. lactis typische Gärungssymbol, in welchem Saccharose fehlt, und wurden deshalb zur letzteren Art gerechnet. Die Symbole der Stämme Nrn. 3, 8, 21, 23, 25 sprechen mehr für Sc. faecium, indem Saccharose meistens kräftig angegriffen wurde, sie wurden aber infolge des deutlichen Kaseinabbauvermögens zu Sc. lactis gezählt.

Sc. faecium: (siehe Tabelle 3).

Die Stämme Nrn. 5, 26, 52 würden zufolge ihres ausgeprägten Kaseinspaltungsvermögens eigentlich zu Sc. lactis gehören, anderseits vergärten sie Arabinose und Saccharose derart kräftig, daß wir sie zu Sc. faecium rechnen durften. Auch andere Stämme, welche gemäß ihrem Symbol zweifelsohne zu Sc. faecium gehören, zeigten gewisse proteolytische Fähigkeiten, die uns aber zu wenig ausgeprägt schienen, um eine Einreihung unter Sc. lactis zu rechtfertigen. Nach Sach (60) wären solche Stämme als Sc. lactis-faecium resp. Sc. faecium-lactis zu bezeichnen. Eine solche Benennung von Zwischen- oder Übergangsformen scheint uns nicht zwingender Natur zu sein.

Aus diesen wenigen Beispielen ist ersichtlich, daß die beiden Arten bedeutend mehr gleiche als ungleiche Eigenschaften aufweisen und sich nicht einmal durch ein einziges einigermaßen konstantes Merkmal voneinander unterscheiden. Wir müssen deshalb mit Demeter (l. c.) einiggehen, welcher bei seinen Studien über Sc. lactis und seine Beziehungen zu den Fäkalstreptokokken zum Schlusse kam, daß sich diese beiden Gruppen prinzipiell nicht trennen lassen, und lehnen eine solche, den Gesetzen der botanischen Systematik widersprechende Aufspaltung ab. Der Artbegriff muß unbedingt so weit gefaßt sein, daß dadurch sämtliche Dissoziationsformen einbezogen werden; ist das nicht der Fall, so kann höchstens von Unterarten oder Varietäten gesprochen werden. Das Vorgehen von Orla-Jensen und Hansen (52), solche Varietäten von Sc. lactis mit besonderen Namen zu belegen (Sc. saccharo lactis [vergärt Saccharose], Sc. raffinolactis [vergärt neben Saccharose auch Raffinose]. Sc. amylolactis [säuert außer Saccharose auch Stärke]), muß deshalb abgelehnt werden. In diesem Zusammenhang sei auch auf die Befunde von Storck (64) hingewiesen, wonach eine Überführung von Sc. lactis in Sc. faecium möglich sein soll.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei Sc. glycerinaceus, auf dessen nahe Verwandtschaft mit Sc. faecium schon Orla-Jensen hingewiesen hatte (l. c. p. 62):

"Nos. 1—4 (von Sc. faecium) ferment sorbite, and are thus nearer the species next following, Sc. glycerinaceus."

In unserer Tabelle 3 (Sc. faecium) finden wir Stämme (Nrn. 22, 23, 24, 37, 50, 54, 56), deren Symbole für Sc. glycerinaceus sprechen würden, indem sie Glycerin und Sorbit vergärten. In ihren übrigen Eigenschaften (ausschließlich Diplokokken im Gegensatz zu Sc. glycerinaceus, der auch ausgesprochene Ketten bilden soll; kurze Gerinnungszeit in Milch u. a.) stimmten sie aber mit unseren faecium-Stämmen vollkommen überein, weshalb wir keinen Grund sahen, sie nicht zu dieser Art zu rechnen. Als Sc. glycerinaceus bestimmten wir alle jene faecium-ähnlichen Stämme, die neben der Vergärung von Glycerin und Sorbit entweder deutliche Ketten oder eine längere Gerinnungszeit der Milch zeigten.

Nach unseren Befunden glauben wir, daß Sc. glycerinaceus und Sc. faecium identisch und zugleich mit Sc. lactis

so nahe verwandt sind, daß sie als Varietäten oder Rassen desselben aufzufassen sind. Sc. glycerinaceus als eigene Art anzuerkennen, ließe sich einzig vom praktischen Standpunkte aus rechtfertigen, indem dieser Organismus der Milch einen typischen Fäkalgeruchgeruch verleihen kann und sich nach Untersuchungen von Burri und Elser (l. c. p. 191) als die im Käse die Milchsäurelangstäbchen hemmende Spaltpilzart herausgestellt hat.

Inwieweit Sc. inulinaceus als selbständige Spezies aufzufassen ist, konnten wir nicht beurteilen, indem wir ihn nur dreimal und seinen nächsten Verwandten, den Sc. bovis (ausgesprochener Stärkevergärer, säuert keine Alkohole, baut Kasein ab), überhaupt nie isolieren konnten.

Die Frage, welche der von Orla-Jensen aufgestellten Arten wirklich als solche und nicht nur als verschiedene Varietäten zu gelten haben, kann vieleicht erst durch ausgedehnte serologische Untersuchungen restlos abgeklärt werden.

Der Vollständigkeit halber sei kurz die Auffassung amerikanischer Autoren mitgeteilt. Nach Bergey's bakteriologischer Diagnostik, die auch bei uns Verbreitung gefunden hat, würden sich die aus den Kälberlabmagen isolierten Streptokokken in folgende Arten unterbringen lassen:

Sc. thermophilus Orla-Jensen = gleiche Benennung,

Sc. lactis Orla-Jensen = Sc. lactis (Lister) Löhnis,

Sc. faecium und Sc. glycerinaceus werden unter der Bezeichnung Sc. faecalis Andrewes et Horder in eine Art zusammengefaßt,

Von Sc. inulinaceus Orla-Jensen werden gewisse Stämme als mit Sc. bovis Orla-Jensen, andere als mit Sc. salivarius Andrewes et Horder identisch angesehen.

C. Die Thermobakterien

Die Gattung Thermobacterium Orla-Jensen umfaßt stäbchenförmige Milchsäurebakterien ohne Katalase, Nitratreduktion und Oberflächenwachstum, die außer Milchsäure nur eine Spur anderer Stoffwechselprodukte aus «Zuckern» bilden. Sie erzeugen

laevo- oder inaktive Milchsäure. Tbm.*) cereale ausgenommen, spalten sie kräftig Kasein und gedeihen gut in Hefeextrakt. Sie vergären nie Pentosen und häufig auch Salicin nicht. Es sind Langstäbchen, welche einerseits bei 50 ° oder mehr, aber anderseits nicht unterhalb 22 ° gedeihen.

Innerhalb dieser Gattung unterscheidet Orla-Jensen (l. c. p. 106) 5 Arten, die folgende Hauptunterscheidungsmerkmale aufweisen:

Tbm. helveticum:	i-Milchsäure. Vergärt Maltose, aber nicht Saccharose. Kann in Milch über 2,7 % Milchsäure bilden.
Tbm. Jugurt:	i-Milchsäure. Vergärt weder Saccharose noch Maltose. Ist im Stande, in Milch mehr als 2,7 % Milchsäure zu bilden.
Tbm. bulgaricum:	l-Milchsäure. Vergärt weder Saccharose noch Maltose. Bildet in Milch höchstens 1,7 % Milchsäure.
Tbm. lactis:	l-Milchsäure. Vergärt sowohl Saccharose als auch Maltose. Bildet in Milch höchstens 1,7 % Milchsäure.
Tbm. cereale:	l-Milchsäure. Vergärt in der Regel Saccharose und Maltose. Bringt Milch nicht zum Gerinnen.

Anläßlich unserer Untersuchungen haben wir insgesamt 129 Milchsäurelangstäbchen isoliert, die sich als Thermobakterien erwiesen. Zur Bestimmung der Art wurden sie zu wiederholten Malen auf folgende Eigenschaften geprüft:

die Kolonieform,
das mikroskopische Aussehen,
die Optimaltemperatur,
das Wachstum in Milch und deren Veränderung,
die «Zuckerreihe»,
die Volutinbildung.

Die zu beschreibenden 129 Stämme von Thermobakterien verteilen sich zahlenmäßig auf die einzelnen Arten wie folgt:

Tbm. helveticum	71 Stämme
Tbm. lactis	58 Stämme

* Abkürzung für Thermobacterium.

a) Thermobacterium helveticum Orla-Jensen

Synonyme: Bacillus ε v. Freudenreich,
Bacillus casei ε v. Freudenreich,
Bacterium casei ε v. Freudenreich,
Caseobacterium ε Orla-Jensen,
Lactobacillus helveticus (Orla-Jensen) Holland.

In seinem Bestimmungsschlüssel für die Milchsäurebakterien führt Orla-Jensen für Tbm. helveticum als typisch auf: die Bildung von i-Milchsäure; Vergärung von Maltose, dagegen nicht von Saccharose; Produktion von über 2,7 % Milchsäure in Milch.

Die 71 in der Tabelle 6 zusammengefaßten Stämme glaubten wir zu Tbm. helveticum rechnen zu müssen.

Wie im Abschnitt über die Streptokokken bereits erwähnt, bedienten wir uns zur Bestimmung der Kolonieform und des mikroskopischen Aussehens der aeroben und anaeroben Ausstrichkulturen nach Burri auf gewöhnlichem Nähragar und Peptonschottenagar. Da die mikroskopische Prüfung der Kolonien ab Nähragar bei den ersten Untersuchungen zeigte, daß auf diesem Nährboden die Tendenz der Thermobakterien (auch von Tbm. lactis) zur Bildung von Monstrositäten groß war, wurde derselbe in der Folge für diese Gattung nicht mehr verwendet, sodaß sich unsere Beschreibungen ausschließlich auf Peptonschottenagar beziehen.

Als kulturelles Merkmal entwickelten sich vorherrschend flache Kolonien mit kürzeren oder längeren Ausläufern, daneben solche von grob oder fein kristallinischer Struktur. Burri und Kollmann (l. c.) bezeichneten den grob kristallinischen Typ als charakteristisch für Tbm. helveticum, Züchtung auf anaerober Peptonschottenagar-Ausstrichkultur vorausgesetzt. Nur 11 unserer 71 Stämme zeigten auf den aeroben Kulturen Wachstum, das aber nur kümmerlich war, während unter anaeroben Verhältnissen in allen Fällen eine kräftige Entwicklung einsetzte.

Im mikroskopischen Präparat erschienen in der Regel gerade Stäbchen von beachtlicher Dicke und Länge, wobei allerdings letztere eine sehr große Streuung erkennen ließ, indem neben eher kurzen bis 14 μ lange Zellen anzutreffen waren. Dabei wies ein und dieselbe Kolonie nur kurze oder lange Formen auf, häufig aber auch Stäbchen verschiedenster Dimensionen. Gebogene Zellen waren die Ausnahme. Beinahe konstant erschien uns indessen eine Eigenschaft, auf die auch Burri und Kollmann (l. c. p. 411) aufmerksam

Tabelle 6

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Stunden	Volutinbildung *	Gärungssymbol
1	37—42	2,46	36	++	**7** 8 **9** 10 (12) **13** (14) **16**
2	37	2,04	24	—	**7** 8 **9** **10** (11) **12** **13**
3	37	2,14	24	—	**7** 8 **9** **10** (11) **12** **13** (16)
4	42	1,98	36	+	(6) 7 8 **9** **10** **12** **13** 14 16
5	42	2,24	48	++	8 9 **10** 12 **13** (16)
6	37	2,86	24	—	*(3)* **7** 8 **9** **10** (11) **13** (14)
7	37	3,01	24	+	**7** 8 **9** **10** **12** **13** **16**
8	37	2,55	48	+	**7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** **16**
9	37	1,65	48	—	**7** 8 **9** **10** **12** **13** 16
10	37—42	1,87	36	—	**7** 8 **9** 10 **12** **13** (16)
11	37—42	2,23	24	++	(2) **7** 8 **9** **10** (11) **12** **13** **16**
12	37	2,00	48	—	8 **9** **10** **12** **13** 16
13	42	1,75	48	+	8 **9** 10 12 **13** 16
14	42	1,92	36	+	**7** 8 **9** 10 **13**
15	37	2,15	24	—	**7** 8 **9** (10) (12) **13** (16)
16	37	1,87	24	—	8 **9** 10 12 **13**
17	37	2,71	24	++	**7** 8 **9** 10 (11) 12 **13**
18	42	2,51	24	++	(4) (6) 8 **9** **10** (11) 12 **13** (16)
19	37—42	2,42	36	—	(2) (3) (4) (5) (6) 7 8 **9** **10** 11 (12) **13**
20	42	2,01	48	—	**7** 8 **9** **10** (11) (12) **13** (15)
21	37	1,87	48	—	(4) (5) (6) (7) 8 **9** **10** **12** **13**
22	37	2,44	24	+	(4) (5) (6) 7 8 **9** **10** **13** 16 (17)
23	37	2,23	36	+	8 **9** 10 (11) **12** **13** (15) 16
24	42	2,61	36	—	(5) (6) 7 8 **9** 10 **13** 14 (17)
25	37	2,11	48	+	**7** 8 **9** **10** **12** **13** 16
26	37—42	2,90	36	++	**7** 8 **9** **10** **12** **13** (16)
27	37	1,74	24	++	(2) (3) 7 8 **9** **10** **12** **13** 16

30	42	2,00	48	—
31	42	2,46	48	+
32	37	1,89	36	—
33	42	1,74	36	—
34	42	2,71	24	—
35	37—42	2,21	48	+
36	37—42	2,80	36	+
37	37	3,10	24	+
38	37—42	2,52	36	—
39	37—42	2,71	36	—
40	37	2,68	36	—
41	37	2,01	36	+
42	37	2,83	60	++
43	37	2,33	24	++
44	42	1,96	48	—
45	42	1,84	48	+
46	37	1,65	24	++
47	37	2,80	36	+
48	37	2,12	24	+
49	42	2,32	24	—
50	42	2,76	36	—
51	37—42	2,80	48	++
52	37	2,32	48	—
53	37	2,66	48	—
54	37	2,02	36	+
55	42	2,10	36	+
56	42	2,54	48	++
57	42	2,91	24	++

* ++ = kräftig
+ = schwach
— = fehlt

7 8 **9** **10** (11) (12) **13** 16
(5) (6) 7 8 **9** **10** 11 **12** **13** 16
8 **9** **10** **12** **13**
8 **9** **10** **12** **13** (16)
7 8 **9** **10** (11) **12** **13** (15) 16
(2) (3) (5) 6 7 8 **9** **10** **12** **13** (14) 16
3 7 8 **9** **10** 12 **13** 16
(4) 5 6 7 8 **9** **10** 11 12 **13** 16 (17)
(3) (5) 7 8 **9** **10** 12 **13** (15) 16
(5) (6) 7 8 **9** **10** **12** **13** 16
(2) (5) (6) 7 8 **9** **10** **13** (16) (17)
(3) 7 8 **9** **10** (11) **12** **13** (14)
(4) (5) (7) 8 **9** 10 **13** (15)
(3) (4) (5) 6 7 8 **9** **10** **12** **13** 16
5 6 7 8 **9** 10 (11) 12 **13** 16 (18)
7 8 **9** 10 (12) **13** (14) 16
(6) 7 8 **9** 10 **12** **13** 16
8 **9** **10** 12 **13** (16)
7 8 **9** 10 12 **13** 16
8 9 12 **13**
(3) (5) (6) 7 8 **9** **10** **12** **13** 16
(3) (5) (6) 7 8 **9** **10** **12** **13** 16
7 8 **9** 10 (12) **13** (16)
(4) 7 8 **9** **12** **13** (17)
(2) (7) 8 **9** 10 **12** **13** (14) (16)
3 (5) (6) 7 8 **9** **10** **12** **13** 16
8 9 10 12 **13** (16)
(5) (6) 7 8 **9** **10** **12** **13** (15)

Fortsetzung von Tabelle 6

58	37—42	2,85	48	—							8	**9**	10		**12**	**13**		(15)	16	(17)
59	37—42	2,74	48	+							8	**9**	(10)			**13**	(14)		16	(17)
60	37—42	2,40	36	—		(3)		(5)	(6)	**7**	**8**	**9**	**10**	(11)	**12**	**13**				
61	37	2,05	24	—				(5)	(6)	**7**	**8**	**9**	**10**		**12**	**13**			(16)	
62	42	2,45	16	—				(5)		7	**8**	**9**	**10**		12	**13**		(15)	16	
63	37	2,16	18	+						**7**	8	**9**	**10**		**12**	**13**		(15)		
64	37	2,10	24	+		(3)				**7**	8	**9**	10	(11)	**12**	**13**			16	
65	37	2,74	48	+						**7**	8	**9**	**10**			**13**		(15)		
66	42	2,53	48	—						7	8	**9**	10		12	**13**			(16)	
67	42	2,21	48	+				(5)	(6)	7	8	**9**	10		12	**13**			16	
68	37	1,84	18	—		(2)	(4)			**7**	8	**9**	**10**		12	**13**	(14)		(16)	
69	37—42	1,72	36	—					(6)	7	8	**9**	**10**	(11)	**12**	**13**				
70	37—42	2,13	36	+			(3)			7	8	**9**	**10**		**12**	**13**			16	
71	37	1,94	48	+			(3)				8	**9**	10			**13**			16	

gemacht haben, nämlich das kräftige Lichtbrechungsvermögen der Zellen. In der Dicke der Zellen konnten wir dagegen größere Abweichungen wahrnehmen als diese beiden Forscher, so zeigten sich hin und wieder auch ausgesprochen schlanke Stäbchen. Die Individuen traten gewöhnlich einzeln, seltener zu zweien oder gar in Ketten auf.

Als optimale Temperaturen stellten sich 37 und 42 ° heraus.

Die Säurebildung in Milch war zum Teil eine respektable. Sie erreichte bei unserem Stamm Nr. 37 mit 3,1 % das Maximum und die höchste Säuremenge überhaupt, die wir je bei unseren Milchsäurebakterien feststellen konnten. Anderseits haben viele unserer Stämme im Momente der ersten Prüfung, deren Ergebnisse in der Tabelle aufgeführt sind, etwas weniger als 2 % Milchsäure gebildet. Da sie aber in ihren übrigen Eigenschaften typische Vertreter der Gattung Thermobacterium waren und viele von ihnen nach wiederholter Überimpfung an Säuerungsintensität gewannen, zögerten wir nicht, sie als Tbm. helveticum anzusprechen. Der maximale Säuregrad wurde immer etwas unterhalb der Optimaltemperatur erreicht, sehr häufig sogar bei 30 °. Bei 48 ° zeigten nurmehr 7 Stämme eine geringe Säureproduktion in Milch. Diese Tatsache erscheint uns, wie weiter unten klarer ersichtlich wird, für die Differenzierung zwischen Tbm. helveticum und Tbm. lactis von größter Bedeutung. Erwähnenswert ist, daß entgegen den Angaben von Orla-Jensen viele Stämme auch bei 18—20 ° C. noch Wachstum zeigten.

Nach Orla-Jensen sollte Tbm. helveticum Maltose (12), dagegen nicht Saccharose (11) vergären. Gemäß Tabelle XXVIII seines Standardwerkes wäre bei Nichtberücksichtigung der Gärungsintensität das typische Symbol ungefähr folgendes:

7 8 9 10 12 13 16

Vergleichen wir damit die entsprechende Kolonne unserer Tabelle 6 und die Fig. V des Anhanges, so finden wir, daß die meisten Stämme, abgesehen von kleineren Abweichungen, dasselbe Symbol aufweisen. Anderseits lassen einige Stämme 7 (Fructose), 10 (Galactose), 12 (Maltose) und 16 (Dextrin) entweder einzeln oder in der Mehrzahl vermissen; dafür wurden teilweise die Pentosen 2 und 3 (Xylose und Arabinose), welche von den Thermobakterien nie angegriffen werden sollten, 4 (Rhamnose), 5 (Sorbit), 6 (Mannit), 11

(Saccharose), 14 (Raffinose), 15 (Inulin), 17 (Stärke) und 18 (Salicin) wenn auch nur schwach, so doch deutlich vergoren. Als konstante Symbolglieder erwiesen sich nach unseren Untersuchungen einzig 8 (Glucose), 9 (Mannose) und 13 (Lactose). Überhaupt nie gesäuert wurde allein 1 (Glycerin).

Von den nach Orla-Jensen zu vergärenden Substanzen wurden die einzelnen von unseren Stämmen mit folgender Häufigkeit in % angegriffen:

7	80 %
8	100 %
9	100 %
10	96 %
12	88 %
13	100 %
16	74 %

Diese Zahlen zeigen, daß die Abweichungen relativ bescheiden sind. Dennoch sprechen wir aus Gründen, welche in Anschluß an die nächstfolgende Art, Tbm. lactis, erwähnt werden sollen, dem Gärungssymbol jeglichen Wert für die Diagnostik ab.

Die Volutinbildung war bei 14 Stämmen kräftig, bei den restlichen schwach bis ganz fehlend.

b) Thermobacterium lactis Orla-Jensen
(Tabelle 7)

Synonyme: Gewisse Stämme von Bacterium casei ε v. Freudenreich,
Bacillus lactis acidi Leichmann,
Lactobacillus lactis acidi Holland,
Lactobacillus lactis (Orla-Jensen) Holland.

Tbm. lactis wurde von Orla-Jensen neben dem Tbm. helveticum aus der von Freudenreich'schen Spezies Bacterium casei ε abgespalten. Zum Unterschied zu Tbm. helveticum kommen ihm folgende hauptsächlichsten Eigenschaften zu: Bildung von l-Milchsäure, Vergärung sowohl von Maltose als auch von Saccharose, Bildung von höchstens 1,7 % Milchsäure in Milch.

Beim Studium des kulturellen Bildes fiel uns unangenehm auf, daß bei diesem Organismus nicht von einem Kolonietyp gesprochen werden kann, weil die verschiedensten voneinander vollständig abweichenden Formen anzutreffen waren. Es erschien somit zum vorn-

herein ausgeschlossen, die mikroskopische Morphologie zu diagnostischen Zwecken zu verwenden. Kleine und große, fein und grob kristalline Kolonien mit und ohne Randwulst, mit und ohne Ausläufer, hautartige, durchsichtige neben erhabenen, opaken; mehr oder weniger runde und deutlich gelappte Kolonien traten beim Tbm. lactis in Erscheinung. Aus dieser durch Dissoziationsvorgänge erklärlichen Vielgestaltigkeit haben Burri und Kollmann (l. c. p. 415) eine für Tbm. lactis als typisch anzusehende Form herausgeschält: «mittelgroße, hautartige, dünne, kreisrunde Scheiben, im durchfallenden Lichte von graugrünlicher Farbe und fein kristallinischer, sandiger Struktur». Auch bei unseren Stämmen haben wir dieses Bild häufig angetroffen, dagegen traten in den meisten Fällen andere Kolonieformen auf, sodaß es nur nach ausgedehnten Spezialstudien eventuell möglich sein dürfte, das kulturelle Merkmal zu diagnostischen Zwecken zu verwenden.

Ähnliche Variationen waren im mikroskopischen Aussehen zu beobachten. Kurze und lange, gerade und gebogene, dicke und dünne Zellen wechselten ab. Im allgemeinen zeigten unsere lactis-Stämme jedoch dünnere Zellen als Tbm. helveticum und von schwächerem Lichtbrechungsvermögen, ebenso waren die gekrümmten Formen überwiegend. Diese Abweichungen gestalten die Verwendung des mikroskopischen Bildes als diagnostisches Merkmal umso schwieriger, als die Zellform nicht streng an einen bestimmten Kolonietyp gebunden zu sein scheint. Zwar trat das charakteristische Bild, d. h. gebogene, dünne, schwach lichtbrechende Zellen besonders bei Präparaten aus «sandigen» Kolonien zu Tage; anderseits fanden wir auch gerade hier Individuen, welche mindestens so gerade und dick waren wie bei Tbm. helveticum. Aus dem Gesagten erhellt, daß die mikroskopische Morphologie für die Diagnostik nur von bedingtem Werte ist.

Die Optimaltemperaturen der lactis-Stämme bewegten sich im selben Rahmen wie bei Tbm. helveticum.

Wie schon Orla-Jensen betonte, kommt Tbm. lactis in seinem Säuerungsvermögen in Milch nicht an Tbm. helveticum heran. Von unseren 58 Stämmen erreichte einzig Nr. 12 die 2%-Grenze, während eine ganze Reihe unter 1% blieb und auch nach längerer Züchtung bei wöchentlicher Weiterimpfung in Milch nie über 1.5% Milchsäure zu bilden vermochte. Anderseits produzierte unser Stamm Nr. 12 nur unmittelbar nach seiner Isolierung 2.1%

Tabelle 7

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Stunden	Volutinbildung	Gärungssymbol
1	37—42	0,98	48	+ +	**5 6** 7 8 **9** 10 **12 13** (14) **16 18**
2	42	1,00	48	+	(7) 8 **9 10** 11 **12 13 14 16 18**
3	42	1,37	36	+ +	(5) 6 7 8 9 (10) 11 12 **13** (14) 16 18
4	37	1,03	48	—	(1) (5) **6** 7 8 **9** 10 **11 12 13** 18
5	37	0,87	24	+	**5 6 7** 8 **9 10 11 12 13** 14 16 **18**
6	37	0,96	24	+	(4) (5) 6 **7** 8 **9 10 13 14** (15) 16 18
7	42	1,43	12	+ +	(6) 7 8 **9 10 13** 16 (17)
8	37	1,26	16	+ +	**7** 8 **9 11 12 13** 16
9	37	1,15	24	+ +	(3) (5) (6) 8 **9 10** (11) **13** 16 (18)
10	37—42	0,83	24	+	**7** 8 **9** 10 11 12 **13** (15) 16
11	37—42	1,50	16	+	5 **6 7** 8 **9 10** 11 **13** 16 (17)
12	37—42	2,10	24	—	**7** 8 **9 10 11 12 13** 14 (16) **18**
13	42	1,02	12	—	6 7 8 **9** (10) **12 13** (16) (18)
14	42	1,72	12	+ +	(4) (5) 6 **7** 8 **9** 10 11 **12 13** 14 (16)
15	37	1,43	24	+ +	**7** 8 **9** 10 12 **13** (18)
16	42	0,99	16	+	**7** 8 **9** 10 11 **12 13** (14) 16
17	37	1,23	12	—	8 **9 10 11 12 13** (15) (16)
18	37	1,33	12	—	**7** 8 **9 10 11 12 13** (14) (16)
19	37—42	1,26	18	+ +	(1) **7** 8 **9 10** **12 13** (15) 16
20	42	0,87	24	+ +	(5) (6) (7) 8 **9** 10 11 **13** 16 **18**
21	37—42	1,06	24	+ +	**7** 8 **9** 10 11 12 **13** (18)
22	37—42	1,14	16	+ +	(2) (3) **7** 8 **9 10 11 12 13** (14) (16) (17)
23	37—42	1,73	14	+ +	**7** 8 **9 10 11** 12 **13 14** (16) (17)
24	37—42	1,64	14	+	(5) 6 (7) 8 **9 10** 11 **12 13** 16
25	42	0,80	36	+ +	(4) (5) (6) 7 8 **9** **11 12 13** (16) (18)
26	37	0,95	48	—	**7** 8 **9** (10) 11 **13** (17)
27	37—42	1,29	16	—	(5) 6 **7** 8 **9** 10 **11 12 13 14** (16) **18**

30	37—42	1,33	18	—
31	42	1,20	16	++
32	37—42	1,00	14	++
33	37	1,23	36	+
34	37	1,12	24	—
35	37	1.94	24	++
36	42	0,68	24	++
37	42	1,36	36	++
38	42	1,21	48	++
39	42	0,84	24	—
40	37	0,86	24	+
41	42	1,34	36	+
42	37—42	1,62	12	++
43	37—42	1,51	16	++
44	37	1,40	48	—
45	37—42	1,13	14	—
46	37—42	1,07	12	+
47	37—42	1,12	12	++
48	42	0,98	48	++
49	42	0,76	24	+
50	37—42	0,84	16	++
51	37	1.35	36	—
52	42	1,26	36	—
53	37	1,13	48	+
54	37—42	1,45	12	++
55	37	0,99	48	++
56	37	1,54	36	+
57	42	1,13	36	++
58	42	1 66	24	++

(5) **6** **7** **8** **9** 10 12 **13** (14) (17)
7 **8** **9** 10 **11** **12** **13** **14** **16** 18
5 6 **7** **8** **9** 10 11 **13** **14** (16) (17)
verunglückt
(3) (4) (5) 6 **7** **8** **9** **10** 11 **12** **13** 16
7 8 **9** 10 **11** **12** **13** 16 (18)
(6) (7) 8 **9** 10 (11) 12 **13** (16)
5 **6** **7** **8** **9** **10** 11 **12** **13** 14 (16) (17) (18)
(6) **7** **8** **9** **10** 11 **12** **13** (14) (16)
7 8 **9** 10 **11** **12** **13** 16
7 8 **9** 10 **11** (12) **13** (16) (18)
8 **9** (10) 11 **13** 14 (16) (17) (18)
(5) **6** **7** **8** **9** **10** **12** **13** **16** (17)
(3) (4) **5** **6** 7 8 **9** 10 **11** **12** **13** 16 18
(7) 8 **9** **10** (11) **12** **13** (14) (16) (17)
7 8 **9** 10 **12** **13** 16 (17) (18)
6 **7** 8 **9** (10) 11 **12** **13** 14 (16)
(1) (5) (6) 7 8 **9** **10** **13**
(4) (6) **7** **8** **9** **10** **11** **13** 14 16 (18)
5 6 7 8 **9** **10** **11** **12** **13** 16 (17) 18
7 8 **9** 10 11 **12** **13** (16)
8 **9** 10 (11) **13** (16)
5 **6** **7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** **14** (15) 16 (17) 18
7 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 16 (17) 18
(5) 6 7 8 **9** **10** 11 **12** **13** 16
7 8 **9** **10** **13** (14)
7 8 **9** **10** (11) 12 **13** 14 16
7 8 **9** (10) **11** **12** **13** 16 (17)
(3) (5) (6) 7 8 **9** **10** 11 **12** **13** 14 16 (17) (18)

Säure, bei späteren Prüfungen kam er nie mehr über 1,6 % hinaus, sodaß wir ihn auf Grund dieser Eigenschaft neben anderen, welche eher für T b m. l a c t i s sprachen, wie die maximale Säuerungstemperatur, zu dieser Art rechneten. Gestützt auf die Ergebnisse unserer Untersuchungen, halten wir das Säuerungsvermögen in Milch, im Verlaufe der Weiterzüchtung wiederholt bestimmt, als eines der Hauptdifferenzierungsmerkmale von T b m. h e l v e t i c u m und T b m. l a c t i s.

Die bei den Temperaturen von 30, 37, 42, 45 und 48 ° aufgestellten Milchproben zeigten nur in zwei Fällen beim höchsten geprüften Wärmegrad keine Gerinnung. Die bei 48 ° gebildete Milchsäuremenge war häufig noch eine beträchtliche, im Maximum 1.2 %. Die beschränkte Anzahl der zur Verfügung stehenden Thermostaten erlaubte leider nicht, die maximalen Säuerungstemperaturen zu bestimmen. Immerhin zeigen schon diese Befunde einen deutlichen Unterschied zu unseren Stämmen von T b m. h e l v e t i c u m, von denen ja nur 7 bei dieser Temperatur die Milch noch schwach zu säuern vermochten. Auf Grund dieser Resultate dürfen wir behaupten, daß die Bestimmung der maximalen Säuerungstemperatur oder der Maximaltemperatur für die Diagnostik von hohem Werte ist. Die Ermittlungen unserer Untersuchungen stehen denjenigen von O r l a - J e n s e n und den Angaben in B e r g e y's Diagnostik gegenüber, welche beide eine Maximaltemperatur von 50 ° sowohl für T b m. h e l v e t i c u m als auch für T b m. l a c t i s anführen. Auch bei dieser Art trat bei Zimmertemperatur relativ häufig Wachstum auf.

Auch die Geschwindigkeit, mit welcher die Milch dickgelegt wird, schien uns bei den zwei Arten verschieden zu sein. Interessant war dabei, daß die bedeutend weniger Säure produzierenden Stämme von T b m. l a c t i s die Magermilch in der Regel in 24 Stunden oder früher zum Gerinnen brachten, während die kräftiger säuernden h e l v e t i c u m - Stämme dazu mindestens einen Tag, aber gewöhnlich länger brauchten. Diese Fähigkeit in Verbindung mit der nicht unwesentlich höheren maximalen Säuerungstemperatur dürfte für die Beurteilung von T b m. l a c t i s bei den Vorgängen im Emmentalerkäse unter der Presse nicht ohne Bedeutung sein. Immerhin möchten wir diesem Unterschiede in der Säuerungsgeschwindigkeit für die Diagnostik keinen allzu großen Wert beimessen, da sich die beiden Arten in dieser Eigenschaft überschneiden.

Nach der großen Unausgeglichenheit unserer l a c t i s - Stämme

in morphologischer Hinsicht waren wir auf die Resultate der «Zukkerreihe» gespannt. Schon bei Arten mit relativ großer Konstanz im kulturellen und mikroskopischen Bilde hatten sich bei dieser Eigenschaft bedeutende Streuungen gezeigt; war deshalb bei T b m. l a c t i s nicht ein noch uneinheitlicherer Ausfall dieser Prüfung zu erwarten? Diese Vermutung wurde durch die Tatsache noch gestützt, daß O r l a - J e n s e n für seine 6 in der Tabelle XXVIII seines schon öfters zitierten Werkes aufgeführten l a c t i s - Stämme (Nrn. 6—11) nicht weniger als 5 verschiedene Gärungssymbole fand. Zieht man daraus als «arithmetisches» Mittel ein für diese Spezies «allgemein gültiges» Symbol, so würde sich ungefähr folgendes ergeben:

7 8 9 10 11 12 13 14 16 18.

Wollen wir unsere Befunde damit vergleichen, so müssen wir uns bewußt sein, daß dies nur bedingt statthaft ist, indem die von uns verwendete Stickstoffquelle Wittepepton, Kaseinpepton und Hefeautolysat enthielt, während O r l a - J e n s e n mit Nährflüssigkeiten arbeitete, welche als Stickstoffquellen die eine oder die andere Substanz einzeln enthielten.

Von unseren 58 Stämmen zeigten nur 5, abgesehen von unbedeutenden Abweichungen, dieses Symbol, nämlich die Nrn. 2, 3, 12, 31 und 56. Die Übereinstimmung hätte also nicht ungünstiger ausfallen können. Am auffallendsten ist, daß von O r l a - J e n s e n s l a c t i s - Stämmen ein einziger (Nr. 6 mit Hefextrakt als Stickstoffquelle) Alkohole, im vorliegenden Falle Mannit, angriff, während von den unserigen beinahe die Hälfte Sorbit und Mannit, entweder einzeln, häufiger aber beide zusammen, gesäuert hatten. (Vergl. auch Fig. VI.) Zu ähnlichen Ergebnissen kamen K a r n i c k i und D o r n e r (l. c. p. 1088), sowie B u r r i und K o l l m a n n (l. c. p. 420), wobei die von den beiden erstgenannten Autoren geprüften Stämme diese zwei Alkohole allerdings immer nur in geringem Maße vergoren haben. Wir müßten demnach bei unseren Stämmen zwischen zwei verschiedenen Gärungssymbolen unterscheiden, ohne daß wir dabei nur die leiseste Absicht hätten, deswegen neue Arten aufzustellen. In unserer Schreibweise würden sich die folgenden Gliederreihen ergeben:

7 8 9 10 11 12 13 16 und
5 6 7 8 9 10 11 12 13 16

Dabei kamen innerhalb der einzelnen Symbole wiederum die

verschiedensten Abweichungen vor, indem öfters noch weitere Substanzen vergoren wurden, bisweilen fielen auch einzelne oder mehrere Glieder aus. Auf eine weitere Unterteilung in Unterarten muß trotzdem, vielmehr gerade deshalb verzichtet werden, da man dadurch ins Uferlose geraten würde. Wir werden später noch einmal auf diese Verhältnisse zurückkommen, weil sie im Hinblick auf die bakterielle Dissoziation von Interesse sind. Als für die Diagnostik zu verwendendes Merkmal möchten wir hingegen die «Zuckerreihe» bei T b m. l a c t i s an letzter Stelle aller in Betracht faliender Eigenschaften anführen.

Die Volutinbildung war bei T b m. l a c t i s bedeutend ausgeprägter als bei T b m. h e l v e t i c u m; sie war aber auch hier mit irgend einer anderen Eigenschaft nicht in Zusammenhang zu bringen.

c) B e t r a c h t u n g e n z u r G a t t u n g T h e r m o b a c t e r i u m Orla-Jensen

Die Gattungsbezeichnung T h e r m o b a c t e r i u m scheint uns für diese thermophilen, nicht sporenbildenden Stäbchen zutreffend, sofern man die frühere Gattung B a c t e r i u m überhaupt aufteilen und eine charakteristische Eigenschaft (im vorliegenden Falle die Thermophilie) nicht nur in den Artbezeichnungen zum Ausdruck bringen will, was nach unserer Ansicht im Interesse einer wissenschaftlich einwandfreien und zudem einfacheren Systematik unbedingt von Vorteil wäre.

Unsere 129 thermophilen Stäbchen konnten wir, ohne daß die Bestimmung der Gärungssymbole nötig gewesen wäre, in zwei sich deutlich voneinander unterscheidende Arten aufteilen. Die Wertigkeit der einzelnen Eigenschaften erwies sich dabei für die Diagnostik als verschieden.

Die morphologischen Merkmale sind teilweise sehr wohl zu diagnostischen Zwecken verwertbar, sofern Kolonien oder Zellen in typischer Form vorliegen. Ihre Verwendbarkeit hängt aber in höchstem Maße von der Übung und Erfahrung des Untersuchenden ab. Bei der Bestimmung unserer Stämme konnten wir nur in wenigen Fällen einzig an Hand der morphologischen Merkmale eine einigermaßen sichere Diagnose vornehmen, es muß aber bemerkt werden, daß wir ihnen eben nicht die höchst mögliche Beachtung schenkten.

Nach unseren Befunden zeigten sowohl helveticum- wie lactis-Stämme eine Optimaltemperatur von 37—42 °, was eine Benützung dieses Charakteristikums zu diagnostischen Zwecken ausschließt.

In ihrem Verhalten in Milch ließen sich zwischen den beiden Arten zum Teil wesentliche Unterschiede feststellen. Während alle unsere lactis-Stämme in Milch nie über 1,8 % Milchsäure zu bilden vermochten, zeigten die helveticum-Stämme einen entsprechenden Wert von immer über 1,8 %, in der Regel von über 2 %. Die letztere Menge wurde allerdings sehr häufig erst einige Zeit nach der Isolierung erreicht. Wir möchten deshalb erneut auf die Forderung hinweisen, daß Untersuchungsbefunde zu Bestimmungszwecken durch Wiederholungen sichergestellt sein müssen. Die erzeugte maximale Säuremenge bei 30 und 37 ° ist demzufolge ein Kennzeichen für die zwei Spezies von hohem diagnostischem Werte. Bei der Besprechung der beiden Arten haben wir ferner darauf hingewiesen, daß bezüglich der maximalen Säuerungstemperaturen zwischen Tbm. helveticum und Tbm. lactis deutliche Unterschiede bestehen. Die Bestimmung dieser maximalen Säuerungstemperaturen, also der höchsten Wärmegrade, bei welchen die Milch noch gesäuert werden kann, oder auch der Maximaltemperatur, d. h. der höchsten Temperatur, welche in einem günstigen Nährsubstrate (Peptonschotte) gerade noch eine Vermehrung gestattet, ist demnach für diagnostische Zwecke sehr wertvoll. Für Bestimmungszwecke ungeeignet scheint uns dagegen die Verwendung der Säuerungsgeschwindigkenit (Gerinnungszeit), da sich frisch isolierte Stämme der beiden Arten in dieser Eigenschaft überdecken können; dagegen kann dieses Merkmal nach den Befunden von Karnicki und Dorner (l. c. p. 1088) bei an die Emmentalerkäserei angepaßten Organismen für diese beiden Arten deutlich verschieden sein und wird deshalb dort für die Diagnostik Bedeutung besitzen.

Die Volutinbildung ist nach unseren Befunden weder für die eine noch die andere Art ein typisches Kennzeichen, obwohl sie bei Tbm. lactis bedeutend häufiger zu beobachten war als bei den helveticum-Stämmen, denn sie kann bei einzelnen Stämmen sowohl der einen als auch der anderen Art fehlend bis kräftig sein.

An Hand der bis jetzt diskutierten Eigenschaften war es uns gelungen, die isolierten Thermobakterien in die beiden Arten Tbm.

helveticum und Tbm. lactis zu trennen. Die Zuckerreihe sollte also die getroffene Bestimmung bestätigen oder in Zweifel stellen. Beides war der Fall, indem eine Art einerseits Stämme umfaßte, welche das typische Symbol lieferten, anderseits aber auch solche, die ein für die andere Spezies charakteristisches Gärungssymbol aufwiesen. Bei der Besprechung der Dissoziationsvorgänge bei Tbm. helveticum und Tbm. lactis werden wir hierüber nähere Angaben machen.

Neben diesen beiden Arten von Thermobakterien unterscheidet nun aber Orla-Jensen noch drei weitere. Tbm. Jugurt, welches dem Tbm. helveticum nahesteht und sich von diesem im fehlenden Gärungsvermögen für Maltose, im bedeutend schlechteren Wachstum in künstlichen Nährsubstraten und der Kolonieform unterscheiden soll. Unsere Stämme Nrn. 14, 22, 24, 40, 42, 59, 65 und 71 von Tbm. helveticum (Tabelle 7), welche alle weder Saccharose noch Maltose vergoren haben, könnten also zu dieser Art gerechnet werden. Daß Orla-Jensens Stamm Nr. 13 (Originalarbeit, Tabelle XXVIII), der aus bulgarischem Joghurt isoliert worden war, auf künstlichen Nährsubstraten sehr schlecht gedieh, ließe sich damit erklären, daß es sich dabei um eine ausgesprochene Standortsvarietät handelte. Der spezielle Kolonietyp scheint uns nicht von großer Bedeutung zu sein, denn erstens läßt der Autor über die kulturellen Merkmale seiner übrigen Thermobakterienstämme nichts verlauten und zweitens erstreckten sich seine Untersuchungen über die Spezies Tbm. Jugurt auf einen einzigen Stamm. Wenn man berücksichtigt, wie sehr gerade die Kolonieform bei den Thermobakterien variieren kann, scheint es uns sehr gewagt, für eine durch einen einzigen Stamm vertretene «Art» diese Eigenschaft zur Differenzierung heranziehen zu wollen. In Anbetracht, daß 12 (Maltose) für Tbm. helveticum zu den inkonstanten, d. h. nicht regelmäßig vergorenen Symbolgliedern gehört, sind wir der Ansicht, daß es sich bei diesem Organismus um eine Standortsvarietät von Tbm. helveticum in Joghurt handelt. Wie wenig geeignet gerade das Maltosevergärungsvermögen zu Klassifizierungszwecken ist, zeigen die Untersuchungen Kantardjieffs (31), der unter 7 Jugurt-Stämmen 5 fand, die Maltose vergärten. Auch Kulp und Rettger (40) fanden bei Tbm. Jugurt Stämme mit Maltosesäuerung und solche, denen diese Eigenschaft nicht zukam. Für eine Identität der beiden Thermobakterien sprechen ferner die

Versuche Peters*), welcher mit Tbm. helveticum und Tbm. lactis an Stelle von Tbm. Jugurt und Tbm. bulgaricum Joghurt herstellte, der sich in nichts von einem Originalprodukt unterscheiden ließ.

Tbm. bulgaricum Orla-Jensen (Originalarbeit, Tabelle XXVIII, Stamm Nr. 14, aus Joghurt isoliert) unterscheidet sich von Tbm. lactis im Fehlen des Maltosevergärungsvermögens. In unserer Tabelle 7 sind einige Stämme zu finden (Nrn. 9, 29, 47 und 55), welche in der erwähnten Art von Tbm. lactis abweichen und demzufolge als Tbm. bulgaricum aufgefaßt werden könnten. Unter Berücksichtigung, daß Maltose auch bei Tbm. lactis zu den nicht regelmäßig vergorenen Zuckern gehört, scheint es uns ungerechtfertigt, auf Grund einer derart schwankenden Eigenschaft eine selbständige Art abzutrennen. Kantardjieff (l. c.), Weaver (66) und Druckrey (21) haben gezeigt, daß das Maltosesäuerungsvermögen bei Tbm. bulgaricum zu den schwankenden Merkmalen gehört; beachtenswert ist besonders, daß es dem letztgenannten Forscher gelang, maltosenegativen Stämmen das Maltosevergärungsvermögen anzuzüchten.

Amerikanische Autoren (Bergey, l. c.) betrachten Tbm. Jugurt und Tbm. bulgaricum als identisch und fassen sie unter dem Namen Lactobacillus bulgaricus (Luerssen et Kühn) Holland zusammen. Auch aus diesen auseinandergehenden Auffassungen ist deutlich ersichtlich, daß es sich offenbar um zwei schwer zu umschreibende, relativ großen Schwankungen unterworfene Organismen handelt; ein Grund mehr, sie nur als Rassen gewisser Arten zu betrachten.

Thermobakterien, welche die Milch nicht koagulierten, hatten wir bei unseren Untersuchungen einige Male angetroffen. Alle Stämme gingen indessen ein, bevor wir sie weiter prüfen konnten. Ob es sich dabei um Vertreter des Tbm. cereale oder stark geschwächte Formen anderer Arten gehandelt hatte, war deshalb nicht zu beurteilen.

Organismen, die mit dem von Kantardjieff (l. c.) beschriebenen Tbm. Burri hätten identifiziert werden können, haben wir nicht angetroffen.

---

* Mündliche Mitteilung von Prof. A. Peter sel., Direktor der Molkereischule Rütti-Zollikofen und Dozent für Milchtechnik an der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich.

Burri und Kollmann (l. c. p. 422) haben anläßlich ausgedehnter Studien über die Thermobakterien im jungen Emmentalerkäse auch auf die Zwischenformen von Tbm. helveticum und Tbm. lactis hingewiesen. Sie konnten einen Stamm isolieren, der sowohl typische Eigenschaften der einen als auch der anderen Art auf sich vereinigte, welche sich auf die Nachkommen vererbten. Wir glaubten zuerst, in unserem lactis-Stamm Nr. 12 (Tabelle 7) einen solchen Vertreter vor uns zu haben. Für Tbm. helveticum sprach die große Säuremenge in Milch (2,1 %); das von ihm gelieferte Gärungssymbol mit der starken Vergärung von Saccharose und Salicin war selten typisch für Tbm. lactis; die maximale Säuerungstemperatur von 45° erwies sich als intermediär. Schon die erste Nachprüfung ergab aber nurmehr einen Säuregehalt der bebrüteten Magermilch von 1,53 %, der sich bei weiteren Untersuchungen, abgesehen von geringen Schwankungen, im selben Rahmen bewegte, sodaß sich dieser Organismus eindeutig als Tbm. lactis erkennen ließ.

Die Untersuchungen Burris und Kollmanns an je über 100 Stämmen der beiden Arten sowie die unserigen, welche sich auf die Prüfung von 129 Stämmen erstreckten, zeigen einwandfrei, daß solche Zwischenformen äußerst selten vorkommen. Gerade darin sehen wir einen weiteren Grund, Tbm. helveticum und Tbm. lactis als selbständige Arten betrachten zu dürfen; anderseits deutet gerade diese Zwischenform darauf hin, daß die beiden Arten doch eine nahe Verwandtschaft aufweisen und deshalb auch als Vertreter derselben (Groß-)Art angesehen werden könnten.

D. Die Streptobakterien

Nach ihrer ausgesprochenen Tendenz, Ketten zu bilden, nennt Orla-Jensen eine Gruppe von Milchsäurestäbchen, in welche auch das frühere Bacterium casei α v. Freudenreich gehört, Streptobakterien und faßt sie als eigene Gattung auf. Als sicher zu umschreibende Arten unterscheidet er Sbm.* casei und Sbm. plantarum. Er betont aber, daß diese sehr nahe verwandt und häufig nur schwer von einander zu trennen sind.

---

* Abkürzung für Streptobacterium.

"There are probably a great number of species, which are difficult to distinguish one from another, owing to the gradual transitions between. I will content myself with making distinction between the two extreme groups, the typical cheese bacterium, Sbm. casei, represented by the Bacterium casei α which I have formerly described, and the typical vegetable bacterium, Sbm. plantarum."

Die beiden Spezies unterscheiden sich in der Art der gebildeten Milchsäure; Sbm. casei soll meistens d-, Sbm. plantarum in der Regel i-Milchsäure produzieren. Aus den Tabellen XXIX und XXX der Originalarbeit geht hervor, daß die zwei Arten beide Formen hervorbringen können. Sbm. casei soll ein deutliches Kaseinabbauvermögen besitzen, Sbm. plantarum dagegen nicht. Auch bei diesem Merkmal mußte Orla-Jensen Ausnahmen machen, indem seine plantarum-Stämme Nrn. 20 und 21 das Kasein kräftig spalteten. Sbm. plantarum soll in der Regel Maltose und Saccharose der Lactose vorziehen.

a) Streptobacterium casei Orla-Jensen
(Tabelle 8)

Synonyme: Bacillus α v. Freudenreich,
Bacillus casei α v. Freudenreich,
Bacterium casei α v. Freudenreich,
Caseobacterium vulgare Orla-Jensen,
Lactobacillus casei (Orla-Jensen) Holland.

Die Stämme von Sbm. casei wuchsen auf Peptonschottenagar in Form von schmutzig-weißen, erhabenen Kolonien mit schwach gelapptem Rand. Auf gewöhnlichem Fleischwasseragar waren dieselben milchigweiß; auf beiden Näh böden entwickelten sie sich ungefähr gleich gut und bildeten Kolonien bis zu 2 mm im Durchmesser. Bemerkenswert war das kräftige Wachstum in aeroben Ausstrichkulturen, wo die meisten unserer Stämme ebenso gut gediehen wie unter dem anaeroben Verschluß.

Das mikroskopische Präparat aus Material ab festen Nährsubstraten zeigte Stäbchen verschiedener Länge, einzeln, zu zweit oder in kürzeren Ketten angeordnet; von einer ausgesprochenen Kettenbildung konnte nicht gesprochen werden. Sehr deutlich trat dagegen dieses Merkmal in Nährlösungen, z. B. in Nährbouillon mit Kaseinpepton als Stickstoffquelle, zu Tage, wo Ketten, aus 10 und mehr Gliedern bestehend, anzutreffen waren. Im allgemeinen waren die

Tabelle 8

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Tage	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	30—37	1,24	3	12,5	**(3) (5) 6 7 8 9 10 11 12 13 (16) 18**
2	**37**	1,38	1½	14,1	(1) (3) (4) (5) 6 7 8 9 10 11 **12 13** 14 (15) (16) 18
3	37	1,15	4	18,8	(1) (2) (3) (6) **7 8 9 10 11 12 13 14** (16) (17) 13
4	30	1,53	3	11,7	**3** (4) 5 **6 7 8 9 10** (11) **12 13** 14 (15) 16 **18**
5	30	1,05	5	9,1	(1) (2) (3) (4) (5) (6) **7 8 9 10 11 12 13** (16) 18
6	30	0,90	3	14,9	(1) (2) (4) (5) 6 **7 8 9 10 11 12 13 18**
7	30	1,16	3	13,6	(1) **3** (4) (5) 6 **7 8 9 10 11 12 13** (14) (15) (16) 18
8	30	0,86	5	12,3	(1) (2) (3) (5) (6) **7 8 9 10** 11 **12 13** (14) **18**
9	30	0,60	7	8,3	(2) (3) (4) 6 **7 8 9 10 11 12 13 18**

einzelnen Zellen aus flüssigen Nährsubstraten bedeutend kürzer als ab festen. Bilder, wie sie Orla-Jensen in dem seiner Arbeit "The lactic acid bacteria" beigelegten Atlas zeigt, haben wir häufig beobachten können, Ketten, deren einzelne Glieder so kurz waren, daß der Eindruck von Streptokokken erweckt wurde. Öfters traten gebogene Zellen auf, sodaß diese als Sbm. curvatum hätten gehalten werden können; es gelang uns indessen nicht, für diese Stämme andere, für den erwähnten Organismus typische Eigenschaften zu finden, wie z. B. höhere Maximaltemperaturen. Wir haben deshalb keine unserer Streptobakterien als Sbm. curvatum Orla-Jensen betrachtet.

Die Optimaltemperatur betrug bei den 9 zu Sbm. casei gerechneten Stämmen 30—37 ° C.

Sämtliche der von uns isolierten Vertreter dieser Art brachten die Milch bei 30 und 37 ° zum Gerinnen und zwar nach 1½ (Nr. 2) bis 7 Tagen (Nr. 9). Die Stämme Nrn. 2, 3 und 6 säuerten die Milch auch bei 42 ° noch schwach, Nr. 2 sogar bei 45 °, ohne daß indessen eine Gerinnung stattfand. Die bei 20 ° aufgestellten Magermilchproben zeigten in allen Fällen Säuerung, jedoch nirgends Dicklegung. Stamm Nr. 6 bildete mit 1.55 % die höchste Säuremenge unserer casei-Stämme.

In der Zuckerreihe zeigten unsere Stämme mit denjenigen Orla-Jensens, welche das lange Symbol aufweisen, die größte Ähnlichkeit. Der Unterschied bestand einzig darin, daß bei unseren Prüfungen die Saccharosevergärung im allgemeinen kräftiger war. Was die Orla-Jensen'schen Stämme mit dem kurzen Symbol anbelangt, so stammten sie fast ausschließlich aus Käse eines gewissen Alters; es ist deshalb leicht möglich, daß sie infolge des Milieus die Fähigkeit verloren hatten, eine größere Zahl von Substanzen anzugreifen. Wegen der geringen Anzahl von isolierten und untersuchten Stämmen verzichten wir, trotz der relativ geringen Streuungen, auf die Angabe eines allgemein gültigen Gärungssymbols für Sbm. casei.

In Anbetracht, daß das Kaseinabbauvermögen das wichtigste Unterscheidungsmerkmal zwischen den beiden Arten Sbm. casei und Sbm. plantarum zu sein scheint, haben wir alle Stämme auf diese Fähigkeit geprüft. Alle jene, welche diese Eigenschaft in ausgeprägtem Maße besaßen, wurden zu Sbm. casei und alle übrigen zu Sbm. plantarum gerechnet.

Die ebenfalls bei allen Stämmen durchgeführte Nadelstichprobe (Gasbildung) zeitigte überall ein negatives Resultat.

b) Streptobacterium plantarum Orla-Jensen

Synonyme: Bacillus pabuli acidi II Weiss,
Lactobacillus pabuli acidi Bergey et al.,
Bacillus cucumeris fermentati Henneberg,
Lactobacillus cucumeris Bergey et al.,
Bacillus wortmannii Henneberg,
Lactobacillus wortmannii Bergey et al.,
Bacillus listeri Henneberg,
Lactobacillus listeri Bergey et al.,
Bacillus maercki Henneberg,
Bacillus leichmanni II Henneberg,
Bacillus beijerinckii Henneberg,
Lactobacillus beijerinckii Bergey et al.,
Lactobacillus pentosus Fred,
Lactobacillus arabinosus Fred,
Bacterium busae asiaticae Tschekan,
Lactobacillus busaeasiaticus Bergey et al.,
Bacterium brassicae Wehmer,
Lactobacillus brassicae Le Fevre,
Lactobacillus plantarum (Orla-Jensen) Bergey et al.

Sbm. plantarum soll sich von der vorgehend beschriebenen Art in der Bildung eher kürzerer Ketten (auf festen Nährsubstraten nur Einzelstäbchen und ganz kurze Kettchen) und im Fehlen eines ausgeprägten Kaseinspaltungsvermögens unterscheiden. Maltose und Saccharose werden der Lactose in der Regel vorgezogen; oft werden Raffinose und Inulin und häufiger als bei Sbm. casei auch Rhamnose, Sorbit und Arabinose vergoren.

"Briefly then, these bacteria can on the whole, as was to be expected of plant bacteria, utilise a far greater number of carbon sources than bacteria living normally in milk, where there is no other source of carbon beyond lactose."

84 Stämme, also die erdrückende Mehrzahl der isolierten Streptobakterien, über deren wichtigste Eigenschaften die Tabelle 9 orientiert, reihten wir unter diese Art ein.

In morphologischer Hinsicht konnten wir weder im kulturellen noch im mikroskopischen Bilde irgend welche charakteristischen Merkmale wahrnehmen. Auf festen Nährsubstraten traten wie bei Sbm. casei bedeutend mehr Einzelzellen und höchstens kurze

Ketten auf, ohne daß diese kürzer gewesen wären als bei der vorgehenden Spezies. In Bouillon, wo die Kettenbildung deutlich war, konnten gegenüber den casei-Stämmen ebenfalls keine Unterschiede beobachtet werden; auch hier waren die erwähnten Streptokokkenformen festzustellen.

Für die Vermehrung am günstigsten erwiesen sich Temperaturen von 30 und 37 ° C.

In steriler Magermilch zeigten 5 Stämme (Nrn. 5, 18, 75, 78 und 84) ein so geringes Wachstum, daß sie dieselbe nur unbedeutend zu säuern vermochten. Alle übrigen brachten die Milch bei 30 ° zum Gerinnen; die Nrn. 1, 2, 4, 11, 12, 13, 19, 20, 26, 33, 47, 48, 56, 67, 68, 76, 81 und 83 ließen diese Fähigkeit bei einer Bebrütungstemperatur von 37 ° vermissen. Bei 42 ° trat nur noch in vereinzelten Fällen eine Koagulation ein, und zwar nicht etwa ausschließlich bei Stämmen, welche ihr Wachstumsoptimum bei 37 ° fanden, sondern auch bei weniger wärmebedürftigen. Anderseits zeigten die Nrn. 10, 28, 54, 55 und 71 trotz einer Optimaltemperatur von 37 ° bei 42 ° gar keine Säurebildung mehr. Die bei 45 ° aufgestellten Milchproben zeigten für die Stämme Nrn. 3, 9, 22, 29, 45, 49, 62, 64, und 80 noch eine geringe Säuerung, ohne daß nach Ablauf von 10 Tagen eine Gerinnung zu beobachten war. Interessant ist, daß sich auch unter diesen noch Stämme befinden, welche bei 30 ° die üppigste Vermehrung zeigten. Im allgemeinen waren die von uns gefundenen Gerinnungszeiten etwas kürzer als die von Orla-Jensen angeführten. Dies gilt allerdings nur für die frisch isolierten Stämme, später wiederholte Prüfungen ergaben, daß alle die Milch noch säuern konnten, die wenigsten vermochten sie jedoch mehr zu koagulieren, eine Eigenschaft, auf die auch Orla-Jensen und Baumann (l c. p. 40) hinwiesen. Inwieweit es sich hierin um ein Differenzierungsmerkmal für die Streptobakterien handelt, vermochten wir nicht zu entscheiden, indem mit nur 9 Vertretern die Zahl der untersuchten casei-Stämme zu gering war. Wir konnten nur soviel feststellen, daß es auch plantarum-Stämme gibt, welche das Milchgerinnungsvermögen während Jahren beibehalten können.

Die Zuckerreihe ergab in der Hauptsache Übereinstimmung mit den Angaben Orla-Jensens, wobei wir mehrheitlich auf das lange Symbol stießen. Außer bei Xylose, Rhamnose und Stärke, die wenn überhaupt, immer nur schwach angegriffen wurden, resultierte bei allen anderen Zuckern eine mittelstarke bis kräftige Erniedrigung

Tabelle 9

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Tage	Kaseinabbau Wasserlöslicher N in %	Gärungssymbol
1	30	0,98	4	2,1	(3) (6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 (16) **18**
2	30	1,24	4	0,88	(2) 3 (4) (5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (16) 18
3	30	0,73	6	—	**3** (4) (5) 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** 18
4	30	0.58	9	—	**3** (4) (5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 (17) 18
5	30	0,13	—	—	1 **3** (4) 5 **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** (13) (14) **18**
6	30	0,60	2	1,8	3 (6) 7 8 (9) **10** **11** **12** **13** (16) 17 18
7	37	0,77	2	0,5	3 (4) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 16 18
8	30	0,85	3	3,7	6 7 8 9 10 11 12 13 (14) (15) 18
9	30—37	1,04	2½	1,3	**6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (15) 18
10	37	0,90	3	—	(1) 5 **6** **7** 8 **9** 10 **11** **12** **13** **14** (15) 16 17 18
11	30	1,13	5	—	(3) 6 7 8 **9** 10 **11** **12** **13** (14) (16) 18
12	30	0,97	7	—	1 (5) **6** **7** 8 **9** 10 **11** **12** **13** **14** (16) (17) 18
13	30	0,56	8	—	1 (5) **6** **7** 8 **9** 10 **11** **12** **13** **14** (15) (16) (17) 18
14	30	1,09	3½	0,2	1 3 (4) **5** **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** (15) **16** (17) 18
15	30	1,11	4	3,2	3 (4) (5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) (15) (17) 18
16	30	0,96	4	0,0	(1) (2) (3) (4) **5** **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 15 (16) 17 18
17	30—37	0,78	7	—	(6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** (15) **16** 18
18	30	0,18	—	—	1 (5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** (13) **16** (17) 18
19	30—37	0,77	5	—	6 7 8 **9** **10** 11 **12** 13 18
20	37	0.66	3	—	(1) 6 7 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** **17** 18
21	37	0,81	5½	—	(1) (4) (5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** (15) (16) 17 18
22	30	1,16	7	0,1	1 **6** **7** 8 **9** 10 **11** **12** **13** **14** (15) **17** 18
23	30—37	0 42	10	2,8	1 3 (4) (5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** (15) (16) (17) **18**
24	30—37	0,88	7	0,4	6 8 **9** **10** **12** **13** 14 (15) 18
25	30	1,03	5	6,9	(3) 6 7 8 9 10 11 **12** 13 **14** **15** (16) (17) 18
26	30	0.61	6	0,0	(6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** 16 18
27	30	1,00	4	1,7	6 **7** 8 9 **10** **11** **12** **13** **14** 16 18
28	37	0 86	4		(6)

30	30	0,90	6	—
31	30—37	1,36	5	—
32	37	0,80	7	—
33	30	0,94	5	—
34	30—37	1,25	3	—
35	30	1,36	4	—
36	30	0,63	8	—
37	30—37	0,86	5	—
38	30	1,43	2	—
39	30	1,26	4	0,0
40	30	1,06	3	1,1
41	30	1,30	5	10,0
42	37	0,56	10	3,5
43	30	1,53	2	2,7
44	30—37	1,11	4	—
45	30	1,28	3	—
46	30	0,90	3	—
47	30	0,73	7	—
48	30	1,05	6	—
49	30	1,43	5	—
50	30	1,17	4	—
51	30	0,81	4	—
52	30—37	0,45	10	—
53	30—37	0,73	4	—
54	37	0,72	5	—
55	37	0,88	6	—
56	30	1,05	4	1,0
57	30	0,66	3	0,9
58	30	1,21	2	14,3
59	30	1,10	3	0,6
60	30	1,58	3	0,0
61	30	1,02	2	2,5

(1) **3** (4) 5 **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** 13 (17) **18**
3 **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) **18**
3 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** 16 (17) 18
3 (4) (6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 **18**
3 (6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 (16) 18
(3) (6) **7** 8 9 **10** **11** **12** **13** **14** (16) 18
(1)(2) **3** (4)(5) 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** (15) **18**
(1)(2)(3)(4) 5 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** **18**
3 (4)(5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (16)(17) **18**
(1) (4)(5) 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 16 (17) **18**
(2) 3 6 **7** 8 **9** **10** 11 **12** 13 (14)(15) 16 **18**
3 (4)(5) **6** **7** 8 **9** **10** (11) **12** **13** **15** **18**
(1) 3 (4) 5 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) (16)(17) **18**
(6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (15)(16)(17) **18**
(2) **3** (4)(5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** 16 18
(1) (3) (5) 6 **7** 8 9 **10** **11** **12** **13** (14)(15)(16)(17) **18**
(1) (3) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 **15** 18
6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **18**
(1) 3 (4)(5)(6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 **15** (16)(17) **18**
(1)(2)(3)(4)(5) 6 7 8 9 **10** 11 **12** **13** 14 (16) 18
(1) (6) **7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** **18**
6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **18**
6 **7** 8 9 10 11 **12** (13) **18**
(6) **7** 8 **9** (10) **12** **13** **15** (16) **18**
(1)(2) 3 (4) 5 **6** **7** 8 **9** **10** 11 **12** **13** 14 (15) **16** (17) 18
3 **6** **7** 8 **9** **10** **12** **13** **18**
(2) **3** (4) 5 **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) **18**
(1) (3) (5) 6 **7** 8 **9** **10** (11) **12** **13** **14** **16** (17) **18**
(1)(2) **3** (4)(5) **6** **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** **15** (16) **18**
3 (4)(5) 6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** 14 18
(6) **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) (16) **18**
6 **7** 8 **9** **10** **11** **12** **13** (14) 18

Fortsetzung von Tabelle 9

62	37	1,36	*2*	0,0	3 (6) **7 8 9 10 11 12 13** 14 (15) **18**
63	30	1,01	*2*	—	(2) **3** (4) 5 **6 7 8 9 10 11 12 13** 15 16 **18**
64	30—37	1,47	3	—	(1) (3) (5) (6) **7 8 9 10 11 12** 13 14 **18**
65	30—37	0,75	4	—	(6) **7 8 9 10 12 13** (16) **18**
66	30—37	0,75	7	—	**6 7 8 9 10 12 13** (14) **18**
67	30	0,91	8	—	(1) (4) **6 7 8 9 10** (11) **12 13** **18**
68	30	0,88	7	—	(6) **7 8 9 10 12 13** (14) **18**
69	30	1,14	5	—	(1) (2) (3) (4) **5 6 7 8 9 10 11 12 13 14** (15) 16 **18**
70	30	1,26	6	—	(1) (2) **3** (4) (5) **6 7 8 9 10 11 12 13** (14) (16) (17) **18**
71	37	0,53	7	—	1 (2) **3** (4) (5) **6 7 8 9 10 11 12 13 14** (15) 16 (17) **18**
72	37	0,50	4	—	(1) (2) **3** (4) 5 **6 7 8 9 10 11 12 13 14** 16 **18**
73	30—37	0,82	3	—	(1) **3** (4) 5 **6 7 8 9 10 11 12 13 14** 16 (17) **18**
74	30	1,11	3	0,0	**1 3** **6 7 8 9 10 11 12 13** 14 (15) (16) 17 **18**
75	30	0,17	—	1,8	(5) (6) 7 8 9 **10 12** **18**
76	30	0,64	10	0,2	(6) **7 8 9 10 11 12 13** (14) (16) **18**
77	30	0,73	8	3,3	(6) **7 8 9 10** (11) **12 13** 15 (16) **18**
78	30	0,25	—	0,0	(1) (2) (3) (5) 6 7 8 9 10 (11) **12** (13) 14 (15) **18**
79	37	1,32	3	0,4	(1) 3 (6) **7 8 9 10 12 13** 14 15 **18**
80	30	1,04	*2*	0,1	(2) 3 5 **6 7 8 9 10 11 12 13** (14) (16) **18**
81	30	1,10	4	7,4	(1) (2) **3** (4) (5) **6 7 8 9 10** 11 **12 13 14 15** 16 **18**
82	30	0,63	7	2,7	1 3 (4) (5) **6 7 8 9 10 11 12 13** 14 (16) **18**
83	30	0,58	6	0,0	(1) *2* 3 6 **7 8 9 16 11 12 13** 14 (15) (16) **18**
84	30	0,14	—	3,5	(1) **3** (4) (5) **6 7 8 9 10 11 12** (13) **14** (16) (17) **18**

des pH-Wertes. Als konstanter Teil der gefundenen Gärungssymbole erwies sich:

6 7 8 9 10 12 18

nicht regelmäßig angegriffen wurden die restlichen 11 Substanzen. In Übereinstimmung mit den Befunden von Orla-Jensen wurde auch von unseren Stämmen in der Regel die Maltose der Lactose vorgezogen; eine Bevorzugung der Saccharose, deren Vergärung sogar hin und wieder ganz ausblieb, konnte nur selten wahrgenommen werden. Durch unsere Schreibweise kommt diese intensivere Vergärung von Maltose in den allerwenigsten Fällen zum Ausdruck, da meistens auch der Milchzucker kräftig gesäuert wurde. Einwandfrei zeigte sie sich jedoch im zahlenmäßigen Wert der pH-Erniedrigung, wie die folgende Zusammenstellung an einigen Beispielen demonstrieren soll:

Stamm Nr.	pH-Erniedrigung in	
	Maltosebouillon	Lactosebouillon
1	2,3	1,8
8	0,9	0,6
20	2,1	1,4
27	1,8	1,2
34	2,2	1,4
45	2,3	1,9
57	1,9	1,3
80	2,1	1,6

Lactose wurde einzig von Stamm Nr. 75 nicht vergoren, der auch die Milch nie zum Gerinnen brachte. Ausgesprochener als nach Orla-Jensen waren nach unseren Befunden die Vergärungen von 3 (Arabinose) und 14 (Raffinose). Als «Normalsymbol» würde sich daher bei Nichtberücksichtigung der Intensität folgendes Bild ergeben (siehe auch Fig. VII im Anhang):

3 6 7 8 9 10 11 12 13 14 16 18

Die Tabelle XXX in Orla-Jensens Werk zeigt, daß auch die meisten der aus Käse oder anderen Milchprodukten isolierten plantarum-Stämme ein verkürztes Gärungssymbol lieferten, eine ähnliche Erscheinung wie bei Sbm. casei, welche als Degeneration infolge des Milieus angesprochen werden kann.

Abgesehen von 4 Stämmen (Nrn. 25, 41, 58 und 81) konnten wir in keinem Falle ein deutliches Kaseinabbauvermögen beobachten. Diese 4 würden auf Grund dieser Eigenschaft eigentlich zu S b m. c a s e i gehören, infolge des äußerst kräftigen Inulinvergärungsvermögens reihten wir sie aber unter S b m. p l a n t a r u m ein, wobei wir uns allerdings voll bewußt sind, daß das erstere ebenso richtig gewesen wäre.

c) D i s k u s s i o n d e r U n t e r s u c h u n g s b e f u n d e b e i d e r G a t t u n g S t r e p t o b a c t e r i u m O r l a - J e n s e n

9 der 93 isolierten Streptobakterienstämme ließen sich als S b m. c a s e i und die restlichen als S b m. p l a n t a r u m bestimmen. Dabei mußte als hauptsächlichstes Differenzierungsmerkmal das Kaseinabbauvermögen, also eine schwankende Eigenschaft, Verwendung finden. Die erdrückende Mehrzahl der geprüften Stämme zeigte ein langes Gärungssymbol, ohne für die eine oder andere Art typische Glieder aufzuweisen. Sofern man diese Bakterien in einer selbständigen Gattung zusammenfassen will, wovon wir aus den bei den Thermobakterien erwähnten Gründen Abstand nehmen möchten, wäre die Bezeichnung S t r e p t o b a c t e r i u m zutreffend, denn die Kettenbildung hat sich bei allen unseren Stämmen, entsprechende Kultivierungsbedingungen vorausgesetzt, als konstant erwiesen.

Aus den Angaben von O r l a - J e n s e n und B a u m a n n (l. c. p. 40), sowie aus unseren Befunden geht hervor, daß S b m. c a s e i und S b m. p l a n t a r u m bedeutend mehr gleiche als ungleiche Eigenschaften aufweisen. Bei den morphologischen Merkmalen, der Optimaltemperatur, der maximalen Säuerungstemperatur und der Zuckerreihe sind deckende Resultate die Regel. Was die proteolytischen Fähigkeiten anbelangt, so hat O r l a - J e n s e n selber Stämme von S b m. p l a n t a r u m beschrieben, welche Inulin oder irgend einen anderen, eher für diese Art sprechenden Zucker nicht angriffen, in Milch aber über 5 % löslichen Stickstoff bildeten, also ein deutliches Kaseinabbauvermögen erkennen ließen. Es dürfte schwierig sein, eine scharfe Grenze zwischen «kräftiger» und «schwacher» Kaseinspaltung zu ziehen, sodaß subjektive Einflüsse ausgeschaltet, und diesem ohnehin schon stark schwankenden Merkmal zu diagnostischen Zwecken erhöhte Bedeutung zukommen würde. Außerdem möchten wir in diesem Zusammenhang auf die Untersuchungen

Hornbostels (29) hinweisen, dem es gelang, plantarum-Stämmen das Kaseinabbauvermögen in Milch teilweise anzuzüchten. Wir sind deshalb der Auffassung, daß Sbm. casei und Sbm. plantarum eine einzige Art darstellen, wobei der letztere sehr häufig in pflanzlichem Material anzutreffende Organismus wohl die Urform und Sbm. casei eine Varietät oder Rasse derselben repräsentieren dürfte.

E. Die Betabakterien

Die von v. Freudenreich erstmals beschriebenen Bacterium casei γ und Bacterium casei δ wurden von Orla-Jensen in der Gattung Betabacterium (Beta = Rübe) zusammengefaßt. Es handelt sich um Organismen, welche neben Milchsäure eine Menge anderer Stoffwechselprodukte hervorbringen, wie Kohlensäure, Bernstein-, Essig- Propion- und Ameisensäure, und die demnach die Übergangsformen zu den unechten Milchsäurebakterien, den Coli- und Aerogenesbakterien darstellen.

Nach Orla-Jensen kommen dieser Gattung die folgenden charakteristischen Eigenschaften zu:

Die Vertreter der Gattung Betabacterium bilden in der Regel außer Milchsäure bemerkenswerte Mengen von Gas und anderen Nebenprodukten. Die gebildete Milchsäure ist fast immer inaktiv. Sie wachsen gut in Hefeextrakt, aber als Regel schlecht in Milch. Sie vergären nie beachtliche Mengen von Mannit, Inulin, Dextrin, Stärke und Salicin und besitzen ein verhältnismäßig geringes Mannosevergärungsvermögen.

Der genannte Autor unterscheidet zwischen:

a) Arabinose vergärenden Stämmen. Maximaltemperatur 38 ° = Bbm. breve (Bact. casei γ v. Freudenreich).

b) Arabinose nicht, dagegen häufig Xylose und in der Regel Raffinose vergärenden Stämmen. Maximaltemperatur 45 ° = Bbm. longum (Bact. casei δ v. Freudenreich).

Unsere 122 geprüften Betabakterienstämme verteilten sich nach Art und Zahl wie folgt:

Bbm.* breve	81 Stämme
Bbm. longum	41 Stämme.

* Abkürzung für Betabacterium.

a) Betabacterium breve Orla-Jensen
(Tabelle 10)

Synonyme: Bacillus γ v. Freudenreich,
Bacillus casei γ v. Freudenreich,
Bacterium casei γ v. Freudenreich,
Bacillus brassicae fermentatae Henneberg,
Lactobacillus fermentatae Bergey et al.,
Bacillus panis fermentati Henneberg,
Lactobacillus panis Bergey et al.,
Bacillus acidophil-aerogenes Torrey et Rahe,
Lactobacillus acidophil-aerogenes Bergey et al.,
Lactobacillus pentoaceticus Fred,
Lactobacillus lycopersici Mickle,
Bacterium soya Saito,
Lactobacillus soya Bergey et al.,
Lactobacillus brevis (Orla-Jensen) Bergey et al.

Runde, ziemlich erhabene, feuchte, feiner oder gröber kristallinische Kolonien mit bläulichem Anflug im jungen Stadium, welche sich mit der Zeit gelblich verfärbten, waren die Regel. Diese Farbveränderung scheint, für die Betabakterien ganz allgemein, typisch zu sein. Auf Peptonschottenagar war das Wachstum gewöhnlich besser als auf Nähragar und unter anaerobem Verschluß üppiger als in aerober Kultur. Einige Stämme bildeten auf gewöhnlichem Agar nur kümmerliche Kolonien, diese zeigten in der Folge auch die geringste Zuckervergärung, sowohl was die Intensität als auch die Anzahl der angegriffenen Substanzen anbelangt. Ausstrichkulturen auf demselben Nährboden ließen oft Kolonien erkennen, welche kleinen Wassertropfen glichen und die nach Bergey (l. c.) für Bbm. longum typisch sein sollten; wir haben sie aber auch wie gesagt bei Arabinose vergärenden Stämmen (Bbm. breve) beobachtet.

Das mikroskopische Bild ließ in der Regel einzeln liegende Stäbchen verschiedener Länge (im Mittel 2—3,5 μ lang) erkennen. In aeroben Kulturen waren die Abweichungen immer größer und häufig konnten sehr lange Zellen und Monstrositäten wahrgenommen werden. Die größte Ausgeglichenheit in der Gestalt wurde bei anaeroben Ausstrichkulturen von Peptonschottenagar festgestellt. In Bouillon traten neben normal dimensionierten Stäbchen in der Regel auch Faden auf, bisweilen waren die Zellen in Ketten angeordnet, eine Tendenz, die auf festen Nährsubstraten nur äußerst selten erkenntlich war.

Als optimale Wachstumstemperaturen erwiesen sich 30 und 37 ° C.

Von besonderem Interesse ist das Verhalten dieser Bakterien in Milch, in der sie in den meisten Fällen nur schlecht ihr Auskommen finden. So haben wir keine Stämme auffinden können, die in diesem Substrate bemerkenswerte Mengen von Säure zu bilden vermochten. Stämme, die in frisch isoliertem Zustande die Milch nach Ablauf mehrerer Tage koagulierten, hatten diese Fähigkeit anläßlich der Weiterzüchtung auf künstlichen Nährsubstraten bald, gewöhnlich schon nach der ersten, aber spätestens nach der dritten Überimpfung verloren. Bei 30 ° bebrütet, waren nur 12 Stämme (Nrn. 2, 9, 10, 27, 37, 41, 42, 54, 61, 67 und 79) im Stande, die Milch dickzulegen; bei 37 ° waren es die gleichen, dazu kamen ferner die Stämme Nrn. 23, 60 und 73. Ganz wesentlich höher war die Zahl der die Milch koagulierenden bei 42 °, einem Wärmegrad, der breits oberhalb der von Orla-Jensen für diese Betabakterienart angegebenen Maximaltemperatur liegt, es waren deren 35. Diese Tatsache, auf die schon Burri und Staub (l. c. p. 626) anläßlich Untersuchungen über Bacterium casei delta hingewiesen hatten, läßt sich durch folgende Fähigkeit der Betabakterien erklären. Die erdrückende Mehrzahl der Milchsäurebakterien bildet die maximalen Säuremengen bei Temperaturen, welche mehr oder weniger weit unterhalb der Optimaltemperatur liegen; nicht so die Betabakterien, von denen viele, wie die untenstehende Tabelle an wenigen Beispielen zeigen soll, auch bei 42 ° die gleiche Säuremenge hervorbringen wie bei 30 oder 37 ° C.

Stamm Nr.	Menge der gebildeten Säure in % bei			
	30 °	37 °	42 °	45 °
5	0,24	0,23	0,20*	0,11
23	0,19	0,36*	0,31*	0,09
25	0,06	0,23	0,26*	0,02
63	0,11	0,23	0,25*	0,10

* = Milch geronnen.

Die gebildeten Säuremengen genügen in der Regel nicht, die Milch bei 30 oder 37 ° zum Gerinnen zu bringen, wohl aber bei 42 °, da ja die zur Dicklegung nötige Säuremenge mit ansteigender Tem-

Tabelle 10

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Tage	Nadelstichprobe *	Gärungssymbol
1	30	0,16	—	+	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14** (16)
2	37	0,44	12	+	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
3	37	0,14	—	++	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
4	37	0,20	—	+	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
5	30	0,24	(15)*	+	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
6	30	0,16	—	+	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
7	30	0,20	(14)	+	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
8	30	0,13	—	+	**3** 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14**
9	30—37	0,42	13	++	**3** 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
10	30	0,44	9	+	**3** (7) 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14**
11	30	0,08	—	+	**3** (7) 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
12	30	0,07	—	—	**3** (7) 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
13	30	0,22	(14)	++	(2) **3** (7) 8 **9** **10** **11** **12** **13** **14** (16)
14	30—37	0,24	(12)	++	3 (7) 8 9 **10** **11** **12** **13** **14**
15	30	0,03	—	—	(2) **3** (7) 8 **10** **11** **12** **13** **14**
16	30	0,22	(14)	++	(2) 3 (7) 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14**
17	30	0,18	—	+	(2) **3** (4) (7) 8 (9) **10** **11** **12** **13** **14** (16)
18	30—37	0,02	—	+	2 **3** 7 8 (9) 10 (11) **12** 13 (14) (16)
19	30	0,15	—	+	**2** **3** **7** 8 (9) **10** **11** **12** **13** (14) (16)
20	30	0,01	—	++	**2** **3** **7** 8 (9) 10 11 **12** **13** 14 (16) (18)
21	30	0,18	—	—	**2** **3** 7 8 (9) **10** **11** **12** **13** 14 (16) (18)
22	30	0,10	—	+	2 3 (6) **7** **8** **10** **12** 13 14
23	30—37	0,36	15	++	(2) **3** (7) 8 **10** **11** **12** **13** 14
24	37	0,21	(10)	—	**2** **3** **7** **8** (9) **10** **11** **12** **13** **14**
25	37	0,25	(15)	+	**2** **3** 8 **10** **11** **12** **13** **14**
26	30	0,11	—	—	**2** **3** 6 **7** **8** **9** **10** **11** **12** **13** **14**
27	30	0,42	9	+	(2) **3** (7) 8 **10** **11** **12** (13) 14 (16)

29	[illegible]	[illegible]		+																					
30	30	0,11	—	++			3				8		**10**	11	**12**										
31	30	0,00	—	+			(3)				8		**10**	11	**12**										
32	37	0,30	(12)	+			**3**	(4)		**7**	8	(9)	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**		(16)					
33	37	0,26	(15)	++			(3)			**7**	8	(9)	**10**	**11**	**12**	**13**									
34	30—37	0,24	(13)	±		(2)	**3**			**7**	8	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**									
35	30—37	0,09	—	+		*2*	**3**			**7**	8		(10)	**11**	**12**		14								
36	30	0,29	(12)	—			3			7			10	11	**12**										
37	30	0,40	8	+			3				8		**10**	**11**	**12**	**13**	14								
38	30	0,27	(14)	+		*2*	3			**7**	8		(10)		**12**	13									
39	30	0,15	—	++			(3)		(5)		8	(9)	(10)		**12**	13			(16)						
40	30	0,06	—	++			3		(5)	(6)	**7**	8	9	10	11	**12**	(13)	14							
41	30	0,46	7	+	(1)		**3**				8		**10**	11	**12**	**13**	**14**	(15)							
42	37	0,51	8	—			**3**			**7**	8	(9)	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**								
43	37	0,18	—	++		(2)	3				8		**10**	**11**	**12**		(14)								
44	30	0,09	—	±			(3)				(8)		10		**12**										
45	30	0,21	(15)	±			**3**	(4)		**7**	8		**10**		**12**	**13**									
46	30	—	(12)	—			(3)			**7**	8	9	**10**	**11**	**12**	**13**	**14**		(16)		(18)				
47	30	—	(13)	++		*2*	**3**			**7**	8		**10**	(11)	**12**	**13**	14								
48	30	—	(10)	++			3			**7**	8	9	**10**	**11**	**12**	**13**	14								
49	30	—	—	±			3		(5)	(6)	**7**	8	(9)	**10**	**11**	**12**	13				(17)				
50	30	—	(12)	+			3				8		10	11	**12**	13	(14)								
51	30	—	—	++			3			**7**			**10**	**11**	**12**										
52	30—37	—	(8)	++			**3**	(4)		**7**	8	(9)	**10**	**11**	**12**	**13**	14								
53	37	—	—	—		*2*	**3**			**7**	8		**10**		**12**	**13**	14	(15)							
54	30	0,23	(9)	++		*2*	**3**			**7**	8	(9)	**10**		**12**	**13**	14	(15)	(16)						

* ++ = kräftig, Agar wird ohne Einstich zerrissen
+ = mittelstark, Agar wird beim Einstich zerrissen
± = schwach, im Stichkanal Blasenbildung
— = negativ

** Stämme, deren Gerinnungsdauer durch eingeklammerte Zahlen angegeben ist, legten die Milch nur bei 42 ° oder höherer Temperatur dick.

Fortsetzung von Tabelle 10

| | | |

peratur kleiner wird. Anderseits brachten einige unserer Stämme, welche die Milch bei 30 und 37 ° dicklegten, diese Veränderung bei 42 ° nicht mehr zu Stande, weil diese Temperatur ihre obere Wachstumsgrenze (Maximaltemperatur) bereits überstieg. Diese Verhältnisse werden durch folgende kleine Zusammenstellung illustriert:

Stamm Nr.	Menge der gebildeten Säure in % bei			
	30 °	37 °	42 °	45 °
37	0,38*	0,40*	0,00	0,00
54	0,54*	0,41*	0,00	0,00
61	0,25	0,34*	0,03	0,00
67	0,43*	0,40*	0,08	0,00

Die Gerinnungszeiten derjenigen Stämme, die die Magermilch ausschließlich bei 42 ° koagulierten, sind in unseren Tabellen 10 und 11 durch eingeklammerte Zahlen gekennzeichnet.

Die genaue Maximaltemperatur für B b m. b r e v e haben wir nicht ermittelt. Trotzdem wissen wir, daß sie bei vielen unserer Stämme höher als von O r l a - J e n s e n mit 38 ° angegeben liegen mußte, denn diese ließen ja selbst in Milch, welche für die Betabakterien ein ungünstiges Nährsubstrat darstellt, häufig bei 42 ° noch Wachstum erkennen. Die Verhältnisse bei den Betabakterien zeigen ferner mit aller Deutlichkeit, welchen Trugschlüssen man sich hingibt, wenn die Optimaltemperatur für Milch koagulierende Stämme mit Hilfe der Gerinnungsmethode bestimmt wird.

Sehr typisch, nicht nur für B b m. b r e v e, sondern überhaupt für die Betabakterien, ist das lückenhafte Bild der Zuckerreihe (Fig. VIII und IX des Anhanges). Diese Beobachtung kann allerdings nur bei in frisch isoliertem Zustande geprüften Stämmen gemacht werden. Anläßlich dieser ersten Prüfung wurden von unseren Stämmen einzig 3 (Arabinose) und 12 (Maltose) regelmäßig angegriffen, während selbst die Vergärung der Hexosen, jener Kohlehydrate also, die von den Bakterien, sofern sie überhaupt welche angreifen, am leichtesten zersetzt werden, große Lücken aufwies. Die von uns erzielten Resultate decken sich restlos mit denen O r l a - J e n s e n s und B a u m a n n s (l. c. p. 40). Als Grund dieser mangelhaften Zukkervergärung dürfte die von letzterem gegebene Erklärung wahrscheinlich sein, daß die Betabakterien auf Umweltseinflüsse wie Ein-

wirkungen der Salzsäure des Magens, der bakteriellen Stoffwechselprodukte und Bakteriophagen empfindlicher sind als andere Bakterien und besonders als diejenigen der endemischen Flora.

Auffallend und typisch ist das sozusagen immer geringe Mannosevergärungsvermögen der Betabakterien. Relativ häufig wurde von unseren Stämmen Raffinose zersetzt, eine Eigenschaft, welche nach Orla-Jensen vorwiegend dem Bbm. longum zukommen sollte. Auskunft über das vollständige Gärungssymbol können nur «regenerierte», d. h. während einiger Zeit auf günstigen künstlichen Nährsubstraten gezüchtete Stämme geben; allerdings ist dann von der charakteristischen lückenhaften Vergärung in der Regel nicht mehr viel zu sehen.

Als typisches Bild haben wir an Hand von zu verschiedenen Zeiten wiederholten Prüfungen die nachstehende Gliederfolge erhalten:

3 7 8 (9) **10** 11 **12** 13 (14)

Interessant ist, daß darin 7 (Fructose), welche von frisch isolierten Stämmen oft überhaupt nicht angegriffen wurde, unter den kräftig gesäuerten Substanzen erscheint.

In unserer Tabelle 10 fällt auf, daß die ersten Stämme alle dasselbe, fast keine Lücken aufweisende Symbol zeigen, eine Erscheinung, die sicher daher rührt, daß diese vor ihrer ersten Prüfung längere Zeit in C-Agar (mit verdautem Kasein als Stickstoffquelle) aufbewahrt worden waren, während unsere Zusammenstellungen ja sonst die Verhältnisse bei den frisch isolierten Organismen wiedergeben.

Die Gasbildung vieler unserer Stämme war derart kräftig, daß der Agar in hoher Schichtkultur ohne vorherigen Nadeleinstich zerrissen wurde (in der Tabelle mit ++ vermerkt). Während bei anderen durch die Nadelstichprobe der feste Nährboden gesprengt wurde (+), zeigten weitere nur im Stichkanal aufsteigende Gasbläschen (±); nur bei vereinzelten Stämmen zeitigte diese Prüfung ein negatives Resultat (—).

b) Betabacterium longum Orla-Jensen

Synonyme: Bacillus δ v. Freudenreich,
Bacillus casei δ v. Freudenreich,
Bacterium casei o v. Freudenreich,
Bacterium gayonii Müller-Thurgau et Osterwalder,

Lactobacillus gayonii Pederson,
Bacterium intermedium Müller-Thurgau et Osterwalder,
Lactobacillus intermedium Bergey et al.,
Bacillus aderholdi Henneberg,
Lactobacillus longus Bergey et al.,
Lactobacillus fermenti Beijerinck.

Die 41 verbleibenden, Arabinose nicht vergärenden, in der Tabelle 11 zusammengefaßten Betabakterienstämme rechneten wir zu Bbm. longum.

Die makroskopische Morphologie ließ gegenüber Bbm. breve keine augenfälligen Unterschiede erkennen. Im mikroskopischen Bilde sollten längere Zellen als bei der Arabinose vergärenden Art wahrgenommen werden können. Diese Beobachtung konnten wir nicht einmal in 50% der untersuchten Fälle machen, indem nur 15 Stämme deutlich längere Stäbchen von im Mittel 4—6 μ Länge (Bbm. breve 2—3,5 μ Länge) zeigten, aber auch unter diesen waren immer einzelne kürzere Formen zugegen.

Auch bei dieser Betabakterienart stellten wir eine Optimaltemperatur von 30—37 ° C fest. Einzig die Stämme Nrn. 8 und 9 wiesen eine solche von 37—42 ° und Nr. 26 von 42 ° auf und kamen damit an die in Bergey's Diagnostik (l. c.) angegebene Optimaltemperatur von 41—42 ° heran.

Die Veränderung der Milch, über die die Zusammenstellung auf Seite 88 auszugsweise orientiert, ging ähnlich wie bei Bbm. breve vor sich, mit dem Unterschiede, daß zwei Stämme (Nrn. 8 und 9) die Milch selbst bei 45 ° noch dicklegen konnten.

Wir haben auch bei dieser Art in der Tabelle 11 die Gerinnungszeiten jener Stämme, welche die Milch nur bei 42 ° koagulierten, durch eingeklammerte Zahlen aufgeführt. Gleich wie bei Bbm. breve gab es bei Bbm. longum Stämme, die wohl bei 30 und 37 ° eine gallertige Konsistenz der Milch bewirken konnten, dagegen bei höherer Temperatur diese nurmehr äußerst gering säuerten oder überhaupt in ihr kein Wachstum mehr zeigten. Das besagt aber nicht, daß die Maximaltemperatur für diese Stämme nicht bei 45 ° oder nach Bergey gar bei 50 ° liegen kann, weil ja die Milch für die Betabakterien ein schlechtes Nährmedium darstellt. In bezug auf den Verlust des Gerinnungsvermögens von Milch verhielten sich die longum-Stämme gleich wie die Vertreter von Bbm. breve.

Nach Orla-Jensen soll sich Bbm. longum von Bbm. breve durch das Unvermögen, Arabinose anzugreifen und im häu-

Tabelle 11

Stamm-Nr.	Optimaltemperatur	Gebildete Säure in Milch in %	Zeit bis Gerinnung der Milch Tage	Nadelstichprobe	Gärungssymbol
1	37	—	—	+	*2* **7** 8 9 10 (11) **12** **13** 16
2	37	0,21	(15)	±	(2) **7** 8 9 **10** **11** **12** **13** (16) (17)
3	30	0,26	(12)	+	*2* **7** (8) (9) **10** **11** **12** 13 (16) (17)
4	30	0.17	—	+ +	(2) **7** 8 **10** **11** **12** (13) 16
5	30	0,29	(12)	+ +	**7** 8 9 **10** **11** **12** 13 14 16
6	30—37	0,38	12	+ +	(1) **2** 8 (9) **10** **11** **12** 13 (16) (18)
7	30—37	0,47	12	+	**2** **7** 8 (9) **10** **12** **13** (14) 16
8	37—42	0,32	(15)	—	*2* (7) 8 (9) 10 12 13
9	37—42	0,25	(14)	+	(7) (8) 10 11 **12** 13 14 (16)
10	30	0,36	13	+ +	10 **12** **13**
11	30	0,34	(13)	+	**2** 7 8 (9) 10 (11) **12** **13** 16
12	37	0,14	—	—	**2** **7** **8** **9** **10** **11** **12** (13) (14) 16
13	37	0,09	—	+ +	*2* (8) 10 (11) **12**
14	30	0,14	—	+ +	**2** **8** **10** **12** **13** 14 (15)
15	30	0,35	14	+	**7** 8 11 **12** 13 14
16	30	0,22	—	+ +	**7** **8** 10 11 **12** **13**
17	30	0,16	—	+ +	8 (9) (10) 12 13 14 (15) (16)
18	30—37	0,24	—	+	(2) (4) 8 (10) (11) **12** **13** **14**
19	37	0,35	(14)	—	(4) (5) (7) 8 (9) **10** **11** **12** **13** (14)
20	30	0,05	—	+ +	(2) (7) **8** (10) **11** **12** 14
21	30	0,27	(15)	+	(2) 7 8 9 **10** (11) **12** **13** (18)
22	37	0,13	—	+ +	8 9 **10** **11** **12** **13** **14**
23	37	0,20	—	—	*2* (10) **12** (14)
24	37	0,08	—	+ +	7 (8) (9) 10 **12** **13**
25	30—37	0,22	—	+ +	**8** **10** 11 **12** **13** **14**
26	42	0,11	—	±	**2** (7) 8 (10) 11 **12** **13** 14
27	37	0,36	10	+ +	(2) (8) (9) 10 **11** **12** **13** (14)
28	30	0,19		+ +	(2) (8) (9) (10) 11 12 (15)

29	37	0,25	(15)	—	(2)												
30	30	0,25	(15)	—				(6)	7	8		**10**	11	**12**	**13**	14	
31	37	0,10	—	++	**2**	(4)			**7**	8	**9**	**10**	(11)	**12**	**13**	14	
32	37	0,04	—	—	(2)							10		**12**	(13)		
33	30	0,38	(10)	++	**2**		(5)			8		(10)	(11)	**12**	13	**14**	
34	37	0,03	—	—									11	**12**		(14)	
35	30	0,15	—	++					7	8	**9**	**10**	**11**	**12**	**13**		
36	30	0,36	13	+	*2*				7	8	9	**10**		**12**	**13**	**14**	16 (17)
37	30	0,20	—	++					**7**	8		**10**	**11**	**12**	**13**		
38	37	0,13	—	++						**8**				**12**	13		
39	30—37	0,39	9	±					**7**	8	(9)	10		**12**	**13**	**14**	
40	37	0,09	—	++						8		**10**	(11)	**12**	13		(16)
41	30	0,00	—	—	**2**					8		(10)		**12**			

Stamm Nr.	Menge der gebildeten Säure in % bei:			
	30 °	37 °	42 °	45 °
2	0,18	0,21	0,21*	0,00
3	0,20	0,26	0,25*	0,05
5	0,13	0,29	0,27	0,10
6	0,38*	0,35*	0,13	0,00
7	0,35*	0,47*	0,30*	0,14
8	0,26	0,32*	0,29*	0,20*
9	0,19	0,23	0,25*	0,23*
10	0,36*	0,33*	0,18	0,00
11	0,20	0,29	0,34*	0,17
15	0,27	0,35*	0,30*	0,13
19	0,11	0,20	0,35*	0,10
21	0,20	0,26	0,27*	0,00
27	0,18	0,36*	0,30*	0,12
29	0,23	0,25	0,29*	0,01
30	0,22	0,25	0,25*	0,00
33	0,08	0,26	0,38*	0,17
36	0,32	0,36*	0,30*	0,06
39	0,30	0,39*	0,28*	0,00

* = Milch geronnen.

figeren Vergären von Saccharose und Raffinose unterscheiden. Das erstere war bei unseren Stämmen zwangsläufig der Fall, indem wir die Differenzierung an Hand dieses Kriteriums vornahmen. Saccharose, Raffinose oder irgend ein anderer Zucker, außer vielleicht Xylose, wurden keineswegs häufiger angegriffen als von der vorstehend beschriebenen Spezies. Das für frisch isolierte Betabakterien typische, lückenhafte Gärungssymbol war ebenfalls bei B b m. l o n g u m zu beobachten. Als konstantes Glied in der Reihe erwies sich einzig 12 (Maltose), also der gleiche Zucker wie bei B b m. b r e v e. Sehr oft fehlte anfänglich 7 (Fructose), die indessen bei längere Zeit auf künstlichen Nährsubstraten weitergezüchteten Stämmen zu den kräftig vergorenen Substanzen aufrückte. Derart «regenerierte» Vertreter von B b m. l o n g u m ergaben in der Folge das Gärungssymbol:

7 8 (9) **10** 11 **12** 13 14

d. h. mit Ausnahme von 3 (Arabinose), die aus den oben erwähnten Gründen fehlen muß, ist die «Zuckerreihe» identisch mit derjenigen

von Bbm. breve. Natürlich kamen auch bei Wiederholungen immer wieder Abweichungen vor, und zwar sowohl bei Bbm. breve als auch bei Bbm. longum, in dem Sinne, daß neben diesen Substanzen auch noch weitere gesäuert wurden, die Gärungsintensität bei den einzelnen Zuckern sich änderte oder, daß vereinzelte dieser Glieder ausfielen, um bei irgend einer späteren Prüfung plötzlich wieder zu erscheinen.

Die Nadelstichprobe ließ in den meisten Fällen eine kräftige bis sehr kräftige Gasbildung erkennen und ergab nur bei 4 Stämmen ein negatives Resultat.

c) Vergleichende Betrachtungen zwischen den Angaben von Orla-Jensen und unseren Befunden für die Gattung Betabacterium

Die Übergangsformen zwischen den echten und unechten Milchsäurebakterien umfassende Gattung Betabacterium Orla-Jensen stellt eine in sich geschlossene Organismengruppe dar, die sich sowohl von den ersteren als auch den letzteren scharf abtrennen läßt. Es scheint uns aber deswegen kein Bedürfnis vorzuliegen, sei es wissenschaftlicher oder praktischer Natur, aus ihnen eine selbständige Gattung aufzustellen. Zudem ist die Bezeichnung Betabacterium (Beta = Rübe) unbedingt irreführend, denn die damit gemeinten Stäbchen gehören sicher nicht zu einer für diese Wurzelfrüchte spezifischen Mikroflora. Sie zählten bei unseren Erhebungen zu den am häufigsten anzutreffenden Spaltpilzen und es ist wohl kaum anzunehmen, daß sie durch eine auf Rübenfütterung zurückzuführende Infektion der Milch in die Labmagen der Saugkälber gelangten.

Die von Orla-Jensen vorgenommene Unterteilung in die zwei Arten Bbm. breve und Bbm. longum scheint uns nicht nur in der Nomenklatur nicht zutreffend, sondern auch ungerechtfertigt. Eine eindeutig größere Länge der Zellen der Arabinose nicht vergärenden Stämme ist wie unsere Untersuchungen, diejenigen Baumanns (l. c. p. 41) sowie Karnicki und Dorners (l. c. p. 1093) ergaben, nicht in allen Fällen zu beobachten. Desgleichen traten die übrigen von Orla-Jensen aufgeführten artspezifischen Merkmale, insbesondere die der Optimal- und Maximaltemperaturen, nicht in klar erkennbarem Maße zu Tage. Eine Abspaltung einer

eigenen Spezies auf Grund eines einzigen Merkmales (Arabinosevergärung), welches zudem einen für die diagnostische Verwendung umstrittenen Wert besitzt, ist nicht zulässig. Sofern keine weiteren, von uns nicht erfaßten charakteristischen Kennzeichen für die beiden Arten vorliegen, möchten wir deren Trennung ablehnen.

F. Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse hinsichtlich der Artzugehörigkeit der isolierten Stämme

1. Um unsere Kenntnisse der Milchsäurebakterienflora frischer und gelagerter Kälberlabmagen zu erweitern, wurden ausgedehnte Erhebungen über die für die Emmentalerkäserei wichtigen Säuerungserreger vorgenommen. Als Bezugsquelle der zu prüfenden Bakterien dienten einerseits 20 im Schlachthof Zürich an frisch geschlachteten Kälbern enthobene, anderseits 20 aus dem Handel bezogene Labmagen.
2. Im Verlaufe einer längeren Zeit wurden insgesamt 181 Streptokokken und 344 stäbchenförmige Milchsäurebakterien isoliert, die auf Grund ihrer Eigenschaften wie folgt als Arten nach Orla-Jensen identifiziert werden konnten:

Sc. thermophilus	56 Stämme
Sc. lactis	36 Stämme
Sc. faecium	59 Stämme
Sc. glycerinaceus	27 Stämme
Sc. inulinaceus	3 Stämme
Tbm. helveticum	71 Stämme
Tbm. lactis	58 Stämme
Sbm. casei	9 Stämme
Sbm. plantarum	84 Stämme
Bbm. breve	81 Stämme
Bbm. longum	41 Stämme

3. Die Untersuchungsbefunde sprechen dafür, daß nicht alle der genannten Arten scharf voneinander zu trennen sind.
   Bei den Streptokokken ließen sich als deutlich zu umschreibende Arten Sc. thermophilus und Sc. inulinaceus erkennen, während zwischen den übrigen 3 Spezies Sc. lactis, Sc. faecium und Sc. glycerinaceus alle möglichen Zwischen-

und Übergangsformen festzustellen waren, sodaß eine sichere Bestimmung oft unmöglich war.

Von den Thermobakterien zeigten T b m. h e l v e t i c u m und T b m. l a c t i s bei mehreren Eigenschaften scharfe Abgrenzungen, welche eine einwandfreie Trennung der beiden Arten gestatteten. Übergangsformen konnten keine beobachtet werden.

Zwischen S b m. c a s e i und S b m. p l a n t a r u m traten die verschiedensten Übergänge auf welche die Grenzen zwischen den zwei Arten verwischten und es als wahrscheinlich erscheinen lassen, daß es sich bei den genannten Organismen um zwei Rassen oder Varietäten der gleichen Spezies handelt.

Die gleichen Erscheinungen zeigten sich bei den Betabakterien B b m. b r e v e und B b m. l o n g u m, welche wir als zwei Rassen derselben Art und nicht als zwei Arten einer Gattung auffassen.

4. Bei den vorliegenden Untersuchungen ist erneut die bekannte Eigentümlichkeit der Bakterien, Eigenschaften in einem gewissen Umfange verändern zu können, zu Tage getreten. Besonders machte sich diese bei den fermentativen Leistungen bemerkbar, indem von den Stämmen einer Art die einen die Vergärung eines bestimmten Zuckers zeigten, die andern aber dieselbe vermissen ließen; oder indem bei einem Stamm die Fähigkeit, einen bestimmten Zucker anzugreifen, verschwand und eventuell mit der Zeit durch das Gärungsvermögen gegenüber einer oder mehreren andern Substanzen der «Zuckerreihe» ersetzt wurde. Auf diese Weise kamen für ein und dieselbe Bakterienart die mannigfaltigsten Kombinationen von angreifbaren Kohlehydraten zustande, von denen die meisten einen inkonstanten Charakter aufwiesen.
5. In Anbetracht dessen ergibt sich, daß vom Gärungssymbol für diagnostische Zwecke nur mit großer Vorsicht Gebrauch gemacht werden kann. Durch volle Auswertung anderer, leichter festzustellender Eigenschaften kann von der Bestimmung desselben in den weitaus meisten Fällen Abstand genommen werden.
6. Obwohl das Gärungssymbol für diagnostische Zwecke nur einen bedingten Wert besitzt, gibt dessen Bestimmung für die Beurteilung dissoziativer Vorgänge bei den Milchsäurebakterien wertvolle Resultate.

IV. Der quantitative und qualitative Keimgehalt der untersuchten Labmagen

Die Untersuchungen Thönis (l. c. p. 216) hatten gezeigt, daß die einzelnen aus dem Handel bezogenen Kälberlabmagen bezüglich Menge und Arten der nachweisbaren Bakterien große Unterschiede aufweisen. Diese Erscheinung mag neben dem wechselnden Chymosingehalt ein Hauptgrund sein, daß der Praktiker zur Herstellung seines Käsereilabes nicht Material eines einzigen, sondern mehrerer Magen verwendet.

Die folgenden Erhebungen an einer größeren Anzahl frischer und gelagerter Labmagen sollte uns Aufschluß geben über die qualitative und quantitative Streuung der Mikroflora von frischem und zu Handelsware präpariertem Material.

A. Die Mikroflora der aus dem Handel bezogenen Magen

Die bei der nach den eingangs erwähnten Methoden vorgenommenen bakteriologischen Untersuchung von 20 aus dem Handel bezogenen Labmagen (10 schweizerischer und 10 polnischer Provenienz) erhaltenen Ergebnisse sind in der Tabelle 12 zusammengestellt (siehe Tabelle 12).

Aus den Resultaten geht hervor, daß die Menge der nachweisbaren Spaltpilze zwischen den einzelnen Proben sehr stark schwankt, von einigen Tausenden bei den Nrn. 1, 5, 10, 16 und 18 bis zu mehreren Millionen bei Nr. 11. Die Gründe hiefür liegen offenbar in erster Linie in der mehr oder weniger sorgfältigen Behandlung bei der Gewinnung und Präparierung (Berührung mit Blut und Inhalt des Darmes), im verschieden starken Entleeren der frisch enthobenen Magen, sowie in wechselnden Verhältnissen bei der Trocknung und Lagerung. Besonders die Colibakterien dürften in der Hauptsache auf unreinliche Behandlung der Magen zurückzuführen sein; zum Teil sind sie allerdings auch in frischen Magen immer anzutreffen. Ebenfalls auf Kontaktinfektion lassen die häufig vorzufindenden Kokken schließen. Auffallend war, daß wenn an der innern Magenwandung angetrocknete Haare beobachtet werden konnten (offenbar durch Belecken hineingeraten), der Gehalt an Kokken ein erhöhter war. Diese Befunde, welche besonders beim frischen Material zu Tage traten, erscheinen verständlich, wenn man bedenkt, daß diese

Tabelle 12

Ergebnisse der quantitativen Untersuchungen von 20 Labmagen des Handels Nr. 1—10 schweizerischer, Nr. 11—20 polnischer Provenienz

Keimgehalte pro Gramm lufttrockenen Magens

Nr.	Gußkulturen von Nähragar 30°		Peptonschottenagar hohe Schichtkulturen 37°	
	Gesamtkeimzahl	Nachweisbare Bakterienarten	Gesamtkeimzahl	Nachweisbare Bakterienarten
1	6 800	Bact. coli, Sporenbildner, Sc. lactis.	12 000	Bact. coli, Bbm. Breve, Sc. lactis, Sc. faecium.
2	38 000	Bact. coli, Sporenbildner, Sc. faecium, Sbm. plantarum.	29 000	Bact. coli, Tbm. lactis, Bbm. breve, Sc. faecium, Sc. lactis.
3	3 500 000	Bact. coli, Bact. fluorescens, Sporenbildner, Sc. faecium.	1 900 000	Bact. coli, Sc. faecium, Sc. lactis.
4	47 000	Bact. coli. Sporenbildner (wuchernd).	52 000	Bact. coli, Sbm. plantarum, Bbm. longum, Sc. lactis, Sc. glycerinaceus.
5	11 000	Bact. coli, Sc. faecium, Sporenbildner.	4 200	Bact. coli.
6	240 000	Bact. coli, Sporenbildner, Sc. lactis, Sc. faecium.	89 200	Bact. coli, Sc. lactis, Sc. faecium.
7	345 000	Bact. coli, Sporenbildner, Sarcina, Kokken.	238 000	Bact. coli, Sc. faecium, Sc. glycerinaceus.
8	47 000	Bact. coli, Kokken, Sc. lactis.	69 000	Bact. coli, Tbm. helveticum, Sc. faecium, Sc. lactis.
9	730 000	Bact. coli, Kokken, Sporenbildner.	365 000	Bact. coli, Sc. faecium, Sbm. plantarum.
10	9 300	Kokken, Sc. faecium, Sc. lactis.	10 500	Bbm. longum, Sc. lactis, Sc. faecium.
11	53 000 000	Bact. coli, Kokken, Sarcina.	22 000 000	Bact. coli.
12	134 000	Bact. coli, Kokken, Sc. lactis.	96 000	Bact. coli, Sc. lactis, Sc. faecium.
13	157 000	Bact. coli, Sporenbildner, Sc. lactis, Sc. faecium.	127 000	Bact. coli, Sc. lactis, Sc. faecium.
14	39 000	Bact. coli, Kokken, Bact. fluorescens, Sc. faecium.	19 000	Bact. coli, Sc. lactis, Sc. faecium.
15	4 700 000	Bact. coli, Sporenbildner.	467 000	Bact. coli, Sporenbildner.
16	8 000	Kokken, Sarcina, Sc. faecium.	3 500	Sc. faecium, Sc. lactis.
17	64 000	Bact. coli, Sporenbildner, Kokken, Sc. faecium.	44 000	Bact. coli, Sc. faecium, Sc. lactis.
18	16 000	Kokken, Sarcina, Sc. lactis, Sc. faecium.	7 200	Sc. lactis, Sc. faecium.
19	520 000	Bact. coli, Kokken, Sc., faecium, Sc. lactis.	287 000	Bact. coli, Sc. lactis, Sc. faecium.
20	57 000	Bact. coli, Sporenbildner, Sc. lactis.	61 000	Bact. coli, Bbm. breve, Sc. lactis. Sc. faecium.

Mikroorganismengruppe den Hauptanteil an der bakteriellen Flora des tierischen Haarkleides ausmacht. Auch die angetroffenen Sporenbildner verschiedenster Arten können auf diese Weise in die Labmagen gelangt sein, oder aber durch aufgenommenes Rauhfutter und Streuematerial, was unter Berücksichtigung der zu beobachtenden, an den Magenwandungen angetrockneten Pflanzenreste als wahrscheinlich erscheint.

Bei der Durchsicht der Kulturen ist man überrascht, die Milchsäurebakterien weitaus in der Minderzahl anzutreffen. In 5 Fällen konnten wir mit Hilfe der Gußkulturen überhaupt keine nachweisen (Nrn. 4, 7, 9, 11 und 15), bei den Nrn. 5, 11 und 15 suchten wir auch in den hohen Schichtkulturen vergeblich nach diesen Organismen. Nur sehr selten konnten unter Heranziehung dieser direkten Kulturen stäbchenförmige Milchsäurebakterien isoliert werden, Tbm. helveticum in einem, Tbm. lactis ebenfalls in einem, Sbm. plantarum in drei, Bbm. breve gleichfalls in 3 und Bbm. longum in zwei Fällen. Sicher waren diese Spaltpilze häufiger zugegen, nur konnten ihre Kolonien, soweit sie überhaupt welche zu entwickeln vermochten, infolge der ausgesprochenen Vorherrschaft von Bacterium coli nicht aufgefunden werden. Um vom zahlenmäßigen Auftreten der einzelnen Bakteriengruppen ein richtiges Bild zu erhalten, muß erwähnt werden, daß wir die in der Tabelle als nachweisbare Arten aufgeführten Spaltpilze nicht nur ab der zur Auszählung geeigneten Verdünnung, sondern im Falle der Milchsäurebakterien fast regelmäßig aus bedeutend tieferen isolierten. In der Zusammenstellung sind nur durch vereinzelte Kolonien vertretene, nicht den Milchsäurebakterien angehörende Arten nicht erwähnt.

B. Der Bakteriengehalt frischer Kälber-Labmagen

In unsere Untersuchungen wurden ebenfalls die Prüfungen von 20 im Schlachthof Zürich an frisch geschlachteten Kälbern enthobenen Labmagen einbezogen. Diese sollten einerseits Aufschluß geben über das Verhältnis von Milchsäure- zu Nichtmilchsäurebakterien und anderseits über den Anteil der einzelnen Milchsäurebakterienarten an deren Gesamtflora. Da die Herkunft und die Fütterung der Tiere nicht bekannt war, konnten wir nur durch Vermutungen jene

Kälber ausfindig machen, welche wahrscheinlich ausschließlich mit Milch ernährt worden waren. Zur Hauptsache mußten wir bei der Auswahl auf das geübte Metzgerauge des Schlächters abstellen. Mit Vorliebe entnahmen wir solche Magen, die durch Befühlen Milchklumpen als Hauptanteil ihres Inhaltes wahrnehmen ließen. Trotz dieser Vorsichtsmaßregeln zeigten fast alle anläßlich der sich unmittelbar anschließenden Untersuchung mehr oder weniger starke Verunreinigungen durch pflanzliches Material und insbesondere durch Haarbüschel, was sich jedesmal in einem erhöhten Anteil der Nichtmilchsäurebakterien an der Gesamtflora auswirkte.

Stellen wir die bei unseren Untersuchungen erhaltenen Resultate zusammen, so ergibt sich die in der Tabelle 13 aufgeführte Übersicht (siehe Tabelle 13).

Ähnlich wie bei den gelagerten Magen zeigten sich auch bei den frischen in quantitativer Hinsicht große Unterschiede in der Spaltpilzflora. Diese Differenzen sind einerseits auf das verschieden kräftige Ausstreifen des Mageninhaltes und anderseits auf dessen wechselnde Beschaffenheit zurückzuführen; so enthielten die meisten Magen neben mehr oder weniger pflanzlichem Material große Klumpen geronnener Milch, einige waren leer und in zwei Fällen konnte neben koagulierter Milch reichlich Getreidesuppe festgestellt werden. Wir streiften alle Magen aus, weil wir nur diejenige Flora erfassen wollten, welche auch bei der Präparierung zu Handelsware im Magen zurückgeblieben wäre.

In den meisten Fällen bildeten die Milchsäurebakterien in den Kulturen aus frischem Material den Hauptteil der Gesamtflora. Bacterium coli, verschiedene Sporenbildner und Kokken waren immer nur in den tieferen Verdünnungen zu beobachten, während die zum Auszählen in Frage kommenden Gußkulturen und hohen Schichten in der Regel nur Streptokokken und Milchsäurestäbchen erkennen ließen. Ab den Agarplatten isolierten wir in der Hauptsache Streptokokken, in einigen Fällen auch Streptobakterien; aus den hohen Schichtkulturen neben Streptokokken mehrheitlich Betabakterien. Zum gleichen Ergebnis gelangte Thöni (l. c. p. 195) bei der Untersuchung seiner beiden, ebenfalls von frisch geschlachteten Kälbern stammenden Labmagen Nrn. 16 und 17. Auch in diesen Fällen ließen die Mageninhalte nur geronnene Milch und keine Verunreinigungen erkennen und trotzdem bildete die Gattung Betabacterium neben den Streptokokken in den Kulturen den Hauptanteil der

Tabelle 13

Resultate der quantitativen Untersuchung von 20 Labmagen frisch geschlachteter Kälber

Keimmengen pro Gramm frischen Magens

Nr.	Gußkulturen von Nähragar 30°		Peptonschottenagar hohe Schichtkulturen 37°	
	Gesamtkeimzahl	Nachweisbare Bakterienarten	Gesamtkeimzahl	Nachweisbare Bakterienarten
1	190 000	Bact. coli, Kokken, Sc. faecium, Sc. lactis.	120 000	Bact. coli, Bbm. longum, Sc. faecium, Sc. lactis.
2	76 000	Bact. coli, Sc. lactis.	58 000	Bact. coli, Bbm. longum und breve, Sc. faecium.
3	380 000	Bact. coli, Sc. faecium.	280 000	Bact. coli, Sc. faecium, Sc. lactis.
4	43 000	Kokken, Sbm. plantarum, Sc. faecium.	280 000	Tbm. lactis, Sbm. plantarum, Sbm. breve, Sc. lactis.
5	480 000	Kokken, Bact. pyocianeum, Sporenbildner.	210 000	Bbm. breve und longum. Sc. glycerinaceus
6	240 000	Bact. coli, Sc. lactis, Sc. faecium.	68 000	Bbm. breve, Sc. thermophilus. Sc. lactis.
7	300 000	Gelbes Stäbchen, Sc. faecium.	45 000	Bbm. breve. Sc. faecium, Sc. lactis.
8	900 000	Sporenbildner, Sc. lactis, Sc. faecium.	620 000	Bbm. longum, Sc. lactis.
9	25 000 000	Bact. coli, Sc. lactis.	10 000 000	Bact. coli, Tbm. helveticum, Bbm. Breve, Sc. lactis.
10	410 000	Kokken, Sc. lactis, Sc. faecium.	110 000	Bbm. breve, Tbm. helveticum, Sc. faecium.
11	88 000	Sbm. plantarum, Sc. faecium.	60 000	Tbm. lactis. Sc. thermophilus, Sc. lactis.
12	74 000	Bact. coli, gelbes Stäbchen, Sc. lactis.	67 000	Bbm. longum, Sc. thermophilus, Sc. lactis.
13	1 900 000	Bact. coli, Sporenbildner.	420 000	Bact. coli, Bbm. breve, longum, Sc. faecium.
14	108 000	Sc. lactis, Kokken.	100 000	Tbm. helveticum. Sbm. casei, Bbm. breve, Sc. thermophilus, Sc. faecium.
15	350 000	Gelbes Stäbchen. Sarcina, Sc lactis.	190 000	Tbm. lactis, Bbm. longum, Sc. lactis.
16	67 000	Sc. faecium, Sc. glycerinaceus.	73 000	Bbm. breve, Sc. lactis, Sc. faecium.
17	4 400 000	Bact. coli, Sc. lactis.	3 200 000	Bact. coli, Tbm. lactis, Bbm. breve, Sc. thermophilus, Sc. lactis.
18	1 800 000	Gelbes Stäbchen, Kokken, Sc. faecium.	920 000	Sbm. plantarum, Bbm. breve und longum, Sc. faecium und lactis.
19	430 000	Sc. lactis und faecium.	540 000	Tbm. helveticum, Bbm. longum, Sc. thermophilus und faecium.
20	7 400 000	Bact. coli, Sc. faecium und lactis.	7 000 000	Bact. coli, Bbm. breve, Sc. faecium und latcis.

Flora. Diese Befunde sind insofern interessant, als Baumann (l. c. p. 47) beim Studium des Einflusses der Fütterung eines Kalbes auf die bakteriologische Zusammensetzung dessen Kotes, bei reiner Milchfütterung in letzterem nur Bacterium bifidum, Tbm. helveticum und Streptobakterien nachweisen konnte. Die Streptokokken und Betabakterien stellten sich erst bei einsetzender Verabreichung von Heu ein. Es scheint demnach, daß die Vertreter dieser beiden Gattungen erst bei Aufnahme von pflanzlichem Futter den Darm lebend passieren oder sich dort gar noch vermehren können. Neben den Betabakterien wurden auch die übrigen Milchsäurestäbchen von uns mehr oder weniger regelmäßig aufgefunden. Zu den ständig festzustellenden Organismen gehörte das Bacterium bifidum, das wir aber nicht weiter verfolgten.

Über die prozentuale Beteiligung der einzelnen Arten an der Gesamtflora können wir keine genauen Angaben machen, da allein die mikroskopische Prüfung aller Kolonien einer Verdünnung über unsere Arbeitskapazität hinausgegangen wäre. Bei der Isolierung der weiter zu prüfenden Stämme gingen wir so vor, daß wir aus den 5 bis 20 gut verteilte Kolonien aufweisenden Verdünnungen von den einzelnen Typen und von solchen Kolonien, die gleich aussahen, deren Zellen aber ein verschiedenes mikroskopisches Bild zeigten, zwei bis drei abimpften; ferner wurden auch aus dichter besetzten Kulturen irgendwie auffallende Kolonien zur weiteren Prüfung isoliert. Es ist deshalb ziemlich sicher, daß wir infolge dieses Vorgehens die Gesamtflora in qualitativer Hinsicht hin und wieder nicht restlos erfaßten.

C. Die mittels Anreicherungskulturen nachweisbaren Milchsäurebakterien

Mit Hilfe direkter Kulturen war es uns gelungen, sowohl aus den im Handel bezogenen als auch aus frischen Kälberlagmagen die für die Emmentalerkäserei wichtigen Milchsäurebakterien zu isolieren; bei den einzelnen Magen allerdings hin und wieder in sehr bescheidener Anzahl. Es schien uns deshalb von Interesse, zu untersuchen, ob die Milchsäurebakterienflora des einzelnen Magens im Stande wäre, die für die Käserei unerwünschten Colibakterien und Sporenbildner in Schotte als Nährflüssigkeit zu unterdrücken. Ma-

genschnitzel wurden zu diesem Zwecke in Stutzerfläschchen, enthaltend ca. 250 cc sterilisierter Schotte, gegeben und bei 30 und 37 °, in einigen Fällen bei 42 ° aufgestellt. Gleichzeitig wollten wir die Zahl der weiter zu untersuchenden Stämme unter Beiziehung dieser Anreicherungskulturen erhöhen. Zu diesem Behufe wurden aerobe und anaerobe Ausstrichkulturen nach Burri, sowie hohe Schichtkulturen aus den bebrüteten und in erforderlichem Grade verdünnten Schotten hergestellt und zu 30 resp. 37 ° gebracht. Da die Untersuchungen Thönis (l. c.) gezeigt hatten, daß sich während den ersten Stunden neben dem Bacterium coli die Streptokokken kräftig vermehren, die Langstäbchen dagegen erst nach Ablauf einer längeren Zeit in den Vordergrund treten, wurden unsere Labflüssigkeiten nach 12—36 Stunden und ein zweites Mal im Alter von 3—5 Tagen auf die erwähnten Kulturen verarbeitet. Die erstern sollten uns die Streptokokken, die letzteren besonders stäbchenförmige Milchsäurebakterien zu Tage fördern. Der genaue Zeitpunkt der Verarbeitung der Schotten wurde dabei immer durch das mikroskopische Bild gegeben.

In Anbetracht, daß die Herstellung von Lab einzig und allein den Zweck verfolgte, uns die Isolierung aller auf den Labmagen sitzenden Milchsäurebakterien zu ermöglichen, wurde auf Erhebungen über den Einfluß der verschiedenen Bebrütungstemperaturen auf die Vermehrung der einzelnen Gattungen und Arten sowie über den Verlauf der Säuerung (Geschwindigkeit und Intensität) verzichtet. Im folgenden sollen einzig einige Befunde allgemeiner Natur wiedergegeben werden.

Auf Grund des bei der bakteriologischen Untersuchung eines Labmagens erhaltenen Befundes läßt sich nicht ohne weiteres auf die bakteriologische Zusammensetzung und damit auf die Qualität des damit angesetzten Labes schließen. Magen, deren Spaltpilzfloren anscheinend gleichartig waren, ergaben einmal Schotten ohne oder mit nur unbedeutender Gasbildung von angenehm säuerlichem Geruch und Geschmack, in anderen Fällen dagegen trat eine derart intensive Gasproduktion ein, daß die Magenschnitzel schon nach wenigen Stunden an die Oberfläche gehoben wurden und an Stelle der angenehm säuerlich riechenden Labflüssigkeit eine stinkende Brühe entstand. Anläßlich unserer Untersuchungen konnten wir die Beobachtung machen, daß Magen mit großem Bakteriengehalt eher ein blähendes Lab ergaben als keimarme. Dieses Resultat ist nicht

verwunderlich, wenn man berücksichtigt, daß ein hoher Bakteriengehalt fast regelmäßig durch das starke Auftreten von Bacterium coli bedingt wird. Gärende Schotten waren bei 37 ° viel häufiger wahrzunehmen als bei 30 °, einer für die Colibakterien bereits ungünstigeren Temperatur, bei der sich dagegen die Mehrzahl der Streptokokken rasch zu vermehren vermag.

Die Tatsache, daß die Milchsäurebakterien bei den frischen Labmagen im Gegensatz zu den gelagerten den Hauptanteil an der Bakterienflora darstellten, hätte erwarten lassen, daß die damit gewonnenen Labflüssigkeiten weniger häufig Gasbildung zeigen würden. Unsere Beobachtungen ließen aber eher ein gegenteiliges Ergebnis erkennen, indem Schotten mit Schnitzeln solcher Magen versetzt, deren direkte Kulturen keine Keime von Bacterium coli hatten erkennen lassen, mehr oder weniger stark gärend wurden. Diese Befunde können durch die Annahme erklärt werden, daß von den auf den Handelsmagen eingetrockneten und in Schotte gebrachten Bakterien die Coliorganismen längere Zeit zur Wiedererlangung ihrer vollen Vitalität brauchen als die Milchsäurebakterien, speziell die Streptokokken. Bacterium coli aus frischen Magen ist dagegen voll lebensfähig, sodaß es sich neben oder sogar vor den Milchsäurebakterien vermehren kann, die anfängliche Milchsäurebildung dürfte sein Wachstum wenig hemmen, denn es stammt ja aus einem stark sauren Milieu (die von uns gemessenen Mageninhalte zeigten pH-Werte von 3,5—4,2). Dieselbe Erklärung mag auch für die Erscheinung Gültigkeit haben, daß ein Zusatz von Essigsäure (Kasol) bei frischen Magen weniger wirksam war als bei gelagerten, d. h. die Entwicklung von Colibakterien und damit eine Gasbildung in geringerem Maße zu unterdrücken vermochte.

Die mit frischen Magen beschickten Schotten zeigten bereits zu einem früheren Zeitpunkte große Mengen von Milchsäurestäbchen, als dies bei mit Magen des Handels hergestellten Labflüssigkeiten der Fall war. Diese Befunde lassen folgende Vermutungen aufkommen:

Anläßlich des Trocknungsprozesses geht ein großer Teil der Milchsäurestäbchen der Labmagen zugrunde. Die Überlebenden brauchen, in ein günstiges Nährsubstrat, z. B. Schotte, gebracht, eine gewisse Zeit, um sich von ihrem Schwächezustand, verursacht durch Austrocknung und hohe Salzkonzentration, zu erholen. Von den Colibakterien bleibt die Mehrzahl während der Zubereitung der Magen zu Handelsware am Leben, sie erleiden lediglich eine Schwächung,

welche beim Auftreten günstiger Existenzbedingungen (in Schotte) rasch überwunden werden kann. Die gleichen Betrachtungen dürften für die oft in großer Zahl anzutreffenden Kokken zutreffen. Die Streptokokken scheinen in dieser Beziehung eine Mittelstellung einzunehmen. Solche Verhältnisse würden erklären lassen, weshalb Colibakterien und Kokken bei gelagerten Labmagen den Hauptanteil der Mikroflora ausmachen.

Die Tabelle 14 zeigt die im allgemeinen vorgefundenen qualitativen bakteriologischen Zusammensetzungen der bei 30, 37 und 42 ° aufgestellten Schotten im Momente der beiden Probeentnahmen nach 12—36 Stunden resp. 3—5 Tagen (siehe Tabelle 14).

D. Zusammenfassung

1. Es wurden 20 frisch geschlachteten Tieren entnommene und 20 aus dem Handel bezogene, gelagerte Labmagen quantitativ und qualitativ auf ihre bakteriologische Zusammensetzung geprüft.
2. Sowohl frische wie präparierte Kälber-Labmagen zeigen in weiten Grenzen schwankende Keimmengen, von einigen Tausenden bis mehreren Millionen pro Gramm.
3. Während bei der Handelsware die milchwirtschaftlich schädlichen Colibakterien und die indifferenten Kokken den Hauptanteil an der gesamten Bakterienflora ausmachen, so zeigen frische Labmagen gerade das umgekehrte Verhältnis. In besonders geringer Zahl sind in gelagerten Magen die stäbchenförmigen Milchsäurebakterien nachzuweisen.
4. Es scheint, daß anläßlich der Präparierung der Labmagen die Mehrzahl der Milchsäurebakterien zugrunde geht, die indifferenten und schädlichen Mikroorganismen aber am Leben bleiben.
5. Im allgemeinen treten im angesetzten Lab die Milchsäurestäbchen erst nach 2—4 Tagen in den Vordergrund.
6. Bebrütungstemperaturen von 37 oder 42 ° ergeben häufiger gärende Schotten als eine solche von 30 °.
7. Trotzdem frische Labmagen prozentual ungleich mehr Milchsäurebakterien enthalten als gelagerte, geben sie doch eher ein blähendes Lab als die letzteren.

Tabelle 14 Aussehen und bakteriologische Zusammensetzung der bei 30, 37 und 42 ° C aufgestellten Schotten nach einer Bebrütungszeit von 12—36 Stunden, resp. 2—5 Tagen

Probeentnahme	30° C	37° C	42° C
1. Prüfung nach 12—36 Stunden	Magenschnitzel in der Regel am Boden. In vereinzelten Fällen schwache Gasbildung, wenig Magenmaterial an der Oberfläche. Das mikroskopische Präparat zeigt in der weit überwiegenden Mehrzahl Streptokokken. Isolierte Arten: immer Streptokokken, die geprüften Kolonien erwiesen sich als von Sc. faecium Sc. lactis, Sc. glycerinaceus herrührend; seltener Streptobakterien, Betabakterien; nie angetroffen Sc. thermophilus u. Thermobakterien.	Sehr häufig kräftige Gasbildung, bei einigen Proben starkes Schäumen, alle Magenschnitzel schwimmen oder schweben, schlechter Geruch. Unter dem Mikroskop beherrschen Kurzstäbchen (coli), teils beweglich, teils unbeweglich das Bild, daneben sind viele Streptokokken sichtbar. Isolierte Arten: Ständig Sc. faecium, Sc. lactis, Sc. glycerinaceus. Einzelne Stämme von Sc. thermophilus stammen aus diesen Proben. Häufiger als bei 30° C konnten Streptobakterien und besonders bereits Betabakterien gefunden werden.	Stark colihaltige Magen bedingen schon nach wenigen Stunden eine stürmische Gärung; besonders trifft dies bei frischem Material zu. Abgesehen von diesen Fällen ist hier der Zeitpunkt der Prüfung für das mikroskopische Bild stark ausschlaggebend. 12 Stunden alte Kulturen zeigten meistens fast nur Streptokokken (thermophilus), einzelne dagegen fast ausschließlich Stäbchen, sodaß hier der Zeitpunkt der Isolierung für die aufzufindenden Arten wie bei keiner andern Temperatur von ausschlaggebender Bedeutung war. Die meisten unserer Sc. thermophilus-Stämme stammen aus diesen Schotten, daneben wurden aber auch Sc. isoliert, die sich bei der späteren Prüfung als zu Sc. lactis und faecium gehörend erwiesen. Immer waren Thermobakterien, in der Regel Betabakterien anzutreffen.
2. Prüfung nach 2–5 Tagen	Bei den anfänglich wenig Gasbildung zeigenden Proben hat diese aufgehört, die wenigen an die Oberfläche gehobenen Schnitzel sind gewöhnlich wieder auf den Grund der Gefäße gesunken. Im mikroskopischen Bild zeigen sich nach 3 Tagen mehrheitlich noch Streptokokken, nach 4—5 Tagen dominieren die Stäbchen deutlich. Isolierte Arten nach 4—5 Tagen: häufig Thermobakterien, Betabakterien. Gelegentlich Sc. faecium, Sc. lactis, Sc. glycerinaceus; Streptobakterien, zu deren Isolierung sich die Schotten im Alter von 3 Tagen besser eigneten. Auch hier wurde Sc. thermophilus nie gefunden. Nach Ablauf von 4–5 Tagen entwickelte sich häufig eine Mycodermadecke	Wo sich zu Beginn Gasbildung gezeigt hatte, war diese nicht mehr bemerkbar. Bei den ganz schlechten Lab-Flüssigkeiten blieben die Magenschnitzel weiterhin an der Oberfläche. Einige zeigten unter dem Mikroskop eine nur spärliche Flora, wahrscheinlich wurde durch die Stoffwechselprodukte eine Entwicklung weiterer Organismen verunmöglicht. Diese Fälle sind in unseren Betrachtungen ausgelassen. Mikroskopisches Bild: In den meisten Fällen praktisch nur Stäbchen. Aufgefunden wurden immer Thermobakterien, in 3 Tage alten Kulturen häufig als einzige Gattung kulturell nachweisbar, Betabakterien. Streptobakterien und Streptokokken wurden nur mehr vereinzelt isoliert. In der Regel mußten hier 2—3 Tage alte Schotten verarbeitet werden.	Schotten, die bei dieser Temperatur 2 und mehr Tage bebrütet wurden, zeigten in den weitaus meisten Fällen im mikroskopischen Präparat nur Stäbchen. Auf den Kulturen entwickelten sich meistens nur Thermobakterien, vereinzelt auch Betabakterien, nicht nur longum, sondern auch breve, das nach Orla Jensen das Temperaturmaximum bei 38 ° C haben sollte! 4 oder 5 Tage altes Lab ergab fast immer Reinkulturen von Thermobakterien. Ueber die Verteilung der beiden Arten Tbm. helveticum und Tbm. lactis können wir keine Angaben machen, da auch hier nie alle Kolonien einer Kultur zur Weiteruntersuchung gelangen konnten.

V. Untersuchungen über Dissoziationserscheinungen in der Zuckerreihe

Die Fähigkeit der Bakterien, ihre Eigenschaften scheinbar plötzlich zu ändern, haben die Bakteriologen von jeher angeregt, sich mit dem Wesen dieser Erscheinung zu befassen, welche ja die Hauptursache für den unbefriedigenden Stand der bakteriologischen Systematik darstellt. Zur Erklärung dieses Phänomens wurden und werden auch heute noch verschiedene Ansichten geltend gemacht; auf der einen Seite stehen die Verfechter der Mutationstheorie und auf der andern diejenigen Forscher, welche diesen Begriff für die bakterielle Variabilität ablehnen.

A. Geschichtliches und der Begriff der Dissoziation

Neisser und Massini (45) zogen zur Erklärung des Auftretens einer neuen Eigenschaft bei einem Stamme von Bacterium coli (plötzliche Vergärung von Milchzucker, der sonst nicht angegriffen wurde) die von de Vries für höhere Pflanzen aufgestellte Mutationstheorie heran. Sie fanden bei ihrem Stamm die für den Begriff der Mutation geforderten Kriterien. Massini bemerkte:

«Das Auftreten der Knöpfchen (gemeint ist auf den Kolonien) erfolgt plötzlich. Die neu entstehende Varietät unterscheidet sich deutlich von der Ausgangskultur durch die neue Eigenschaft, Milchzucker unter Gasbildung zu zersetzen. Diese neu erworbene Eigenschaft ist sofort erblich und erhält sich auch meist unter abnormen, schädlichen Bedingungen.»

Über ähnliche Beobachtungen berichteten Burk (8), Sauerbeck (61), Müller (47) u. a. Der letztgenannte Forscher deutete das Verhalten seiner drei untersuchten Stämme von Bacterium coli gegenüber Milchzucker in Anlehnung an die Auffassung Massinis als Mutation im Sinne de Vries'. Er faßte seine Befunde wie folgt zusammen:

«Wir haben also bei dieser Mutation bestimmte chemische Stoffe als Reagentien auf gewisse Bakterien und umgekehrt. Für die Biologie aber dürfte es von hervorragender Bedeutung sein, daß es mit der Sicherheit einer chemischen Reaktion gelingt, zahlreichen Lebewesen künstlich eine ganz bestimmte neue Eigenschaft hinzuzufügen, die dann vererbt wird und in unabsehbaren Generationen konstant bleibt.»

Burri und Düggeli (12) fanden bei der Untersuchung von

coli-Stämmen aus gärendem Grase die Abspaltung von Saccharose vergärenden Rassen aus solchen, die dieses Kohlehydrat nicht angriffen. Die neue Eigenschaft erwies sich als konstant, weshalb auch diese Autoren den Vorgang als Mutation bezeichneten.

Sauerbeck (l. c.) sah im Verhalten des von Neisser und Massini beschriebenen coli-Stammes eine dauernde Artneubildung, die nach de Vries als Mutation anzusehen sei.

Sobernheim und Seligmann (63) berichteten von einem typhusähnlichen Organismus, auf dessen Kolonien sich knopfartige Sekundärkolonien bildeten, deren Zellen den Milchzucker vergoren haben, während den Individuen der Mutterkolonie diese Fähigkeit fehlte. Diese Erscheinung wurde von den beiden Forschern als Mutation angesprochen.

Zur selben Zeit machte Müller (48) weitere Beobachtungen auf dem Gebiete der bakteriellen Mutation. Von einwandfreien Typhusbakterien wurden aus den sich in der Mitte einer Kolonie bildenden Tochterkolonien Zellen isoliert, welche sich in der Folge als typische Paratyphus B-Bakterien erwiesen. Der genannte Autor nahm deshalb an, daß die Paratyphusbakterien aus Typhusbakterien durch Mutation entstanden sind.

In den bis jetzt aufgeführten Fällen handelte es sich um als Mutationen gedeutete Erscheinungen, bei denen eine Anzahl von Zellen eines Bakterienstammes scheinbar plötzlich die Fähigkeit gegannen, ein neues Kohlehydrat, meistens Milchzucker, zu zersetzen. In der Folge wurden dann auch andere Vorgänge, bei welchen Bakterien neue Eigenschaften erkennen ließen, ebenfalls als Mutationen bezeichnet.

So nannte Ehrlich (23) Mutation das plötzliche Auftreten der Serum- und Chemofestigkeit bei Parasiten.

Mühlmann (46) orientierte über beobachtete Mutationserscheinungen bei Dysenteriebakterien, welche durch längere Übertragung in Bouillon mit allmählich steigendem Alkaligehalt ganz neue Eigenschaften zeigten und coliähnlich, sogar geißelntragend wurden. Die letztere Umwandlung wurde allerdings von anderen Bakteriologen entschieden in Abrede gestellt.

Über weitere als Mutation gedeutete Frscheinungen bei verschiedenen pathogenen Mikroorganismen berichtete ferner Baerthlein (2) (3). Scharf abgrenzbare verschiedene Typen von Kolonien, aus ein und demselben Stamm entstanden, ließen sich monatelang

weiterzüchten. Den Unterschieden in der Kolonieform entsprachen in hohem Maße morphologische Unterschiede in den die einzelnen Kolonien zusammensetzenden Zellen, welche bei Passagen durch andere Nährböden und selbst den Tierkörper erhalten blieben. Diese Abweichungen im kulturellen und mikroskopischen Aussehen wurden als Mutationen im Sinne de Vries' angesprochen, weil sie nach Angaben des Autors erstens plötzlich, sprunghaft, ohne Übergänge auftraten, und zweitens ausgesprochen konstant, d. h. erblich waren. Die Deutung solcher Vorgänge als Variation scheint dem Verfasser nicht richtig, da letztere in einer meist langsamen Anpassung an Umweltsbedingungen besteht. Sie ist im Gegensatz zur Mutation inkonstant und verschwindet beim Wegfall der sie auslösenden Einflüsse. Er teilte aus diesen Gründen die Variationsvorgänge bei Bakterien in zwei Gruppen ein.

1. in Modifikationen, d. h. Veränderungen von nicht erblicher Konstanz, also vorübergehender Natur, die rasch wieder verschwinden, sobald die sie auslösenden Ursachen wie Ernährungsverhältnisse, Temperatur, Salzgehalt u. a. wegfallen. Diese rasch wieder abklingenden Veränderungen sind wenig tiefgreifend.
2. in sogenannte Mutationen, d. h. mehr oder weniger erblich fixierte, tiefgreifende Veränderungen, welche für die Diagnostik von großer Wichtigkeit sind und die erst dann zustande kommen, wenn Bakterien aus schlechten Existenzbedingungen plötzlich in neue, günstige Lebensverhältnisse gebracht werden, wo sie sich reichlich entwickeln können.

Neben diesen Forschern u. a., welche die scheinbar plötzlich ändernden Eigenschaften bei Bakterien als Mutation im Sinne de Vries' deuteten, erhoben sich schon nach den ersten mit diesen Vorgängen sich befassenden Veröffentlichungen Stimmen, welche den Begriff der Mutation für diese Befunde ablehnten.

Reichenbach (55) betonte, daß die Mutationen höherer Pflanzen richtungslos verlaufen, ein Charakteristikum, welches bei den Bakterien vermißt wird. Zudem sei es unmöglich zu entscheiden, ob eine Veränderung der Eigenschaften plötzlich oder allmählich vor sich geht, indem zwischen Ausgangsindividuum und Mutant eine große Zahl von Generationen liegt.

In ähnlichem Sinne erklärte sich Benecke (5) nicht einverstanden, die Befunde Müllers als Mutationserscheinungen anzu-

erkennen, weil die Richtungslosigkeit der Vorgänge fehlt, sondern im Gegenteil sich die Veränderungen durch bestimmte Zusätze zum Nährsubstrat mit Sicherheit hervorbringen lassen. Der Autor neigte deshalb zur Auffassung, daß es sich um Anpassung an bestimmte Stoffe handelt.

Kruse (39) wies darauf hin, daß die untersuchten mutierenden Stämme meistens aus Fäces, Urin oder überhaupt nach dem Durchgang durch den tierischen Körper isoliert wurden. Da eine solche Passage das Gärungsvermögen beträchtlich herabsetzen kann, so betrachtete er diese scheinbar plötzlichen Veränderungen als Rückschlag, d. h. als Wiedererwerbung einer einst besessenen, aber verloren gegangenen Eigenschaft und nicht als Gewinn einer neuen.

Pringsheim (54) verwarf die Bezeichnung Mutation vollständig und bezeichnete diese Erscheinungen als funktionelle Anpassungen.

Der Glaube an die Mutation bei Bakterien wurde aber vor allem von Burri (10) zerstört, indem er an Hand einer Reihe von Experimenten Licht in das Wesen dieser Vorgänge brachte. Die Versuche beziehen sich auf das scheinbar plötzliche Auftreten der Fähigkeit eines coli-Stammes, einen neuen Zucker, Saccharose, zu vergären.

Damit seine Befunde richtig beurteilt werden können, seien die Bedingungen kurz erwähnt, welche nach de Vries erfüllt sein müssen, damit beim Auftreten einer neuen Eigenschaft bei einer Pflanze von Mutation gesprochen werden darf.

1. müssen in einer Folge von Generationen zu irgend einer Zeit ein oder mehrere Individuen auftreten, welche eine Eigenschaft aufweisen die dem Ausgangsstamm nicht zukam und die sprunghaft, d. h. ohne Übergänge in der neuen Generation auftritt.

2. findet sich die neue Eigenschaft nicht bei allen Individuen der neuen Generation, sondern nur bei 1—3 % derselben.

3. muß das Auftreten der neuen Eigenschaft ohne äußere Ursache, also unbeeinflußt und richtungslos verlaufen.

4. muß die neue Eigenschaft konstant, d. h. erblich sein.

Ohne auf Technik und Methodik der Versuche Burris einzutreten, seien die Befunde in Kürze wiedergegeben.

Ein erster Versuch zeigte, daß die Zellen des untersuchten coli-Stammes je nach der Bebrütungsdauer in saccharosehaltiger Bouillon durch den Einfluß dieses Zuckers verschieden stark erregt wur-

den, d. h. nach verschieden langer Bebrütungszeit auf ein neues Rohrzucker haltiges Substrat gebracht, denselben verschieden rasch zersetzten. Je länger die Bebrütung in der Saccharosebouillon vor der Überimpfung dauerte, desto rascher wurde im frischen Nährboden der Rohrzucker angegriffen, wie die folgende Aufstellung zeigt.

Bebrütungsdauer in Saccharosebouillon:	Gasbildung in Saccharoseagar-Schüttelkultur nach:
1 Tag	4 Tagen
2 Tag	3 Tagen
3 Tag	1 Tag

Das Gärungsvermögen wird also allmählich, nach Tagen und unzähligen Generationen und nicht sprunghaft erworben. Ferner zeigte sich, daß nicht nur das volle, sondern auch das partielle Gärungsvermögen erblich ist.

Was die Zahl der Mutanten anbelangt, so ergab ein weiterer Versuch Burris, daß unter günstigen Entwicklungsbedingungen 100 % der Zellen die neue Fähigkeit, Saccharose zu zersetzen, erwerben konnten.

Burri schloß aus diesen Ergebnissen, daß es sich nicht um Mutation, um das Auftreten einer neuen Eigenschaft, sondern um die Entwicklung einer schon latent vorhandenen Fähigkeit handelt. Das Vorhandensein einer solchen latenten, unwirksamen Vorstufe des Gärungsvermögens nimmt der Autor an, weil er sonst nicht erklären könnte, warum nur einzelne Bakterien ein Kohlehydrat vergären, welches andere Spaltpilze derselben Gruppe niemals anzugreifen vermögen.

Bei der Herkunft eines neuen Gärvermögens könnte es sich um die Wiedererlangung einer früher einst besessenen, aber verloren gegangenen Eigenschaft, also um einen Rückschlag im Sinne Kruses handeln. In gewissen Fällen mag dies zutreffen. Im allgemeinen aber halten Pringsheim und Burri diese Annahme für unwahrscheinlich, da nicht anzunehmen ist, daß z. B. Typhusbakterien, die sich zu Rhamnose verhalten wie Burris coli-Stamm zu Saccharose, jemals bei ihrem natürlichen Vorkommen diesen seltenen Zukker zur Verfügung hatten. Deshalb nimmt Burri an, daß die erwähnten Erscheinungen so zu erklären sind, daß ein Bacterium zum ersten Mal unter sonst optimalen Verhältnissen auf einen Stoff stößt, dessen Verwertung im Bereiche seiner Fähigkeit liegt. Die Keime müssen eine neue Funktion ausüben, vermögen aber erst im Verlaufe

einer Reihe von Generationen die Enzymproduktion derart zu entwickeln, daß sie zu typischen Vergärern des neuen Zuckers werden. Der Prozeß verläuft nach Burri zu schnell, um als Anpassung gedeutet werden zu können, zudem spricht die Erblichkeit dagegen.

Klein (36) hat zu gleicher Zeit wie Burri ebenfalls an Colibakterien Untersuchungen in dieser Richtung angestellt. Er konnte die Befunde des letztgenannten Autors bestätigen. Bei seinen Versuchen machte er die interessante Feststellung, daß zur Ausbildung einer neuen Fähigkeit Vermehrung nötig ist, ohne diese bleibt ein Zucker ohne Einfluß auf die Bakterien. Ferner machte er darauf aufmerksam, daß die Erblichkeit der neuen Eigenschaften nicht so betont ist wie bei höheren Pflanzen, indem sie bei zwei seiner Stämme leicht verloren ging, sobald der betreffende Zucker nicht mehr einwirkte; anderseits können auch Anpassungszustände, z. B. an Gifte konstant, d. h. erblich sein.

In zwei Arbeiten neueren Datums versuchten Lewis (42) und Kristensen (38) die Folgerungen Burris als Trugschlüsse hinzustellen. Beide sind in Anlehnung an Neisser und Massini der Auffassung, daß es sich bei den Variationserscheinungen bei Bakterien um Mutation handelt, da diese sprunghaft vor sich gehen, wobei nur sehr wenige Zellen die neue Eigenschaft zeigen.

Englische und amerikanische Forscher haben dann in der Folge für die bakterielle Variabilität den Begriff der Dissoziation eingeführt und sind damit einer alten Forderung Lehmanns (41) nachgekommen, den vieldeutigen Ausdruck Mutation in der Bakteriologie ganz fallen zu lassen.

Allerdings sind wir dadurch dem Wesen dieser Veränderungen nicht näher gekommen, sondern müssen uns nach wie vor mit der einen oder anderen Hypothese begnügen. Pringsheim (54) dürfte nicht ganz unrecht haben, wenn er sagt:

«Ob niedere Organismen noch jetzt das Vermögen, nicht arteigene Fermente zu produzieren, erwerben können, muß immer eine Sache des Glaubens bleiben. Aber sie erscheint möglich, ja wahrscheinlich.»

Unter Dissoziation versteht man also allgemein das Vermögen von Bakterien und anderen Mikroorganismen, ihre Eigenschaften in einem gewissen Umfange und mit einer gewissen Plötzlichkeit zu ändern. Über die Gründe solcher Vorgänge können gewöhnlich nur Mutmaßungen angestellt werden. Was wir sicher wissen, ist, daß wir in den meisten Fällen nicht wissen, ob es sich um Degeneration, Re-

generation, Adaption oder die elektive bezw. stimulierende Wirkung gewisser Stoffe des Nährsubstrates handelt.

Das Studium der bakteriellen Dissoziation ist nicht nur an und für sich interessant, sondern für die Beurteilung des Wertes einer Eigenschaft zur diagnostischen Verwendung von großer Bedeutung. Ferner kann nur bei Kenntnis der Dissoziationsbreite der einzelnen Merkmale beurteilt werden, ob eine scheinbar neue, noch nicht beschriebene Art nicht nur eine innerhalb der Schwankungsgrenzen einer bereits bekannten Spezies liegende Unterart, Varietät oder Rasse darstellt.

Schon Baerthlein (3) hat auf diese Bedeutung und Möglichkeit hingewiesen. Seine Untersuchungsbefunde bei Bacterium pneumoniae Friedländer, Bacterium acidi lactici, Bacterium aerogenes und gewissen Kokken zeigten, daß die Überführung einer «Kleinart» in eine andere gelingt. Die bakterielle Variation kann aber selbst die Artgrenzen überspringen, wie die Umwandlung von echten Paratyphus B-Bakterien in Typhuskeime erkennen ließ. Dadurch sinken bisher als selbständig geltende, nahe verwandte Bakterienarten zu Varietäten oder Unterarten einer einzigen, weiter zu begrenzenden Art herab.

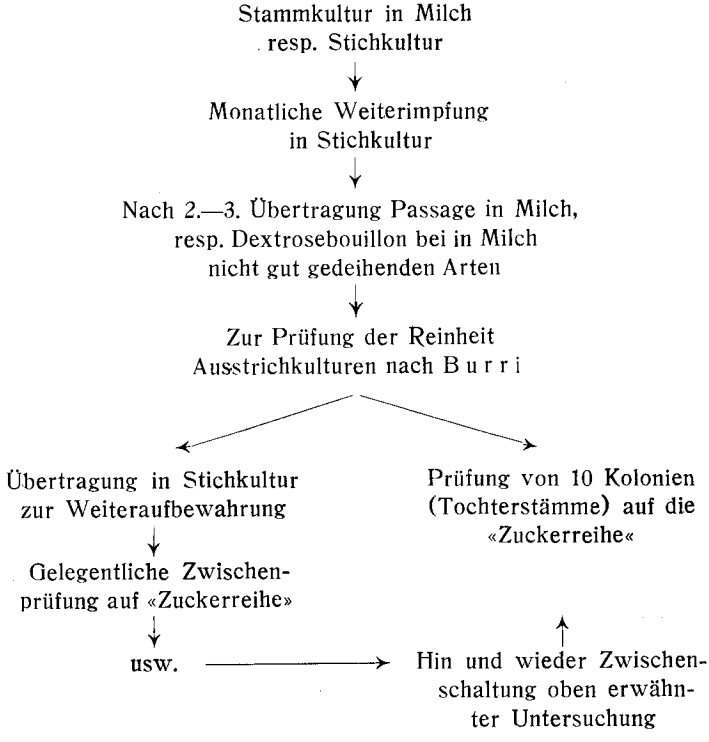
B. Dissoziationsformen der «Zuckerreihe»

Die in der Literatur für die Orla-Jensenschen Milchsäurebakterienarten anzutreffenden Synonyme zeigen deutlich, daß die früher beschriebenen Spezies häufig nur verschiedene Dissoziationsformen ein und derselben Art darstellten. Die Untersuchungen Demeters (l. c.), Baumanns (l. c.), Karnicki und Dorners (l. c.) u. a. sowie die unserigen ließen vermuten, daß auch nicht allen der von Orla-Jensen umschriebenen Milchsäurebakterienarten, die für eine selbständige Spezies zu fordernden Kriterien zukommen, sondern in gewissen Fällen nur Varietäten darstellen. Diese Vermutung wurde durch die Unsicherheit, mit welcher diese Autoren die Klassifizierung häufig vornehmen mußten, noch bekräftigt.

Da eine der Hauptaufgaben unserer Arbeit darin bestand, die Verwendbarkeit der von Orla-Jensen zu einem Merkmal von besonderer Bedeutung erhobenen Zuckerreihe zu diagnostischen

Zwecken zu prüfen, hielten wir es für unerläßlich, Erhebungen über die Streuung dieser Eigenschaft, d. h. über die Dissoziationsbreite anzustellen.

Zu diesem Zwecke wurden von einigen Arten je ein oder zwei Stämme herausgegriffen und periodisch auf den Ausfall der Zuckerreihe geprüft. Und zwar wurde nicht nur der ständig weitergezüchtete Stamm zu verschiedenen Zeiten untersucht, sondern durch Aussaat desselben in Ausstrichkulturen nach Burri wurden gelegentlich Tochterstämme gewonnen, von denen 10 ebenfalls auf das Verhalten gegenüber den 18 Zuckern nach Orla-Jensen geprüft wurden. Es ergab sich somit für diese Experimente folgender Plan:



Dabei wäre es wünschenswert gewesen, diese Experimente auf eine größere Anzahl von Stämmen auszudehnen und in kürzeren Zeitabständen zu wiederholen, sodann nicht nur 10, sondern 20 oder noch mehr Tochterstämme zu untersuchen. Material- und Zeitaufwand werden bei solchen Untersuchungen aber bald gewaltig, sodaß

letzterer unsere Möglichkeiten überstiegen hätte und wir aus diesem Grunde den Umfang der Prüfungen in bescheidenerem Rahmen halten mußten.

a) Die Befunde bei Streptococcus thermophilus

Die am 15. April 1939 in frisch isoliertem Zustande zum ersten Mal auf die Zuckerreihe geprüften Stämme Nrn. *2* und 5 wurden für das Studium der Dissoziationsvorgänge ausgewählt. Diese beiden Organismen schienen uns von besonderem Interesse zu sein, weil Nr. 5 mit Ausnahme von geringen Abweichungen in der Intensität, mit welcher die einzelnen Substanzen angegriffen wurden, mit den meisten der von Orla-Jensen beschriebenen Stämme von Sc. thermophilus im Gärungssymbol identisch war; Nr. *2* dagegen vergärte weniger Zuckerarten in bemerkenswertem Maße und zeigte in dieser Beziehung mehr Ähnlichkeit mit der Mehrzahl der uns später bekannt gewordenen von Burri und Elser (l. c.) aus Emmentalerkäse und Käsereihülfsstoffen isolierten thermophilus-Stämme.

Die Untersuchung der frisch reingezüchteten Stämme ergab am 15. April 1939 die in der Tabelle 1 (Seite *28*) aufgeführten Symbole:

Stamm Nr. *2*	(3)	(6)	**7**	**8**	(9)			**11**				**13**	
Stamm Nr. 5			**7**	**8**	(9)	**10**	**11**	*12*	**13**				

Die in der Zwischenzeit in Milch weitergezüchteten Stämme wurden am *27.* desselben Monates erneut geprüft, wobei folgende Bilder resultierten:

Stamm Nr. *2*			**7**	**8**	(9)			**11**				**13**	
Stamm Nr. 5			**7**	**8**	9	10	**11**	*12*	**13**				

d. h. es waren keine tiefgreifenden Veränderungen wahrzunehmen. Bei Stamm Nr. *2* waren die anläßlich der ersten Prüfung schwach vergorenen Glieder 3 (Arabinose) und 6 (Mannit) ausgefallen, die Vergärung von 7 (Fructose) hatte an Intensität gewonnen. Stamm Nr. 5 zeigte ein ausgeprägteres Gärungsvermögen für 9 (Mannose), ein schwächer gewordenes für 10 (Galactose). Interessant ist, daß bei beiden Stämmen die kräftig gesäuerten Substanzen die gleichen waren.

Milchkulturen, am 19. Juni 1939 auf die Zuckerreihe verarbeitet, zeitigten folgende Gärungssymbole:

Stamm Nr. *2*	**7**	**8**				**11**		**13**
Stamm Nr. 5	**7**	**8**	9	(10)		**11**		**13**

Der Stamm Nr. *2* zeigte also ein weiter vereinfachtes Bild, welches nur noch 4 Glieder aufwies und somit mit Ausnahme der etwas schwächeren Vergärung von 7 genau mit dem von Burri und Elser (l. c.) sowie von Bergey (l. c.) für Sc. thermophilus angegebenen «Normalsymbol» übereinstimmte. Stamm Nr. 5 hatte das Vermögen 12 anzugreifen verloren, 10 wurde nurmehr schwach zersetzt.

Aus den gleichen Milchkulturen wurden durch Aussat in Ausstrichkulturen von Peptonschottenagar je 10 Tochterstämme gewonnen und derselben Prüfung unterworfen, wobei folgende Ergebnisse erzielt wurden:

Stamm No. *2*	9 Kolonien	**7**	**8**			**11**				**13**
	1 Kolonie	**7**	**8**	9		**11**				**13**
Stamm Nr. 5	7 Kolonien	**7**	**8**			**11**		*12*		**13**
	2 Kolonien	**7**	**8**	9		**11**				**13**
	1 Kolonie	**7**	**8**	(9)	10	**11**		(12)		**13**

Diese interessanten Resultate lassen erkennen, daß die Zellen des Stammes Nr. *2* eine ziemliche Stabilität, d. h. eine relativ schwache Dissoziationstendenz aufwiesen, indem 9 von 10 Kolonien erneut das viergliederige Symbol lieferten. Eine Kolonie ließ das Symbol vom 27. April wiedererkennen. Mit besonderer Befriedigung nahmen wir die Ergebnisse bei Stamm Nr. 5 zur Kenntnis, zeigten doch *2* Nachkommen mit **7 8 9 11 13** dasselbe Symbol wie einer vom Stamm Nr. *2*. Dadurch erwiesen sich diese beiden Stämme trotz anfänglicher Abweichungen nun auch in diesem Merkmal als identisch. Die Befunde für die Mehrzahl der Tochterstämme waren insofern beachtenswert, als die Glieder 9 und 10 fehlten, dagegen 12 plötzlich wieder gesäuert wurde, nachdem anläßlich der Prüfung des Mutterstammes die beiden erstern vergoren, *12* dagegen nicht angegriffen worden waren. Das der letzten Kolonie zukommende Gärungssymbol erinnerte an das bei der ersten Untersuchung erhaltene und zeigte gegenüber jenem nur Unterschiede in der Intensität, mit welcher die einzelnen Stoffe angegriffen wurden.

In Erwartung einer bevorstehenden Mobilmachung der Armee übertrugen wir im Monat August alle unsere Stämme, welche bis anhin in Magermilch weitergezüchtet worden waren, in Stichkulturen von Kaseinagar nach Orla-Jensen, was an Stelle einer wöchentlichen eine monatliche Weiterimpfung gestattete.

Infolge des Aktivdienstes konnten die nächsten Prüfungen erst Mitte Dezember 1940 vorgenommen werden, zu welchem Zeitpunkt die folgenden Symbole festgestellt wurden:

Stamm Nr. *2*	**7**	**8**	**11**		**13**
Stamm Nr. 5	**7**	**8**	**11**	*12*	**13**

Der Stamm Nr. *2* hatte also wieder dieselben vier Glieder erkennen lassen wir anläßlich der dritten Prüfung. Der Stamm Nr. 5 hatte bei der letzten, mehr als ein Jahr zurückliegenden Untersuchung das Symbol **7 8** 9 (10) **11 13,** dessen Tochterstämme dagegen bereits damals mehrheitlich die Glieder **7 8 11** *12* **13** geliefert, sodaß auch dieser Stamm seine fermentativen Fähigkeiten während der langen Aufbewahrungszeit im großen ganzen beibehalten hatte.

Der letzte Versuch mit den beiden thermophilus-Stämmen wurde im Mai 1941 angestellt, wobei wir wiederum je 10 Tochterstämme gewannen, welche wie gewohnt zuerst in Milch geimpft, die innert 24 Stunden gerann, und dann der Prüfung in den 18 Zukkernährlösungen unterzogen wurden. Die gefundenen Gärungssymbole finden sich in der folgenden Zusammenstellung:

Stamm Nr. *2*	7 Kolonien	**7**	**8**			**11**		**13**
	2 Kolonien	**7**	**8**		(10)	**11**		**13**
	1 Kolonie		**8**		(10)	**11**		**13**
Stamm Nr. 5	8 Kolonien	**7**	**8**			**11**	*12*	**13**
	2 Kolonien	**7**	**8**	9		**11**	*12*	**13**

Diese Befunde lassen erkennen, daß der Stamm Nr. *2* in der Mehrzahl aus Individuen zusammengesetzt war, welche das bereits bekannte kurze, typische Symbol lieferten, daß aber offenbar andere auf dem Wege der Dissoziation teils ehemalige Gärvermögen verloren, teils neue gewonnen hatten; so ließen 3 Nachkommen erstmals die Säuerung von 10 (Galactose) erkennen, einer war nicht mehr im Stande, 7 (Fructose) anzugreifen. Beim Stamm Nr. 5 ist bemerkenswert, daß bei dieser letzten Prüfung alle Kolonien (Töch-

ter) 12 (Maltose) vergoren und zwei in dem Sinne rückfällig wurden, daß sie wieder 9 (Mannose) mittelstark zu säuern vermochten.

Zur besseren Veranschaulichung der bei Sc. thermophilus vorgefundenen Dissoziationsformen lassen wir eine Zusammenstellung der Befunde folgen, wobei unter den einzelnen Untersuchungsdaten alle, auch die nur von einzelnen Tochterstämmen gelieferten Gärungssymbole aufgeführt sind.

Datum	Stamm Nr. 2	Stamm Nr. 5
15. IV. 39	(3) (6) 7 8 (9) **11 13**	7 8 (9) **10 11** 12 **13**
27. VI. 39	7 8 (9) **11 13**	7 8 9 10 **11** 12 **13**
19. VI. 39	7 8 **11 13**	7 8 9 (10) **11** **13**
	7 8 9 **11 13**	7 8 **11** 12 **13**
		7 8 9 **11** **13**
		7 8 (9) 10 **11** (12) **13**
XII. 40	7 8 **11 13**	7 8 **11** 12 **13**
V. 41	7 8 **11 13**	7 8 **11** 12 **13**
	7 8 (10) **11 13**	7 8 9 **11** 12 **13**
	8 (10) **11 13**	

Die bei diesen Experimenten erhaltenen Resultate besagen, daß

1. die beiden thermophilus-Stämme Nrn. 2 und 5, welche anläßlich der ersten Prüfung unmittelbar nach der Isolierung in der «Zuckerreihe» nicht unbedeutende Unterschiede aufwiesen, Dissoziationsformen abspalten ließen, welche die differierenden Eigenschaften zum verschwinden brachten, indem die Untersuchung vom 19. Juni 1939 bei beiden Stämmen Tochterstämme zu Tage treten ließ, die das gemeinsame Symbol 7 8 9 11 13 lieferten.

2. das Gärungssymbol keinen festen Wert darstellt und somit bei der Unmenge von möglichen Dissoziationsformen nicht erwartet werden kann, daß bei der Prüfung verschiedener Stämme übereinstimmende Ergebnisse erhalten werden.

Die zu beobachtenden Schwankungen können, wie Burri (9) fand, noch bedeutend größer sein. Dieser Forscher hatte unter anderem auch Tochterstämme aus Zuckerreihengläschen gewonnen und bei deren Prüfung ganz extreme Gärungssymbole erhalten. so wies z. B. sein «sehr langer Typus D» die folgenden Glieder auf:

7 8 9 10 11 12 13 14 15 18

Sind die Abweichungen in der Zuckerreihe zwischen Stämmen gleicher Herkunft, die immer gleich behandelt wurden, schon derart groß, so muß erwartet werden, daß bei solchen verschiedenen Ursprungs die Differenzen noch bedeutendere sein können.

b) Dissoziationsvorgänge bei Streptococcus lactis

Anläßlich der ersten Prüfung einer Reihe frisch isolierter Stämme am 14. Mai 1939 schienen uns die Nrn. *21* und *22* geeignet, bei weiterer Verfolgung Aufschluß über die Variabilität von Sc. lactis in der Zuckerreihe geben zu können. Nr. *21* zeichnete sich dadurch aus, daß er ein aus nicht weniger als 14 Gliedern bestehendes Symbol aufwies, welches eher für Sc. faecium gesprochen hätte:

(2) 3 5 **6** **7** **8** **9** **10** 11 **12** **13** 14 **16** **18**

Stamm Nr. *22* entsprach in dieser Eigenschaft einem typischen Vertreter von Sc. lactis Orla-Jensen:

1 (3) **7** **8** **9** **10** **12** **13** 16 18

14 Tage später, am 25. Mai 1939, wurden die Milchkulturen erneut auf die Zuckerreihe gebracht, bei welcher Gelegenheit folgende der 18 stickstofffreien Substanzen angegriffen wurden:

Stamm Nr. *21*		**3**	**6**	**7**	**8**	**9**	10	**11**	**12**	**13**	16	18
Stamm Nr. *22*	1	3		**7**	**8**	**9**	**10**		**12**	**13**	16	(17) 18

Das Symbol des erstern war durch Ausfall der Vergärung von *2*, 5 und 14 auf 11 Glieder zusammengeschmolzen, wobei 3 und 11 mit größerer, 10 und 16 mit geringerer Intensität als früher gesäuert wurden. Am auffallendsten war jedoch das gänzliche Fehlen sowohl von 5 als auch von 14, für die der Stamm doch ein deutliches Gärungsvermögen besessen hatte. Das Bild für Stamm Nr. *22* war im großen und ganzen unverändert, 3 war etwas kräftiger und neu, 17 schwach angegriffen worden.

Am 19. Juli 1939 wurden aus den Stammkulturen Ausstriche nach Burri hergestellt und von jedem Stamm 10 der zur Entwicklung gelangten Kolonien (Tochterstämme) in die verschiedenen Zukkerbouillons übertragen. Die Bestimmung der pH-Erniedrigungen ließ nachstehende Veränderungen erkennen:

Stamm Nr. *21*	7 Kol.	**3**		**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	11	**12**	**13**		16	18
	2 Kol.	3	5	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	11	**12**	**13**	14	16	**18**
	1 Kol.				**7**	**8**	**9**	**10**		**12**	**13**		**16**	**18**
Stamm Nr. *22*	9 Kol.	**3**			**7**	**8**	**9**	**10**		**12**	**13**		16	18
	1 Kol.			6	**7**	**8**	**9**	**10**	11	**12**	**13**		16	**18**

Die Befunde zeigen, daß von Stamm Nr. *21* die meisten Nachkommen außer kleinen Schwankungen in der Gärungsintensität das Symbol des Mutterstammes besaßen. *2* Kolonien ließen einen «Rückfall» erkennen, indem sie 5 (Sorbit) und 14 (Raffinose) erneut vergoren haben und damit Übereinstimmung mit dem Prüfungsergebnis beim frisch isolierten Stamme zeigten. Von ganz besonderem Interesse war aber das von einem einzigen Tochterstamm gelieferte kurze Symbol, das den ursprünglichen f a e c i u m - Charakter vollständig vermissen ließ und zum typischen l a c t i s - Symbol geworden war, indem neben 14 (Raffinose) auch 11 (Saccharose) unberührt blieb.

Bei Stamm Nr. *22* resultierten als Folge der Dissoziation ganz ähnliche Gärungssymboltypen. Die überwiegende Mehrzahl der geprüften Kolonien wies mit Ausnahme des Wegfalls von 1 (Glycerin) das ursprüngliche Bild auf. Ein einziger Stamm fiel vollkommen aus dem Rahmen, zeigte er doch zwei ganz neue Gärungsvermögen. nämlich für 6 (Mannit) und 11 (Saccharose); diese zwei Substanzen waren bis anhin von diesem l a c t i s - S t a m m überhaupt noch nie zersetzt worden.

Eine nächste Prüfung erfolgte viel später, Mitte Dezember 1940, nach mehr als einjähriger Aufbewahrung der Stämme in Form von Agarstichkulturen, zwischen welche gelegentlich Milchpassagen eingeschaltet worden waren. Das erzielte Resultat war folgendes:

Stamm Nr. *21*	(1)	**3**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**12**	**13**	**16**	**18**
Stamm Nr. *22*		3		**7**	**8**	**9**	**10**	**12**	**13**	16	18

Die beiden Stämme zeigten in diesen Dissoziationsformen deutlich eine nahe Verwandtschaft; interessant dabei ist, daß Nr. *21* Saccharose nicht mehr vergären konnte, dagegen unvermittelt Glycerin schwach zu säuern vermochte. Bei Stamm Nr. *22* schien das anläßlich der letzten Prüfung durch einen Tochterstamm geäußerte Gärungsvermögen für Mannit und Saccharose bei der Mehrzahl der Keime im unwirksamen, latenten Zustande stecken geblieben zu sein.

Eine letzte Untersuchung nahmen wir Ende Juni 1941 vor, bei welcher wiederum aus beiden Stammkulturen durch Ausstrichkulturen auf Peptonschottenagar 10 (aus je einem Nachkommen entstandene) Kolonien isoliert und untersucht wurden. Diese Tochterstämme lieferten die folgenden Gärungssymbole:

Stamm Nr. *21*	8 Kol.	**3**	6	**7**	**8**	**9**	**10**		**12**	**13**		16	**18**
	2 Kol.	3	6	**7**	**8**	**9**	**10**	(11)	**12**	**13**	14	16	**18**
Stamm Nr. *22*	9 Kol.			**7**	**8**	**9**	**10**		**12**	**13**		**16**	**18**
	1 Kol.			**7**	**8**	**9**	**10**	(11)	**12**	**13**		16	**18**

S c. l a c t i s Nr. 21 lieferte anläßlich dieser Prüfung mehrheitlich Nachkommen, deren Gärungssymbole in nichts mehr an das frühere f a e c i u m - Symbol erinnerten. Beachtenswert ist, daß *2* Tochterkolonien ein Symbol zu Tage treten ließen, welches abgesehen von unbedeutenden Schwankungen demjenigen der Ausgangskultur entsprach. Der Stamm Nr. *22* war seit der letzten Untersuchung der Fähigkeit, 3 (Arabinose) zu säuern, verlustig gegangen. Ein Nachkomme zeigte ein schwach ausgebildetes Gärungsvermögen für 11 (Saccharose), unterschied sich aber sonst nicht von den übrigen 9 Tochterstämmen.

Zur besseren Veranschaulichung der Dissoziationsbreite geben wir auch für diese beiden l a c t i s - Stämme eine Zusammenstellung sämtlicher angetroffenen Gärungssymbole.

Datum	Stamm Nr. 21	Stamm Nr. *22*
13. V. 39	(2)3 5 **6 7 8 9 10** 11 **12 13** 14 **16 18**	1(3) **7 8 9 10** **12 13** 16 **18**
25. V. 39	**3** **6 7 8 9** 10 **11 12 13** 16 **18**	1 3 **7 8 9 10** **12 13** 16(17)**18**
19. VII. 39	**3** **6 7 8 9 10** 11 **12 13** 16 18	**3** **7 8 9 10** **12 13** 16 **18**
	3 5 **6 7 8 9** 10 11 **12 13** 14 16 **18**	6 **7 8 9 10** 11 **12 13** 16 **18**
	7 8 9 10 **12 13** **16 18**	
XII. 40	(1) **3** **6 7 8 9 10** **12 13** **16 18**	3 **7 8 9 10** **12 13** 16 **18**
VI. 41	**3** 6 **7 8 9 10** **12 13** 16 **18**	**7 8 9 10** **12 13** **16** **18**
	3 6 **7 8 9 10**(11)**12 13** 14 16 **18**	**7 8 9 10**(11)**12 13** 16 **18**

Die bei den beiden l a c t i s - Stämmen erzielten Resultate veranlassen uns zu folgenden Bemerkungen:

1. Die beiden, anfänglich in der «Zuckerreihe» große Unterschiede zeigenden Stämme Nrn. 21 und 22 haben im Verlaufe der Untersuchungen über Dissoziationsvorgänge Gärungssymbole geliefert, welche sie auch in bezug auf dieses Merkmal einander näher rücken ließen.

2. Die Wahrscheinlichkeit, durch einmalige Prüfung auf die Zukkerreihe das nach Orla-Jensen typische Symbol zu erhalten, ist klein, da dieses vom jeweiligen Grade der Bereitschaft des Organismus zur Dissoziation abhängig ist.

3. Je mehr Glieder ein Gärungssymbol aufweist, desto größer sind die zu beobachtenden Schwankungen.

c) Die Ergebnisse bei Thermobacterium helveticum und Thermobacterium lactis

Der helveticum-Stamm Nr. 7 mit dem Symbol:

7 8 9 10 12 13 16

und Tbm. lactis Nr. 5:

5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 16 **18**

als typische Vertreter ihrer Art wurden auf die bekannte Weise periodisch auf ihr Zuckervergärungsvermögen geprüft. Obige Gliederreihen wurden bei der unmittelbar auf die Reinzüchtung folgenden Untersuchung am 15. April 1939 erhalten.

Die beiden Milchstammkulturen wurden dann am 27. April 1939 zur ersten Nachprüfung auf die 18 Zuckernährlösungen verarbeitet, was zu den nachstehenden Ergebnissen führte:

Tbm. helveticum:

7 8 9 10 12 **13** 16

Tbm. lactis:

5 6 **7 8 9 10** 11 **12 13** 14 16 18

D. h., außer einer Abnahme der Gärungsintensität für einige Substanzen, konnten weder bei Tbm. helveticum noch bei Tbm. lactis irgendwelche Veränderungen wahrgenommen werden, es waren also keine Gärungsvermögen vom aktiven in den latenten Zustand übergetreten oder umgekehrt.

$1^1/_2$ Monate später, am 19. Juni 1939, untersuchten wir nach dem

früher erwähnten Vorgehen 10 Nachkommen eines jeden Stammes. Über die Befunde gibt die folgende Zusammenstellung Aufschluß. Um nicht zu viele Typen von Gärungssymbolen aufstellen zu müssen, haben wir dabei nur zwischen zwei Intensitätsgraden unterschieden; so bedeuten eingeklammerte Zahlen schwache und die nicht besonders gekennzeichneten mittelstarke-kräftige Zersetzung.

Tbm. helveticum:

5 Kolonien					7	8	9	10	12	13	16
4 Kolonien					7	8	9	10	12	13	(16)
1 Kolonie						8	9	10	12	13	

Tbm. lactis:

3 Kolonien	(5)	6	7	8	9	10	11	12	13	14	16
5 Kolonien			7	8	9	10	11	12	13		(16)
2 Kolonien			7	8	9	10	(11)	12	13		

Von unserem helveticum-Stamm hatte die große Mehrzahl der Nachkommen die ursprünglichen fermentativen Eigenschaften beibehalten. 4 Töchter hatten Dextrin nurmehr schwach vergoren, die Individuen einer Kolonie vermochten diesen Zucker überhaupt nicht mehr anzugreifen und ließen desgleichen auch Fructose unberührt. Tbm. lactis lieferte diesmal zum größten Teil Gärungssymbole von geringerer Gliederzahl als der in frischem Zustande isolierte Ausgangsstamm. Die Mehrzahl der Tochterstämme ließ die Vergärung von Alkoholen (5 und 6) und Raffinose vermissen. Salicin wurde in keinem Symbol mehr angetroffen. 2 Tochterkolonien säuerten Saccharose nur gering und Dextrin überhaupt nicht mehr. Im großen ganzen hatten die beiden Stämme bis zu diesem Momente weniger Schwankungen gezeigt, als wir auf Grund der Befunde bei den Prüfungen der frisch isolierten Thermobakterienstämme erwartet hatten.

Die weitergezüchteten Stichkulturen wurden Mitte Dezember 1940 nach einer Passage in Magermilch wiederum auf die Zuckerreihe geprüft. Die dabei erzielten Gärungssymbole waren

für Tbm. helveticum:
8 9 10 12 13 (16)

für Tbm. lactis:
7 8 9 10 11 12 13 16 (18)

Die beiden Stämme hatten anläßlich dieser Untersuchungen

neue, bisher nie beobachtete Dissoziationsformen der Zuckerreihe geliefert. Tbm. helveticum setzte sich offenbar aus Zellen zusammen, welche das Vermögen, Fructose zu zersetzen, verloren hatten, eine Eigenschaft, die bei der letzten Untersuchung durch eine Tochterkolonie bereits geäußert worden war; es scheint, daß diese Veränderung im Gärvermögen in der Zwischenzeit auf die meisten Individuen dieses Stammes übergegriffen hatte. Der lactis-Stamm ließ eine Gliederreihe erkennen, welche in der Hauptsache dem im Juni 1939 für die meisten Tochterstämme geltenden Symbol entsprach, indem eine Vergärung der Alkohole Sorbit und Mannit, sowie von Raffinose ausblieb, dagegen war diesmal 16 (Dextrin) wiederum mittelstark zersetzt worden und die Fähigkeit, 18 (Salicin) zu fermentieren, hatte erneut vom unwirksamen latenten in den aktiven Zustand hinüber gewechselt.

Im März ermittelten wir für diese beiden Thermobakterienstämme folgende Gärungssymbole:

Tbm. helveticum:
7 8 9 10 13

Tbm. lactis:
7 8 9 10 (11) 12 13 (16)

Interessanterweise hatte sich der helveticum-Stamm auf dem Wege der Dissoziation einmal mehr ein bis anhin nie gezeigtes Symbol zugelegt, indem er 7 erneut kräftig angriff, dagegen sowohl 12 als auch 16 unberührt ließ. Tbm. lactis ließ gegenüber der letzten Prüfung nur unbedeutende Abweichungen erkennen; die Gärungsintensität für 11 und 16 war etwas zurückgegangen, 18 fiel erneut vollständig aus.

Die letzte Untersuchung, Ende Juni 1941 durchgeführt, vollzogen wir wiederum an je 10 Tochterkolonien, deren Symbole aus der folgenden Zusammenstellung ersichtlich sind:

Tbm. helveticum:

9 Kolonien	7	8	9	10		12	13		
1 Kolonie	7	8	9	10	11	12	13	(16)	

Tbm. lactis:

8 Kolonien	7	8	9	10	11	12	13	16	
1 Kolonie	7	8	9	10			13	16	
1 Kolonie	(7)	8	9	10	(11)	12	13	16	

Einmal mehr traten zum Teil bisher nicht beobachtete Typen von Gärungssymbolen auf, welche deutlich veranschaulichen, wie auf dem Wege der Dissoziation ständig neue Formen entstehen können. 9 von 10 Nachkommen des helveticum-Stammes vermochten 7 (Fructose) wieder zu zersetzen. Beachtenswert ist aber besonders der 10. Tochterstamm, welcher als erster ein mittelstarkes Gärungsvermögen für 11 (Saccharose) besaß und mit dieser Eigenschaft gewissermaßen eine Brücke zu Tbm. lactis schlug. Der lactis-Stamm Nr. 5 schien im Momente der Prüfung aus ganz uneinheitlichen Individuen bestanden zu haben. Die Mehrzahl lieferte ein für diese Spezies mehr oder weniger typisches Symbol; ein Tochterstamm fiel dagegen ganz aus dem Rahmen, indem in seiner «Zuckerreihe» nicht nur 11 (Saccharose), sondern auch 12 (Maltose) vermißt wurde, was eher einem Symbol für Tbm. bulgaricum entsprochen hätte.

Bemerkenswert waren aber die Befunde dieser letzten Untersuchung ganz besonders, weil bei beiden, den Arten Tbm. helveticum und Tbm. lactis angehörenden Stämmen Nachkommen angetroffen wurden, welche mit dem Symbol 7 8 9 10 11 12 13 16 in dieser Eigenschaft identisch waren.

Die bei den zwei Thermobakterienstämmen im Verlaufe dieser Untersuchungen angetroffenen Gärungssymbole sind aus nachstehender Zusammenstellung ersichtlich.

Datum	Tbm. helveticum	Tbm. lactis
15. IV. 39	7 8 9 10 12 13 16	5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 16 18
27. IV. 39	7 8 9 10 12 13 16	5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 16 18
19. VI. 39	7 8 9 10 12 13 16	(5)6 7 8 9 10 11 12 13 14 16
	7 8 9 10 12 13(16)	7 8 9 10 11 12 13 (16)
	8 9 10 12 13	7 8 9 10(11)12 13
XII. 40	8 9 10 12 13(16)	7 8 9 10 11 12 13 16(18)
III. 41	7 8 9 10 13	7 8 9 10(11)12 13 (16)
VI. 41	7 8 9 10 12 13	7 8 9 10 11 12 13 16
	7 8 9 10 11 12 13(16)	7 8 9 10 13 16
		(7)8 9 10(11)12 13 (16)

Den geschilderten Befunden möchten wir folgende Bemerkungen beifügen:

1. Die Schwankungen im Aussehen der Gärungssymbole bei wiederholter Untersuchung ein und desselben Stammes bewegen sich im gleichen Rahmen wie diejenigen zwischen verschiedenen Stämmen bei einmaliger Prüfung.

2. Als Bestätigung unserer früher geäußerten Ansicht zeigten die Studien über Dissoziationsvorgänge bei Tbm. helveticum und Tbm. lactis, daß von einem typischen helveticum-, bzw. lactis-Symbol nicht gesprochen werden kann, und daß somit diese Eigenschaft zur Bestimmung der beiden Arten nur von zweifelhaftem Werte ist.

C. Diskussion der bei den Dissoziationsprüfungen erzielten Untersuchungsbefunde

Diese wenigen Untersuchungen über Dissoziationsvorgänge in der «Zuckerreihe» an je 2 Stämmen von Sc. thermophilus und Sc. lactis sowie an je einem Stamm von Tbm. helveticum und Tbm. lactis sollten uns Aufschluß geben über die Grenzen, innerhalb welchen dieses Merkmal variieren kann. Wir sind uns vollauf bewußt, daß durch unsere Experimente infolge des geringen zahlenmäßigen Umfanges nicht alle Möglichkeiten der Variation erfaßt worden sind, immerhin dürfen wir aus den angetroffenen Dissoziationsformen folgende Schlüsse ziehen:

1. In Anlehnung an das bereits anläßlich der Besprechung der einzelnen Milchsäurebakterienarten Gesagte und im Gegensatz zu Burri (l. c. p. 110) sind wir der Auffassung, daß die «Zuckerreihe» für Sc. thermophilus, welcher sich durch eine Reihe anderer Eigenschaften unzweifelhaft als eigene Art ausweist, als Merkmal zu Bestimmungszwecken nur bedingt verwendet werden kann. Wohl ist im allgemeinen sein nur aus wenigen Gliedern bestehendes Gärungssymbol charakteristisch, wobei in der Regel sowohl der Anfangs- als auch der Endteil der von Orla-Jensen aufgestellten «Kohlehydratreihe» vermißt werden. Aber gerade die Experimente von Burri zeigen deutlicher als die unsrigen, daß es Stämme und Dissoziationsformen gibt, welche eine recht große Anzahl von Zukkern vergären können. Der genannte Forscher weist zwar darauf hin, daß er bewußt eine gewisse Selektion trieb in dem Sinne nämlich, als er aus Proberöhrchen solcher Substanzen, die nur selten angegrif-

fen wurden, Tochterstämme isolierte, von denen dann einzelne diese früher erwähnten langen Symbole lieferten. Wir sehen aber keinen Grund, weshalb nicht auch außerhalb des Reagierglases in anderer Umgebung die gleichen, solche Veränderungen bewirkenden Kräfte tätig sein könnten. Die Gärungssymbole derartiger Dissoziationsformen sind dann eben ausgesprochen atypisch und müssen bei deren Verwendung zu diagnostischen Zwecken zu Unsicherheiten führen.

2. Ein auf Grund anderer Eigenschaften zur Spezies Sc. lactis gerechneter Streptokokkenstamm zeigte in frisch isoliertem Zustande folgendes Gärungssymbol (Gärungsintensität nicht berücksichtigt):

2 3 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 16 18,

welches nach Orla-Jensen zufolge der Anwesenheit der Glieder 3 (Aarabinose), 11 (Saccharose) und 14 (Raffinose) für Sc. faecium typisch ist. Nach zweijähriger Weiterzüchtung lieferte die Mehrzahl der Nachkommen ein Symbol, in welchem sowohl 11 als auch 14 fehlten und das somit die für Sc. lactis geforderten Kriterien aufwies. Anderseits äußerte ein weiterer lactis-Stamm anfänglich die von dieser Art verlangten Gärungsvermögen und behielt diese während der zweijährigen Prüfungszeit bei. Dagegen lieferten einzelne Individuen der Nachkommenschaft Gärungssymbole, in welchen auch 11 (Saccharose) enthalten war, ein Zucker, der von Sc. lactis nicht angegriffen werden sollte. Das heißt doch wohl nichts anderes, als daß es für Sc. lactis nicht ein bestimmtes, sondern mehrere mögliche Symbole gibt. Unter diesen befinden sich nun aber welche, die nach Orla-Jensen nur für gewisse andere Arten, z. B. Sc. faecium charakteristisch sein sollten. Wir sind überzeugt, daß bei analoger Versuchsanstellung für Sc. faecium auch bei dieser Art ganz atypische «Zuckerreihen» beobachtet werden könnten, welche z. B. für Sc. lactis oder Sc. glycerinaceus sprechen würden. Damit tritt die sehr nahe Verwandtschaft aller dieser Organismen zu Tage und bemerkenswerterweise gerade mit Hilfe jenes Merkmales, welches Orla-Jensen mit zur Trennung dieser Spaltpilze diente.

3. Je ein Vertreter von Tbm. helveticum und Tbm. lactis, also von zwei Arten, welche sich scharf voneinander trennen lassen, wurden zu wiederholten Malen der Prüfung auf die «Zucker-

reihe» unterworfen. Sie vermochten während zwei Jahren mehr oder weniger ihre typischen Gärungssymbole beizubehalten, die sich zwar nur im Auftreten bzw. Fehlen von 11 (Saccharose) unterschieden. Nun zeigte aber anläßlich der letzten Prüfung ein Tochterstamm von Tbm. helveticum ein deutliches Gärungsvermögen für 11 und damit das gleiche Symbol wie der geprüfte lactis-Stamm. Es wurde also bei diesen zwei Thermobakterienarten eine Verwandtschaft vorgetäuscht, welche nach der Zuckerreihe beurteilt, gleich nahe sein müßte, wie zwischen Sc. lactis und Sc. faecium, während andere Eigenschaften eindeutig ergaben, daß diese beiden Thermobakterien scharf voneinander zu trennen sind. Diese Befunde bestätigen die Auffassung Burris und Kollmanns, daß Tbm. helveticum und Tbm. lactis in den wenigsten Fällen auf Grund der «Zuckerreihe» erkannt werden können.

VI. Zusammenfassung der vorliegenden Untersuchungsergebnisse

1. Zum Zwecke der Erweiterung unserer Kenntnisse der Milchsäurebakterienflora frischer und gelagerter Kälber-Labmagen wurden je 20 Magen der bakteriologischen Untersuchung unterworfen und versucht, die isolierten Milchsäurebildner unter die von Orla-Jensen beschriebenen Arten einzureihen. Dabei wurde das Hauptgewicht auf die Prüfung der Verwendbarkeit der sogenannten «Zuckerreihe» zu diagnostischen Zwecken gelegt. Die erzielten Befunde wurden durch das Studium der Dissoziationsvorgänge bei Tbm. helveticum, Tbm. lactis, Sc. thermophilus und Sc. lactis erhärtet.
2. Der Keimgehalt bei frischen wie bei gelagerten Labmagen schwankt von einigen Tausenden bis mehreren Millionen Bakterien pro Gramm frischen bzw. lufttrockenen Materiales.
3. Die Milchsäurebakterien machen bei frischen Magen den Hauptanteil der Mikroflora aus, bei Handelsware dominieren die Kokken und Colibakterien. In besonders geringer Zahl sind in gelagerten Labmagen die Milchsäurestäbchen nachzuweisen. Trotz-

dem bedingten frische Magen eher ein blähendes Lab als getrocknete.

4. Nicht alle der isolierten 181 Streptokokken und 344 Milchsäurestäbchen ließen sich mit Sicherheit mit einer der von Orla-Jensen beschriebenen Spezies identifizieren.
5. Als auf Grund von mehreren Eigenschaften scharf voneinander zu trennende Arten erwiesen sich:

   Sc. thermophilus,
   Sc. inulinaceus,
   Tbm. helveticum,
   Tbm. lactis.

6 Arten, deren Grenzen durch das Auftreten von Übergangsformen verwischt werden, sind:

   Sc. lactis,
   Sc. faecium,
   Sc. glycerinaceus.
   Sbm. casei,
   Sbm. plantarum.
   Bbm. breve,
   Bbm. longum.

   Es wurden die Gründe aufgeführt, welche dafür sprechen, daß es sich bei den einzelnen Arten innerhalb dieser drei Gattungen um Unterarten oder Rassen einer einzigen, weiter zu fassenden Spezies handelt.
7. Die «Zuckerreihe» hat sich als innerhalb weiter Grenzen schwankendes Merkmal erwiesen. Die Befunde der Prüfungen auf diese Eigenschaft, sowie die Erhebungen über Dissoziationsvorgänge in der Kohlehydratreihe haben gezeigt, daß einerseits die Nachkommen ein und desselben Stammes Gärungssymbole liefern können, welche für die Vertreter einer anderen Art typisch sind, daß aber anderseits Nachkommen von Stämmen verschiedener, auf Grund anderer Eigenschaften scharf voneinander zu trennender Arten die genau gleichen Symbole hervorzubringen vermögen.
8. Wir kommen deshalb zum Schluß, daß der «Zuckerreihe» für diognostische Zwecke der ihr vielfach beigemessene Wert nicht zukommt und möchten empfehlen, von ihrer Verwendung, wenn

schon, dann nur mit großer Vorsicht (wiederholte Prüfungen) Gebrauch zu machen.

9. Im Interesse einer einfachen Bakteriensystematik möchten wir für die ganze Gruppe der stäbchenförmigen Milchsäurebakterien die alte Gattungsbezeichnung Bacterium beibehalten und spezifische Eigenschaften (Thermophilie, Kettenbildung, Gasbildungsvermögen, u. a.) nur in der Artbezeichnung ausgedrückt haben.
10. Arten, die identische Dissoziationsformen abspalten lassen, sind in einer einzigen, sämtliche Variationen umfassenden Spezies zusammenzufassen. Manche der Orla-Jensenschen Milchsäurebakterienarten sinken dadurch zu Rassen oder Varietäten herab.

Zu großem Dank bin ich dem Kuratorium des Laur-Fonds verpflichtet, welches mir aus dem Laur-Fonds für die Drucklegung der Arbeit einen namhaften Beitrag gewährte.

Anhang

Für die Beurteilung des Wertes der «Zuckerreihe» zu diagnostischen Zwecken ist es von Wichtigkeit, die Häufigkeit zu kennen, mit welcher die einzelnen stickstofffreien Substanzen gesäuert werden. Im Interesse der besseren Übersichtlichkeit haben wir zu deren Darstellung die graphische Methode gewählt.

Auf der Abszisse sind die einzelnen Zucker (1—18), auf der Ordinate diejenigen Stämme in % der untersuchten Stämme aufgetragen, die ein bestimmtes Kohlehydrat säuerten. Die Zahlen der X-Achse entsprechen wie diejenigen der Gärungssymbole den Nummern der Kohlehydrate, welche ihnen gemäß der Reihenfolge in der «Zuckerreihe» nach Orla-Jensen zukommen; der Einfachheit halber sei diese nochmals wiedergegeben:

1. Glycerin
2. Xylose
3. Arabinose
4. Rhamnose
5. Sorbit
6. Mannit
7. Fructose
8. Glucose
9. Mannose
10. Galactose
11. Saccharose
12. Maltose
13. Lactose
14. Raffinose
15. Inulin
16. Dextrin
17. Stärke
18. Salicin

Aus den Figuren sind auch die Intensitätsgrade der Vergärung ersichtlich, so bedeuten:

schwarz	= kräftige
schraffiert	= mittelstarke
weiß	= schwache Vergärung

Die totale Säulenhöhe gibt die Gesamtzahl jener Stämme in % wieder, die den betr. Zucker überhaupt gesäuert haben, die drei Farbtöne lassen dann erkennen, wie groß der Anteil der kräftig, mittelstark und schwach angreifenden Stämme war.

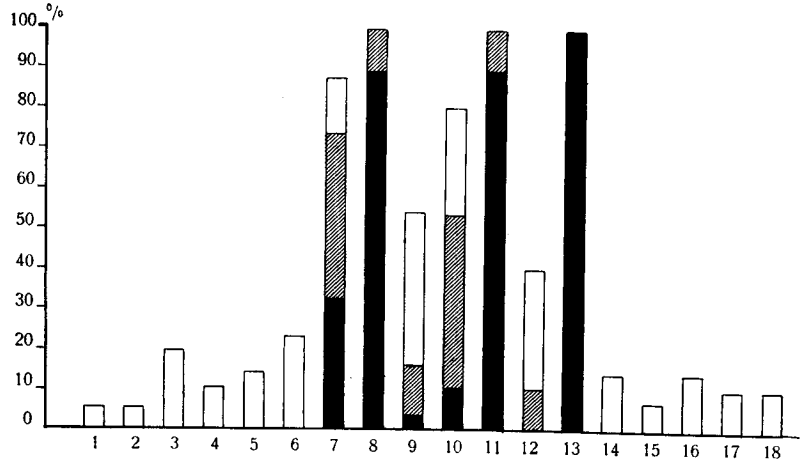


Fig. I: Sc. thermophilus, 56 Stämme = 100 %

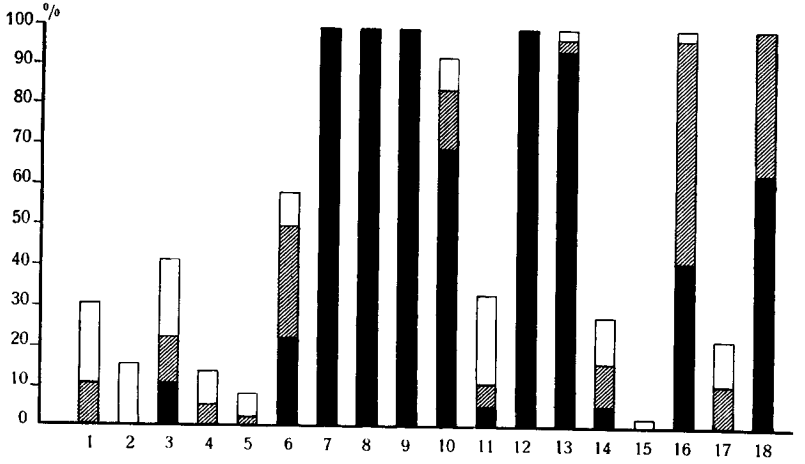


Fig. II: Sc. lactis, 36 Stämme = 100 %

In Fig. I wäre also die Säule z. B. des Zuckers 7 (Fructose) folgendermaßen auszulegen:

Gesamtzahl der Fructose angreifenden Stämme			87 %
davon säuerten	kräftig	32 %	
	mittelstark	41 %	(73 %—32 %)
	schwach	14 %	(87 %—73 %)
		87 %	

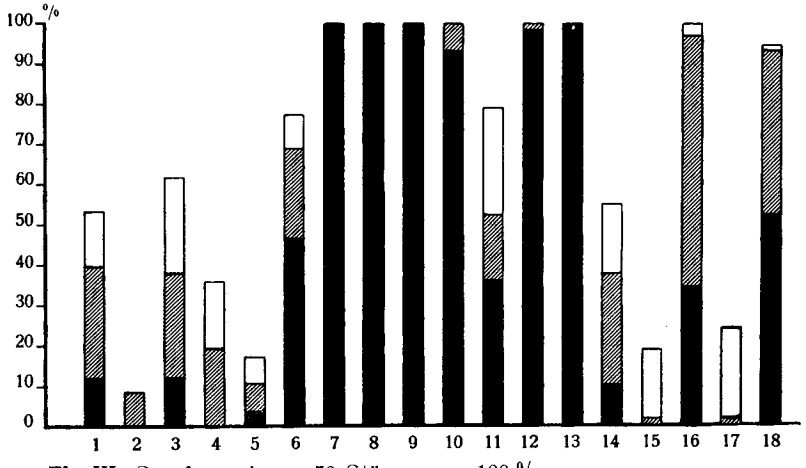


Fig. III: S c. f a e c i u m, 58 Stämme = 100 %

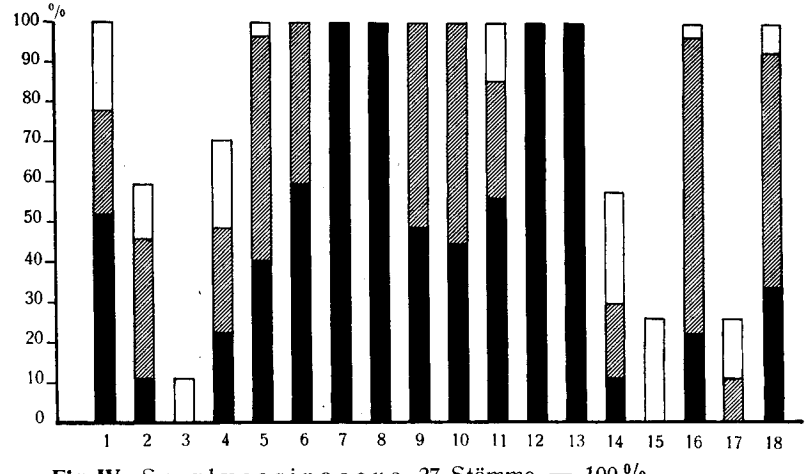


Fig. IV: S c. g l y c e r i n a c e u s, 27 Stämme = 100 %

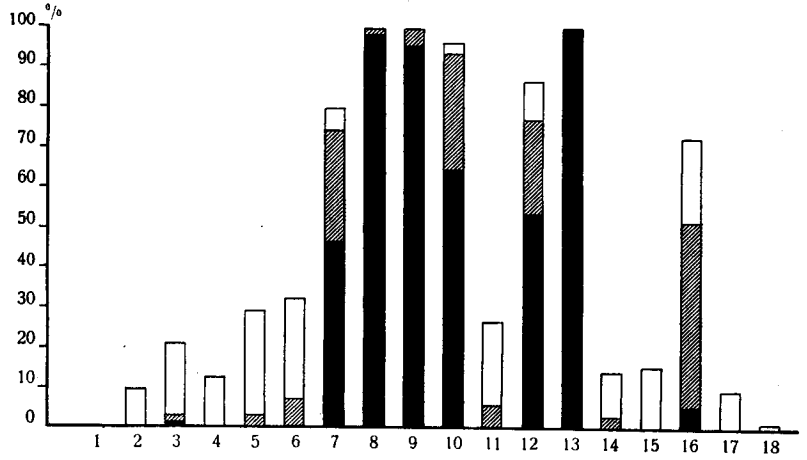


Fig. V: T b m. h e l v e t i c u m, 71 Stämme = 100 %

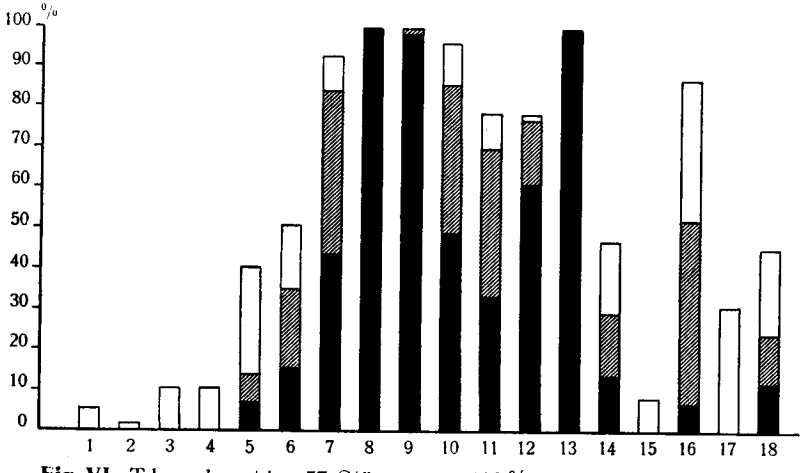


Fig. VI: T b m. l a c t i s, 57 Stämme = 100 %

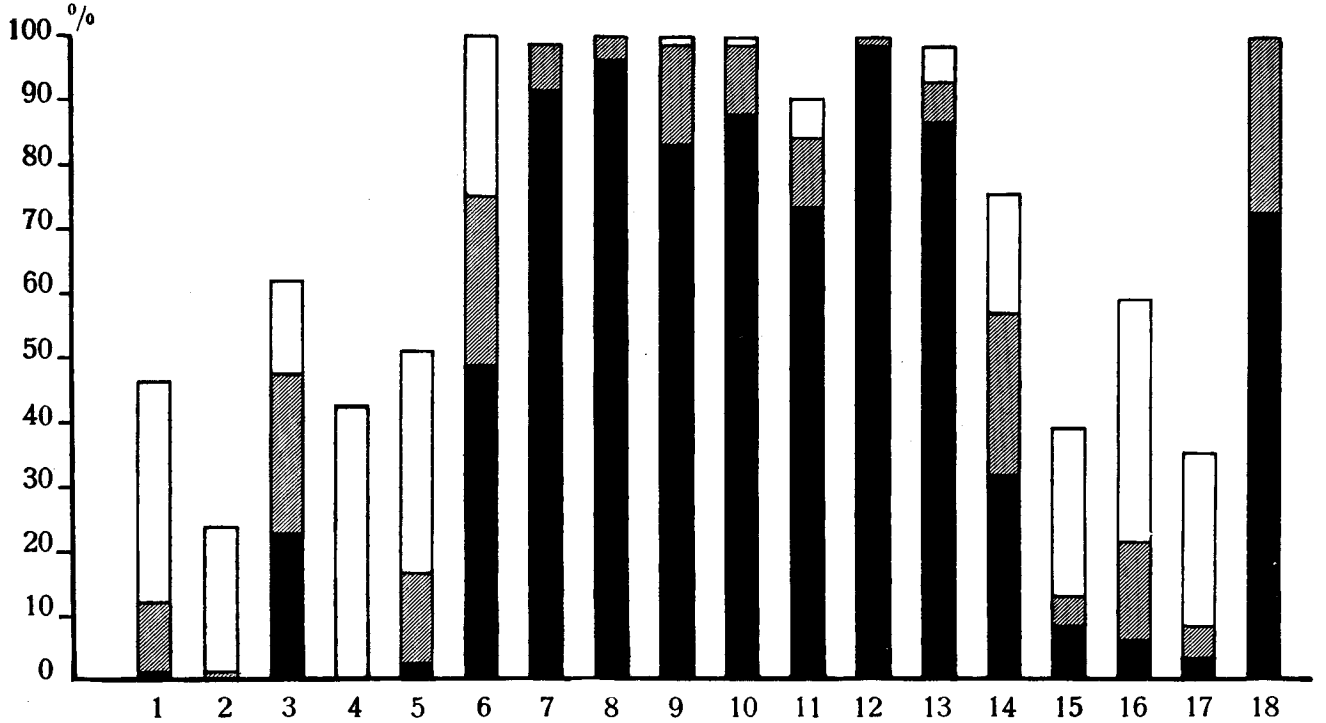


Fig. VII: S b m. p l a n t a r u m, 84 Stämme = 100 %

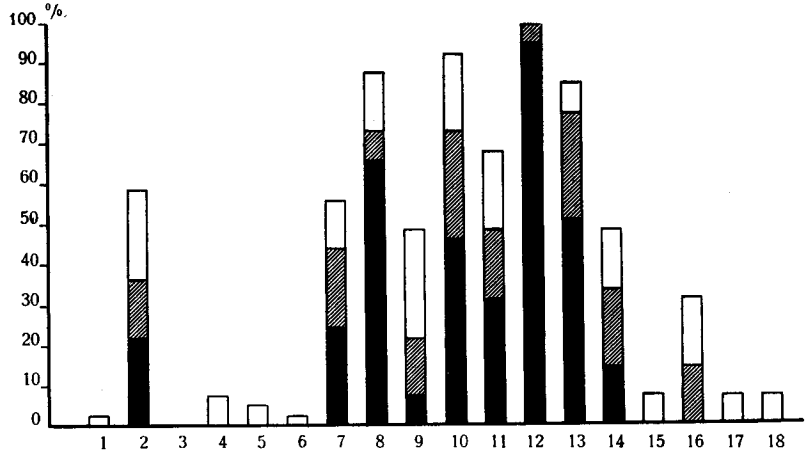


Fig. VIII: B b m. b r e v e, 80 Stämme = 100 %

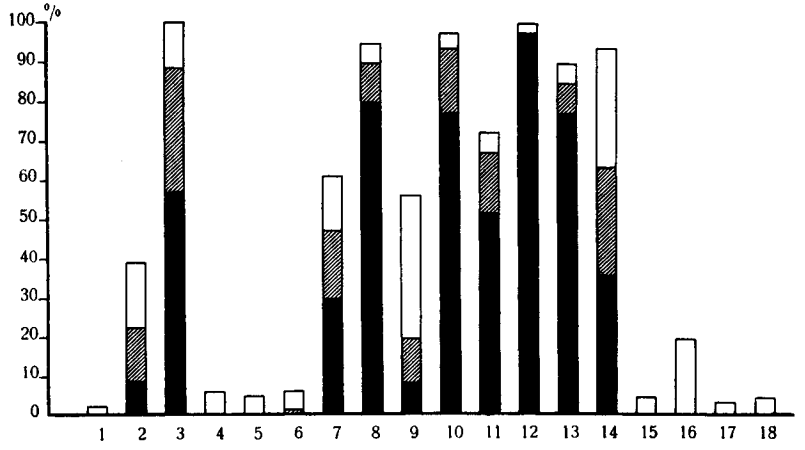


Fig. IX: B b m. l o n g u m, 41 Stämme = 100 %

Literaturverzeichnis

1. Adametz, L. Landw. Jahrbücher 1889, Bd. 18, p. 229.
2. Baerthlein, K. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1911, Bd. 50, Ref. Beiheft, p. 128.
3. Baerthlein, K. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1918, O., Bd. 81, p. 369.
4. Baumann, J. Untersuchungen über die milchwirtsch. wichtigen Bakt. in den Faeces des Rindes. Diss. Zürich 1934, p. 38.
5. Beneckе, zit. nach J. Klein, Zeitschr. f. Hyg. 1913, Bd. 73, p. 93.
6. Bergey, D. H. Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore 1939.
7. Bitter, L. und Buchholz, L. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1925, Bd. 95, p. 38.
8. Burk, Arch. f. Hyg. 1908, Bd. 65, p. 235.
9. Burri, R. Ber. d. Schweiz. Bot. Ges. 1941, Bd. 51, p. 96.
10. Burri, R. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1910, Bd. 28, p. 321.
11. Burri, R. VIII. Int. Milchwirtsch. Kongreß. London 1928, Report, p. 690.
12. Burri, R. und Düggeli, M. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1909, Bd. 49.
13. Burri, R. und Elser, E. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1941, p. 176.
14. Burri, R. und Kollmann, H. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1941, p. 407.
15. Burri, R. und Staub, W. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1915, p. 631.
16. Cohn, F. zit. nach J. Thöni. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906, p. 182.
17. Demeter, K. J. Milchw. Forsch. 1928, Bd. 5, p. 505.
18. Demeter, K. J. Milchw. Forsch. 1929, Bd. 8, p. 201.
19. Demeter, K. J. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1930, Bd. 82, p. 71.
20. Demont, P. und Dorner, W. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1931, p. 481.
21. Druckrey, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1928, Bd. 74, p. 373.
22. Duclaux, E. zit. nach J. Thöni. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906, p. 183.
23. Ehrlich, Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1911, Ref. Bd. 50, p. 95.
24. Freudenreich v., E. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1897, Bd. 3, p. 231.
25. Freudenreich v., E. und Orla-Jensen, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1897, Bd. 3, p. 545.
26. Gorini, C. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1913, Bd. 37, p. 452.
27. Heim, L. Zeitschr. f. Hyg. 1924, Bd. 101, p. 104.
28. Herz, J. Sonderabdr. d. Mitt. d. Milchwirtsch. Ver. im Allgäu, 1894, Heft 5.
29. Hornbostel. Das syst. Verhältnis von Streptobacterium plantarum zu Streptobacterium casei. Diss. Univ. Kiel, 1936.
30. Horowitz-Wlassowa und Nowotelnow. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1933, Bd. 87, p. 331.
31. Kantardjieff, A. Milchw. Forsch. 1929, Bd. 7, p. 171.
32. Karnicki, F. und Dorner, W. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1934, p. 1079.
33. Keitel. Hitzeresistente Milchsäurestreptokokken unter bes. Berücksichtigung ihres Verhaltens i. d. Zuckerreihe und b. d. Lakmusmilchprobe. Diss. Univ. Kiel, 1931.

34. Kjeldahl, Wiegner-Pallmann, Agrikulturchem. Praktikum. Berlin 1938, p. 331.
35. Kleeberg, J. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1927, Bd. 72, p. 1.
36. Klein, J. Zeitschr. f. Hyg. 1913, Bd. 73, p. 87.
37. Köstler, G. Jahresber. d. Bern. Molkereischule in Rütti-Zollikofen 1902/03.
38. Kristensen, M. zit. nach Burri. Mitt. aus d. Gebiete d. Lebensmitteluntersuch. und Hyg. 1941, Bd. 32, Heft 1.
39. Kruse, zit. nach J. Klein (l. c. p. 94).
40. Kulp und Rettger, Journ. of. Bact. 1924, Bd. 9, p. 357.
41. Lehmann, zit. nach Baerthlein. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1918, Bd. 81, p. 371.
42. Lewis, J. M. Journ. of Bact. 1934, Bd. 28, p. 619.
43. Löffler, Lehmann und Neumann. Bakt. Diagnostik, 1926, Bd. I, p. 8.
44. Löhnis, F. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1906, Bd. 16, p. 97.
45. Massini, R. Arch. f. Hyg. 1907, Bd. 61, p. 250.
46. Mühlmann. Arch. f. Hyg. 1909, Bd. 69, p. 4001.
47. Müller, R. zit nach J. Klein (l. c. p. 89).
48. Müller, R. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1911, Ref. Bd. 50, p. 141.
49. Neuberg und Simon. Biochem. Zeitschr. 1926, Bd. 179, p. 443.
50. Orla-Jensen. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1909, Bd. 24, p. 477.
51. Orla-Jensen. The lactis acid bacteria. Kopenhagen 1919.
52. Orla-Jensen und Hansen. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1932, Bd. 86, p. 6.
53. Peter, A. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1901, p. 376.
54. Pringsheim, zit. nach J. Klein (l.c. p. 94).
55. Reichenbach. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1908, O., Bd. 42, p. 58.
56. Ritter, W. und Dorner, W. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1932, O., Bd. 125, p. 379.
57. Rudakow, K. J. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1934, Bd. 90, p. 67.
58. Rudakow. Mikrobiologie 1937, Bd. 6, p. 94; ref. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1937, Bd. 97, p. 253.
59. Rudolf, J. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1926, O., Bd. 100, p. 47.
60. Sach. Zur Kenntnis der in Milch, im Darm der Kühe, und im Darm und anderen Organen der Menschen vorkommenden Streptokokkenarten. Diss. Univ. Kiel, 1936.
61. Sauerbeck. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1909, O., Bd. 50, p. 572.
62. Schwarz, K. Labinfektionspilze. Diss. Kiel 1929.
63. Sobernheim und Seligmann. Zentralbl. f. Bakt. I. Abt. 1911, Ref. Beiheft, Bd. 50, p. 134.
64. Storck. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1936, Bd. 95, p. 284.
65. Thöni, J. Landw. Jahrb. d. Schweiz. 1906, p. 181.
66. Weaver. Journ. of Bact. 1931, Bd. 21, p. 51.
67. Weigmann, H. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1899, Bd. 5, p. 825 und 859.
68. Wikullich, v., L. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1932/33, Bd. 87, p. 59.
69. Wolff, A. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1909, Bd. 24, p. 55, sowie 1911, Bd. 30, p. 341.

Lebensabriß

1911	1. Mai, geboren in Zürich. Bürger von Wynau (Kt. Bern). Eltern: Otto Richard und Frieda Richard geb. Meyer.
1918—1923	Primarschule in Baden.
1923—1927	Bezirksschule in Baden.
1927—1930	Kantonale Oberrealschule (Industrieschule) in Zürich.
1930	Eidgenössisches Reifezeugnis Typus C.
1930—1932	Landwirtschaftliche Praxis auf dem Gutsbetrieb des Schloß Wildegg (Aarg.) und in Bioley-Orjulaz (Waadt).
1932—1936	Landwirtschaftliche Abteilung der Eidg. Techn. Hochschule in Zürich.
1936	Diplom als Ingenieur-Agronom.
Seit 1936	Assistent am Landwirtschaftlich-bakteriologischen Institut der Eidg. Techn. Hochschule.