

Micrococcus mucofaciens n. sp., ein Milchschildling

Autor(en): **Thöni, J. / Thaysen, A.C.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und
Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **3 (1912)**

Heft 6

PDF erstellt am: **27.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984070>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

orange mit starker (z. B. 20 %iger) Salzsäure versetzt, bis die Farbe deutlich nach rot umschlägt (nicht nur nach orangerot); nun fügt man noch 2 cm³ n-Salzsäure hinzu, invertiert in einem Gefäss mit siedendem Wasser während 30 Minuten, kühlt ab, neutralisiert mit Natronlauge, bringt bei 15° auf 200 cm³ und führt mit 50 cm³ der Lösung die Zuckerbestimmung nach Allihn aus. Der gefundene Invertzucker wird durch Multiplikation mit 0,95 in Rohrzucker umgerechnet.

Wenn a = angewandte Substanzmenge, b = lösliche Kohlehydrate in 50 cm³ der ursprünglichen Lösung, c = gefundener Rohrzucker in 50 cm³ der invertierten Lösung, so ist unter Berücksichtigung des Volumens des Unlöslichen sowie der Verdünnung der Prozentgehalt an Rohrzucker

$$y = \frac{4 c \left(250 - \frac{a - 5 b}{1,6} \right)}{0,75 a}$$

Micrococcus mucofaciens n. sp., ein Milchschildling.

Von Dr. J. Thöni und Dr. A. C. Thaysen.

(Aus dem Laboratorium des schweiz. Gesundheitsamtes in Bern.)

Ein Milchhändler der Stadt Bern überbrachte im Laufe des Frühjahrs, einem hiesigen Laboratorium, eine Milchprobe zur bakteriologischen Untersuchung mit dem Bemerkten, dass die Milch seit einiger Zeit fadenziehend werde, wobei besonders die Rahmschicht diesen Fehler ausgeprägt aufweise. Auch die uns dann zugestellte Probe zeigte diese abnorme Beschaffenheit sehr deutlich.

In den zur Feststellung des mikroskopischen Bildes der fraglichen Milch angefertigten Ausstrichpräparaten waren neben dem gewöhnlichen Milchsäurebakterium, *Bact. Güntheri*, sehr zahlreich Kokken vertreten und zwar als Diplokokken und Tetraden. Auf den zum Zwecke der Isolierung der Keime mit Material dieser Milch beschickten Nährmedien (Gelatineplatten und Schottenagarhoheschichtkulturen) konnten indessen keine von den gewöhnlich die fadenziehende Beschaffenheit der Milch in hiesiger Gegend bedingenden Bakterienarten (*Mic. Freudenreichii* und schleimbildende Rassen von Milchsäurebakterien) angetroffen werden. Dagegen hatten sich auf den Gelatineplatten zahlreiche gelbliche, fadenziehende, anscheinend die Gelatine nicht verflüssigende Kolonien eingefunden, die den Mikrokokken angehörten. Die schleimig-fadenziehende Eigenschaft dieser Kolonien liess den Verdacht als naheliegend erscheinen, sie könnten die Urheber der

abnormen Beschaffenheit der Milch sein. Eine Ueberimpfung von Material solcher Kolonien in sterile und rohe Milch bestätigte die Vermutung, indem sämtliche Proben schon nach kurzer Zeit ausgesprochen fadenziehend wurden und zwar besonders jeweilen die Rahmschicht.

Bei der Einlieferung der Milchprobe war angeordnet worden, dass bei dem die fadenziehende Milch liefernden Landwirt die Melk- und Transportgefässe, ferner die zur Reinigung dieser Gefässe benützten Bürsten und Tücher eine Zeitlang in kochendem Wasser gehalten und dann noch mit Sodawasser und gewöhnlichem Wasser gewaschen werden. Nach Ausführung der angedeuteten Massregel zeigte die Milch wieder normale Beschaffenheit.

Das Vermögen, die Milch schleimig-fadenziehend zu machen, kommt bekanntlich einer relativ grossen Anzahl von Bakterienarten zu. Es war nun für uns von Interesse festzustellen, ob sich der aus vorliegender Milch isolierte Kokkus mit einem der schon bekannten Erreger der fadenziehenden Milch identifizieren lasse. Zu diesem Zwecke wurden seine morphologischen und kulturellen Eigenschaften, sein biologisches und physiologisches Verhalten näher geprüft. Die Ergebnisse dieser Untersuchung finden sich nachstehend zusammengestellt.

Mikroskopisches Aussehen.

Im allgemeinen ist der eigentliche Kokkentypus vorherrschend, doch finden sich häufig einseitig abgeplattete Zellen, die gewöhnlich zu zweien mit den abgeplatteten Seiten aneinander liegen, sogenannte Semmelformen. Hie und da können auch nicht ganz isodiametrische und schwach ovale Formen beobachtet werden. Meistens tritt er auf als Einzel- oder Diplokokkus, zuweilen auch in Tetradenform oder zu Haufen vereinigt. Sehr hübsch ausgebildete Tetraden finden sich meistens in den flüssigen Nährmedien und bei der Optimaltemperatur. Wie die Form, so differiert auch die Grösse der Zellen nicht unwesentlich. Bei den in verschiedenen Nährmedien gezüchteten Organismen schwankt der Durchmesser bei in hängendem Tropfen oder mittelst Tusche bereiteten Präparaten von 0,5-2,4 μ . Vorwiegend ist jedoch die Grösse von 0,8-1,6 μ im Diameter. Eigenbewegung war nie zu beobachten.

Färbbarkeit.

Die Färbung erfolgt leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben und auch nach *Gram*.

Ansprüche an Temperatur.

Das Wachstumsoptimum liegt bei zirka 33°C. Der Kokkus wächst aber auch bei Temperaturen von 22—42°C. Bei 18° ist jedoch die Entwicklung schon wesentlich verlangsamt und bei 8° scheint sie beinahe aufgehoben zu sein.

Wachstum auf den verschiedenen Nährböden.

Gelatineplatten bei 20—23° C.

Nach 2 Tagen sind in der Gelatine mikroskopisch kleine, grauweisse Pünktchen sichtbar. Nach 5 Tagen erscheinen die Kolonien hellgelb, die in der Tiefe gelegenen sind kugelig und besitzen einen Durchmesser von kaum $\frac{1}{4}$ mm, während die Oberflächenkolonien saftigglänzend, rund, ganzrandig und stecknadelkopfförmig sind und einen Durchmesser von 1 mm erreichen. Bei schwacher Vergrößerung erscheint die Struktur feinkörnig. Die Konsistenz sowohl der Oberflächen- wie der Tiefenkolonien ist ausgesprochen fadenziehend. Vom 10. Tage ab zeigen vereinzelte Oberflächenkolonien eine radiäre Streifung und ein dichteres Zentrum, auch ist die Randzone hie und da schwach gelappt. Mit dem Alter werden verflacht sich allmählich die anfänglich gleichmässig gewölbte Kuppe der Oberflächenkolonien. Diese stellen dann runde Scheiben dar, deren Oberflächen gewöhnlich mehrere konzentrisch angeordnete Vertiefungen (Ringe) aufweisen. Im Alter von 25 Tagen ist sodann bei einzelnen Oberflächenkolonien ein schwaches Einsinken in die Gelatine zu bemerken, und bei einigen davon zeigt sich auch bereits eine schmale Zone verflüssigter Gelatine rings um die Kolonie herum. Die Verflüssigung schreitet äusserst langsam weiter, wobei eine tellerförmige Vertiefung in der Gelatine entsteht; die Kolonie löst sich dabei in Flocken auf. Bei 40 Tage alten Gelatinekulturen ist die Grosszahl der Oberflächenkolonien eingesenkt, doch ist bei vielen davon noch kein deutlicher « Verflüssigungshof » zu beobachten.

Agarplatten bei 35—37° C.

Nach 24 Stunden haben sich zirka 0,2 mm grosse Kolonien von gelbbrauner Farbe eingestellt. Ihre Struktur ist grobkörnig. Die Oberflächenkolonien sind glattrandig, flach und kreisrund, die Tiefenkolonien kugelig und wetzsteinförmig. Die Konsistenz ist ebenfalls schleimig-fadenziehend. 48 Stunden alte Oberflächenkolonien besitzen bereits eine Grösse von 1 mm im Durchmesser.

Gelatinestrichkultur bei 20—23° C.

Nach Verlauf von 4 Tagen ist das Wachstum noch sehr schwach. Längs des Impfstriches hat sich ein feiner, stellenweise aus einzelnen Kolonien bestehender gelbbrauner Belag gebildet. Er ist deutlich fadenziehend. Der Nährboden zeigt auch nach 20 Tagen noch keine Verflüssigung, indessen ist eine schwache Einsenkung um den Rasen herum bemerkbar. Nach 26 Tagen findet sich der Belag infolge inzwischen eingetretener Verflüssigung der Gelatine auf dem Boden des Reagensglases, zusammen mit ein wenig verflüssigter Gelatine. Die frühere Lage desselben ist durch eine rinnenförmige Einsenkung in der schiefen Gelatineebene gekennzeichnet.

Agarstrichkultur bei 35—37° C.

Dem Impfstrich entlang entsteht eine gelbbraune, saftigglänzende, mässig erhabene Auflagerung mit feinzackigem Rand. Der Belag ist sehr stark fadenziehend und behält diese Eigenschaft selbst mehrere Monate.

Milchagarstrichkulturen bei verschiedenen Temperaturen.

Bei Zimmertemperatur bildet sich dem Strich entlang nach 16 Stunden ein mässig ausgebreiteter, saftigglänzender, weisslichgelber Belag. Das sogenannte Kondenswasser ist getrübt; Auflagerung und Kondenswasser sind stark fadenziehend. Bei 33° C ist der Kulturrasen nach 16 Stunden wesentlich kräftiger entwickelt als bei Zimmertemperatur, er erreicht zu dieser Zeit eine Breite von 4—5 mm; auch ist derselbe hier am stärksten fadenziehend. Bei 37° C nimmt die Mächtigkeit der Auflagerung eine Mittelstellung ein zwischen den bei Zimmertemperatur und bei 33° C gewachsenen Kulturen, während dagegen das Wachstum bei 40° C deutlich schwächer ist als das bei Zimmertemperatur. Der Belag ist auch bei 33, 37 und 40° C weisslichgelb und saftigglänzend.

Kartoffelkultur bei 32—34° C.

Auf Kartoffelscheiben entstehen nach einigen Tagen ziemlich breite, mässig erhabene, hellgelbe, saftigglänzende und stark fadenziehende Streifen, die mit der Zeit eine dunklere cremefarbige Nuance annehmen.

Gelatinestrichkultur bei 23° C.

Erst nach 4 Tagen stellt sich eben erkennbares Wachstum ein. Nach 12 Tagen ist an der Oberfläche eine gelbbraune, saftigglänzende, mässig ausgebreitete, flache Auflagerung. Längs des Stichkanals ist das Wachstum selbst nach 20 Tagen sehr spärlich: feiner, aus lauter Körnchen bestehender Faden. Nach 26 Tagen beobachtet man um den inzwischen schwach eingesunkenen Belag eine Zone verflüssigter Gelatine. Der Rasen ist zu dieser Zeit sehr stark fadenziehend.

Agarstrichkultur bei 37° C.

Nach 24 Stunden fadenförmiges bis schwach bandförmiges Wachstum; in den oberen zwei Dritteln des Stichkanals kräftiger als weiter unten. Um die Stichöffnung bildet sich anfänglich ein mässig ausgebreiteter und erhabener, saftigglänzender, weisslichgelber Belag, der später die Einstichöffnung kuppenförmig überdeckt.

Bouillonkultur.

Die Bouillon wird selbst bei der Optimaltemperatur (33° C) nur mässig getrübt. Am Boden des Kulturgefässes entsteht ein weisses Sediment, das beim Schütteln in zusammenhängendem, spiralig gedrehtem Strang aufwirbelt.

Die Flüssigkeit ist nicht fadenziehend.

Schottenkultur.

Das Wachstum ist hier ein analoges wie in Bouillon, nur etwas kräftiger.

Milchkulturen bei 22° und 35° C.

Bei 22° C aufgestellte Milch ist nach 18 Stunden makroskopisch unverändert, dagegen zeigt sich bei der Prüfung der Konsistenz die Rahmschicht bereits ausgesprochen fadenziehend. Nach 42 Stunden ist die ganze Masse fadenziehend. Bei 5 Tage alten Kulturen erscheint die Milch dann in drei Schichten getrennt: eine aufliegende Rahmschicht, darunter eine dünne, gelbbraune Schicht und zu unterst die makroskopisch nicht veränderte Magermilch. Die gelbbraun verfärbte Schicht wird mit der Zeit immer mächtiger und stellt eine zusammenhängende Schleimmasse dar. Ein Gerinnen der Milch war auch bei 9-tägigen Kulturen nicht zu beobachten.

Bei 35° C ist die Milch, ohne sichtbar verändert zu sein, schon nach 16 Stunden stark fadenziehend, wobei auch wieder die Rahmschicht diese Eigenschaft am ausgeprägtesten zeigt. Nach 40 Stunden stellt sich dann die auch bei 22° C beobachtete und hier in analoger Weise erfolgende Trennung der Milch in 3 Schichten ein. Zu dieser Zeit ist die Milch noch flüssig und amphoter. Am 3. Tage ist Gerinnung eingetreten bei schwach saurer Reaktion. Die 3 Schichten, wovon die braungelbe sehr mächtig geworden ist, zeigen dann in bezug auf Konsistenz folgendes Verhalten: Bei Eintauchen der Platinnadel können mit der Rahmschicht 30—40 cm lange, mit der gelbbraunen Schicht (? Peptonisierung) Fäden von mehreren Meter gewonnen werden, während die unterste, ein festes Coagulum darstellende Schicht nunmehr sehr schwach fadenziehend ist. Selbst mehrere Monate alte Milchkulturen sind noch deutlich fadenziehend.

Traubenzuckeragarhoheschichtkultur bei 37° C.

Wachstum nur bis zirka 1 cm unter der Oberfläche. Keine Vergärung.

Milchzuckeragarhoheschichtkultur bei 37° C.

Gleiches Verhalten wie in Traubenzuckeragar.

Widerstand gegen Wärme.

Je 10 cm³ sterile Milch mit je 0,2 cm³ einer Aufschwemmung unseres Kokkus versetzt und während verschiedenen Zeiten im Wasserbade Temperaturen von 60, 70, 75 und 80° C ausgesetzt ergab folgendes Verhalten: Bereits eine Einwirkungsdauer von 30 Minuten bei 60° C genügt zur Abtötung, ebenfalls findet keine Entwicklung mehr statt nach einem 5 Minuten langen Einwirken einer Temperatur von 70° C.

Widerstand gegen Desinfizientien.

Als Desinfektionsmittel verwendeten wir Kalkmilch. Von einer 24 Stunden alten gut angegangenen Bouillonkultur des Kokkus wurden gleiche Mengen von Kultur mit Kalkmilch von verschiedener Konzentration eine bestimmte Zeit lang aufeinander einwirken gelassen und dann eine grosse Oese davon in Bouillon übergeimpft. Die Abtötung des Kokkus erfolgte in 1%iger Konzentration nach 30 Minuten.

Prüfung auf sonstige chemische Leistungen.

Er bildet weder Indol noch H₂S.

Pathogenität.

Einem jungen Meerschweinchen im Gewichte von 160 g wurden 5 cm³ einer 7 Tage alten Milchkultur per os einverleibt. Das Tier zeigte keine Krankheitserscheinungen.

Versuch einer Identifizierung.

In der Literatur sind bisher, wenn man absieht von jenen fadenziehenden Bakterienrassen oder -varietäten, deren Stammformen diese Eigenschaft nicht besitzen, 17 Mikroben beschrieben worden, denen in stärkerem oder geringerem Grade die Fähigkeit zukommt, die Milch fadenziehend zu machen. Es sind dies:

1. Actinobacter du lait visqueux Duclaux.
2. Actinobacter polymorphus Duclaux.
3. Bacillus lactis pituitosi Löffler.
4. u. 5. Bacillus viscosus I und II Van Laer.
6. Bacterium Hessi Guillebeau.
7. Bacillus lactis viscosus Adametz.
8. Bacterium lactis longi Troili-Petersson.
9. Bacillus lactorubefaciens Gruber.
10. Micrococcus lactis pituitosi Schmidt.
11. Micrococcus Freudenreichii Guillebeau.
12. Micrococcus der langen Wei Weigmann.
13. Micrococcus mucilaginosus Migula (O. Ratz).
14. Diplococcus liodermus Schütz-v. Ratz.
15. Micrococcus Hueppe.
16. Karphococcus pituitoparus Hohl.
17. Coccus lactis viscosi Gruber.

Bei einem Vergleich dieser Organismen mit dem von uns aus Milch isolierten Kokkus fallen zunächst alle jenen Mikroben ausser Betracht, die die typische Stäbchenform besitzen; es gehören hierher die oben unter 1-9 aufgeführten Arten. Von den *Kokken* unterscheiden sich infolge Fehlens

eines proteolytischen Enzyms die unter Rubrik 10, 12, 13, 14, 15 und 16 eingereihten Mikroben. Das Vermögen Gelatine zu verflüssigen besitzen ausser unserem Kokkus nur *Micrococcus Freudenreichii* und *Coccus lactis viscosi*. Während nun aber bei diesen Organismen die Verflüssigung der Gelatine schon innerhalb 24 resp. 72 Stunden erfolgt, tritt sie bei unserem Kokkus erst nach 25 und mehr Tagen ein. *Micrococcus Freudenreichii* besitzt ausserdem eine Grösse von 2μ und sein Temperaturoptimum liegt bei 20°C , beides Momente, die verglichen mit denen des vorliegend beschriebenen Kokkus verschieden sind. Morphologisch besteht eine grosse Aehnlichkeit zwischen dem Gruber'schen und dem unserigen Organismus, indem bei beiden die Tetradenform häufig zu beobachten ist. Neben dem bereits erwähnten sehr verschieden stark ausgebildeten proteolytischen Enzym der beiden unterscheiden sie sich auch noch in ihrem Sauerstoffbedürfnis. *Coccus lactis viscosi* wächst besser bei Sauerstoffabschluss, während jener wesentlich kräftigeres und schnelleres Wachstum zeigt bei ungehindertem Luftzutritt. Verschieden voneinander ist ferner ihr Wachstum auf Gelatineplatten. Der Gruber'sche Kokkus bildet unregelmässige, zerrissene, papierstückchenähnliche Kolonien, während der unserige glattrandige, runde Kolonien aufweist.

Aus diesen Ausführungen ergibt sich, dass eine Identifizierung des von uns isolierten, Milch fadenziehend machenden, Kokkus mit den bisher bekannten Erregern der schleimig-fadenziehenden Milch nicht möglich war, weshalb wir uns für berechtigt halten, ihn als eine neue Art anzusehen. Wir schlagen daher vor, ihn *Micrococcus mucofaciens* zu benennen.

Literaturverzeichnis.

- v. Freudenreich. Die Bakteriologie in der Milchwirtschaft. 3. Auflage, Jena, (Gustav Fischer), 1906.
- Lafar, F. Handbuch der technischen Mykologie. 2. Band. Jena, (Gustav Fischer), 1908.
- Hohl, J. Ein neuer, aus Stroh isolierter, das Fadenziehen der Milch verursachender Kokkus. (Landw. Jahrbuch der Schweiz, 1902, S. 342).
- Gruber, Th. Beitrag zur Kenntnis der Erreger der schleimigen und fadenziehenden Milch und Charakterisierung des *Coccus lactis viscosi*. (Centralbl. f. Bakteriologie, 2. Abteilg. IX Bd. 1902, S. 785).
-