

Mitteilung über einen eigenartigen bakteriologischen Befund bei einer bombierten Fleischkonserve

Autor(en): **Geilinger, Hans / Schaffer, F.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **11 (1920)**

Heft 1

PDF erstellt am: **09.08.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984217>

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.

MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER
LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM SCHWEIZ. GESUNDHEITSAMT

TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE SUISSE DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 10. — per Jahrgang. — Suisse fr. 10. — par année.

Preis einzelner Hefte Fr. 1. 80. — Prix des fascicules fr. 1. 80.

BAND XI

1920

HEFT 1

Mitteilung über einen eigenartigen bakteriologischen Befund bei einer bombierten Fleischkonserve.

Von HANS GEILINGER.

(Aus dem Laboratorium des Eidgenössischen Gesundheitsamtes,
Vorstand: F. Schaffer.)

Das Ueberraschende einer Beobachtung, die wir im Verlaufe der bakteriologischen Untersuchung einer bombierten Fleischkonserve zu machen die Gelegenheit hatten, dürfte die folgende Mitteilung rechtfertigen, ungeachtet der durch unerwartetes Eingehen des betreffenden Mikroorganismus bedingten Unvollständigkeit des erhobenen Befundes. Es handelt sich um ein streng anaërobes Stäbchen, das bereits in den gefärbten Ausstrichpräparaten des ranzig riechenden Konserveninhaltes in ziemlich grosser Zahl aufzufinden war. Seine Grössendimensionen betragen im mit Konserveninhalt angefertigten, gefärbten Präparat $0,7-0,8 \mu$ Breite und etwa $2,0 \mu$ Länge, im hängenden Tropfen mit Material aus einer 2tägigen Agarschüttelkultur sind die betreffenden Masse $1 \times 3 - 17 \mu$. Die Zellen besitzen abgerundete Pole, einzelne Individuen weisen schwache Krümmung auf. Beweglichkeit und Sporenbildung konnten nie festgestellt werden; doch beweist das Angen von 15 Minuten bei 80°C . pasteurisierten Agarschüttelkulturen aus Originalmaterial das Vorhandensein von Sporen. Verhalten bei Färbung nach Gram (etwas schwach) positiv. Alle vom Konserveninhalt angelegten aëroben Kulturen sind ohne Wachstum geblieben. Hingegen entwickelte sich der Organismus gut in Agarschüttelkulturen. Impf- und Fütterungsversuche an Meerschweinchen und Mäusen wurden nur mit dem Konserveninhalt durchgeführt, über Tierversuche mit Reinkulturen verfügen wir nicht. Es ist zum mindesten fraglich, ob es sich um einen tierpathogenen Organismus handelt, da jene Tiere allesamt gesund geblieben sind.

Das Verhalten der Kulturen in Milch, erstarrtem Pferdeserum, Hirnbrei, Gelatine und Agar geben Anhaltspunkte für seine Stellung im System: Unmittelbar vor der Impfung ausgekochte (und wieder gut gekühlte), mit Anaërobenverschluss versehene und 10 Tage bei 37° gestandene Milch ist ohne sichtbare Veränderung geblieben. Geruch ohne Besonderheiten, Reaktion sehr schwach sauer. In Pferdeserum (Stichkultur) tritt nach 10tägiger Bebrütung bei 37° keine Verflüssigung ein, es zeigt sich kein auffallender Geruch, der Serumzylinder ist von einer Anzahl Gasblasen durchsetzt. Hirnbrei (Rinderhirn, schwach alkalisch) weist nach 2—3 Tagen bei der angegebenen Temperatur Gärung auf. Schwärzung tritt auch bei 10 Tage langem Aufenthalt bei 37° nicht ein. Zu dieser Zeit ist der Geruch etwas brenzlich, die Reaktion schwach sauer. Gelatineschüttelkulturen ergeben nach 7tägigem Aufenthalt bei 22° kugelige, kompakte Kolonien von grauweisser Farbe unter einer obersten wachstumsfreien Zone von etwa 2 cm Höhe. Keine Gasentwicklung, keine Peptonisierung. Nach 18 Tagen hat sich das Bild insofern verändert, als jetzt das mittlere Drittel des Gelatinezylinders von einem feinen dichtflockigen Bazillenfadengewirr eingenommen wird. Hier handelte es sich wohl bereits um Gelatineerweichung. Das unterste Drittel ist noch durch gut abgegrenzte, kompakte, kugelige Kolonien charakterisiert; zwischen mittlerem und unterem Drittel befinden sich einige Gasblasen. Noch später ist dann im Bereich der Wachstumszone völlige Gelatineverflüssigung eingetreten. Die Agarschüttelkulturen ergaben nach 2 Tagen (37°) streng anaërobes Wachstum mit 1 1/2 cm hoher oberster kolonienfreier Schicht. Die Kolonien haben den lockeren Typus mit zerschlissenen Rändern, sie sind unregelmässig, flockig. Etwas Gasbildung, schwacher Buttersäuregeruch.

Aus dem Verhalten in erstarrtem Pferdeserum und in Hirnbrei ergibt sich zweifellos, dass von dem Vorliegen eines Fäulnisbazillus keine Rede sein kann. Wäre das nämlich der Fall, so müssten wir Verflüssigung des ersteren, Schwärzung des letzteren unter Entwicklung putriden Gestankes erwarten. Ausserdem hätte der Nachweis von Sporen unschwer gelingen müssen. In Milch ist der Organismus nicht zur Entwicklung gekommen, wobei es dahingestellt bleiben muss, ob wir darin eine Zufälligkeit zu erblicken haben, oder ob wir diesem Umstand einigen Wert bei einem Klassifizierungsversuch beilegen dürfen. Es könnten auch je nach dem Fall beide Anschauungsweisen zu Recht bestehen. Es sei hier darauf hingewiesen, dass wir gleichzeitig mit unserem Stäbchen Kulturen anderer Anaërobier in demselben Milchsubstrat anfertigten und dabei einerseits stürmische Gärung mit schwammiger Verklumpung des Kaseins, andererseits Peptonisierung ohne vorangegangene Gerinnung beobachten konnten. Im Nährsubstrat also dürften die Ursachen der fehlenden Weiterentwicklung nicht liegen. Trotzdem möchten wir diesem Umstand im vorliegenden Fall keinen weiteren diagnostischen Wert beilegen, da es sich um ein Stäbchen im labilen Gleichgewichtszustande, wie sich weiter unten ergeben wird, handelt, das vielleicht auch einem etwas gewaltsamen Milieuwechsel gegenüber, wie es das Ein-

bringen in Milch aus gewöhnlichem Nähragar bedeutet, mit Einstellung der Zellteilung reagiert. — Der Buttersäuregeruch der Agarschüttelkulturen verbunden mit dem erbrachten Nachweis, dass Eiweiss nicht angegriffen wird, weist uns darauf hin, dass wir es mit einem Buttersäurebazillus zu tun haben. Die Buttersäure der Agarkultur dürfte in diesem Falle nur vom Muskelzuckergehalt des Nährmediums hergerührt haben. Das Fehlen von Beweglichkeit und Sporenbildung und die Gelatineverflüssigung berechtigen ferner zu dem Schlusse, dass der von *Grassberger* und *Schattenfroh* so genannte *Granulobacillus saccharobutyricus immobilis liquefaciens* (unbeweglicher Buttersäurebazillus) vorliegen muss.

Bei der Weiterverarbeitung der Agarschüttelkulturen ergab sich nun ein unerwarteter Befund. Zunächst wurden von einer Agarschüttelkultur ausgehend von nicht pasteurisiertem Originalmaterial je eine aërobe und anaërobe Bouillonkultur angelegt, die aber beide nach 4tägigem Aufenthalt bei 37° keine Entwicklung erkennen liessen. Besseren Erfolg hatten wir mit 2 vom gleichen Ausgangsmaterial hergestellten Agarstichkulturen, die nach 2 Tagen (37°) gutes Wachstum längs dem ganzen Stich mit etwas seitlicher Proliferation ergaben. Ausserdem hatte sich aber eine kleine *Auflage* gebildet. Grampräparate von letzterer ergaben gramnegative Stäbchen, $0,9 \times 2 - 5 \mu$, abgerundete Pole. Wir glaubten es anfangs mit einer Verunreinigung zu tun zu haben und legten von dieser Auflage des weitem 2 Agaroberflächenkulturen sowie Gelatine- und Bierwürzegelatineplatten an. Doch ist weder auf jenen bei 37°, noch auf diesen bei 21° nach 9 Tagen Wachstum eingetreten.

War es damit unwahrscheinlich geworden, dass eine Verunreinigung vorlag, so wurde die Frage jetzt von Interesse, ob sich der Befund (ausgehend von einer 2. Agarschüttelkultur) wiederholen liesse. Wir wählten dazu eine der aus pasteurisiertem Originalmaterial angelegten Agarschüttelkulturen, von der wir 2 Agarstichkulturen herstellten. Während die eine derselben steril blieb, wies die andere schon nach 1 Tag (37°) kräftige Entwicklung längs dem Stich auf. Nur unmittelbar unter dem Agarniveau zeigte sich eine Verjüngung des Stiches. Eine Auflage hatte sich nicht ausgebildet.

Nach 2 Tagen (37°) hatte sich der Befund in folgender Weise verändert: Am Stich lässt sich jetzt Seitenwachstum feststellen in Form dreier in Winkeln von 60° zueinander orientierten Längsleisten, deren freie Ränder bogig eingeschnitten sind und durch besonders dichtes Wachstum deutlich werden. Grösste Breite des Stiches etwa 2 mm. Ungefähr 8 mm unter dem Niveau verschwinden nach kurzer Uebergangszone diese Längsleisten, dafür nimmt von dieser Stelle an der kahle Stich nach oben an Dicke und Dichte zu und hat unmittelbar unter dem Niveau ca. $\frac{2}{3}$ mm Durchmesser. Es hat sich jetzt ferner eine Auflage gebildet. Sie ist rundlich, von 5 mm Durchmesser, grauweisslich, etwas erhaben und saftig glänzend, mit zarter Randzone, die sich bei Lupenbetrachtung als gelappt erweist.

Wir glauben zu dem Schluss berechtigt zu sein, dass hier ein Fall von *Pseudoaërobiose* vorliegt. Die Bakterienmassen der Auflage stammen wohl aus dem Stichkanal, aus dem sie durch andauernde Bakterienwucherung in demselben allmählich nach oben aus ihm herausgedrängt wurden. Dafür spricht auch die Konfiguration jener obersten Stichstelle, die sich einem Krater vergleichen liesse.

Ob innerhalb der Auflage noch weiteres Bakterienwachstum stattgefunden hat, ist fraglich; dafür spricht vielleicht der zarte Rand mit Lappenbildung, dagegen der Umstand, dass es nie gelungen ist, durch Abimpfung von der Auflage wieder Kulturen zu erhalten, weder aërob noch anaërob (von der Auflage der 2tägigen Kultur wurden Agarschüttelkulturen, eine Agarstichkultur und je eine aërobe und anaërobe Bouillonkultur angelegt; sämtliche Kulturen wurden 6 Tage bei 37° gehalten, in keiner hat sich Wachstum eingestellt), ferner das Ergebnis der Gramfärbung, indem die von der Auflage stammenden Stäbchen schlechter gramfärbbar waren als die normal gewachsenen.

Als besonders auffallend musste es aber nun erscheinen, dass wir bei Gelegenheit der Durchmusterung dieser Oberflächenbelagmassen im hängenden Tropfen auf ein Gebilde von grosser Regelmässigkeit stiessen, über dessen *Spirochäten- oder Spirillumnatur* wir bloss im unklaren waren. Die Notizen darüber im Protokoll seien hier wiedergegeben:

Hängender Tropfen von der Auflage: Unbewegliche, sporenfreie Stäbchen ($0,9 - 1,0 \times 2 - 5 - 10 - 25 \mu$) in grosser Ueberzahl. Ganz vereinzelt «Spirochäten». Es sind dies korkzieherartig gekrümmte Gebilde von schlanker, langgestreckter Gestalt, in der Mitte am dicksten, symmetrisch gegen beide Enden allmählich sich verjüngend; diese sind scharf zugespitzt. Länge 43μ , innere Weite eines Schraubenganges der Mitte 2μ , Dicke des Zelleibes in der Mitte etwa $\frac{3}{4} \mu$.

Einen Tag später wird wieder eine solche Form gefunden; ausserdem eine bedeutend dickere: Länge 30μ , 16 Doppelwindungen, Dicke des Zelleibes in der Mitte 3μ . Im Innern des Zelleibes, den Windungen parallel, lässt sich eine durch verschiedene Lichtbrechung bedingte feine Streifung erkennen. Wir glaubten damals diese Erscheinung beginnender Längsteilung zuschreiben zu müssen.

Aus dem Material des Stichkanals dieser soeben beschriebenen, jetzt 3 Tage alten Agarkultur wurde eine weitere Agarstichkultur angelegt, die nach 24 Stunden (37°) bereits kräftiges Wachstum längs dem ganzen Stich und schon etwas Oberflächenentwicklung aufweist. Die Auflage ergibt wieder neben unbeweglichen, sporenlösen Stäbchen nach längerem Durchmustern des hängenden Tropfens eine 30μ lange «Spirochäte» vom angegebenen Aussehen.

Von dieser Kultur wird nach 13 Tagen in ein frisches Agarröhrchen abgestochen. Es tritt jetzt eine *Habitusänderung der Kultur* ein; einerseits entwickelt sich nämlich kein Oberflächenwachstum mehr, der Stich endet

oben 13 mm unter dem Agarniveau, andererseits kommt es zur Ausbildung langer seitlicher Ausläufer mit wolkig-flockigen Sekundärkolonien. «Spirochäten» liessen sich keine mehr nachweisen (Beobachtung an der 5tägigen Kultur). Dass dieser Wechsel mit dem Umstande zusammenhängt, dass diese Kultur nur bei 32° gehalten wurde, ist unwahrscheinlich, da 2 weitere, von derselben angefertigte, wieder bei 37° wachsende gelassene Agarkulturen ganz dasselbe Aussehen wie ihre Mutterkultur beibehielten: Aufhören des Stichwachstums 1 cm unter dem Agarniveau, kräftiger Stich mit Ausbildung langer Seitenausläufer, besonders in der Mittelpartie, die stellenweise die Glaswand erreichen und flockige Sekundärkolonien ausbilden. Der Einwand, dass die Modifikation des Kulturbildes auf einer Aenderung in der Beschaffenheit des Nährsubstrates ¹⁾, bedingt besonders durch den bei längerer Aufbewahrung abgefüllter Agarröhrchen eintretenden Wasserverlust, beruhen könnte, ist insofern nicht stichhaltig, als jedenfalls der Wassergehalt und die kolloide Beschaffenheit des Agargels nur geringfügigen Schwankungen unterworfen gewesen sein konnten. Wir ergänzen nämlich Agarröhrchen, die ein Sinken des Niveau um ca. $\frac{1}{2}$ cm infolge Wasserverdunstung aufweisen, mit sterilem destilliertem Wasser; dazu kommt, dass ja vor jeder Impfung der Agar frisch geschmolzen und wieder erstarren gelassen worden war (20—30 Minuten lange Auskochung zwecks möglichst weitgehender Sauerstoffentfernung), sodass wohl immer so ziemlich die gleiche kolloidchemische Struktur der Agargallerte vorgelegen haben musste. Dichterwerden des Agars infolge Wasserverdunstung — frische Herstellung des Gelzustandes vorausgesetzt — einerseits, Entstehen langer Seitenausläufer vom Stiche aus andererseits, sind übrigens wohl kaum in kausalen Zusammenhang zu bringen, indem umgekehrt eher zu erwarten wäre, dass ersterer Vorgang diesem Vortreiben von Seitenästen hinderlich wäre. (Wohl besser in Einklang zu bringen wäre das Ausbleiben der Entwicklung einer Auflage mit dem Fehlen der Kontraktionswasserschicht an der Oberfläche, wenn nicht eben diese Verhältnisse im Verlaufe unserer Fortzüchtung ungefähr die gleichen geblieben wären.)

Es wurde von nun an alle 14 Tage auf frisch ausgekochten Agar in hoher Schicht abgestochen, wobei fortgesetzt eine hochgradige Sauerstoffempfindlichkeit der Weiterkultivierung gewisse Schwierigkeiten bereitete, die sich auch darin dokumentierte, dass der Abstand vom Agarniveau bis zum oberen Ende des bewachsenen Stiches stetig zunahm. 48 Tage seit Beginn dieser Konservenuntersuchung war die Weiterimpfung zum letzten Mal von Erfolg.

Nach dem Ausbleiben des Oberflächenwachstums ist es uns nicht mehr gelungen «Spirochäten» zu finden. Können wir also in diesen ein Kriterium dafür erblicken, dass die Auflage autochthonen Charakter hat? Bestehen Beziehungen zwischen ihrem Auftreten und der Pseudoaërobiose? Handelt es sich überhaupt bei Stäbchen und «Spirochäten» um 2 verschiedene Klein-

¹⁾ Es wurde während der ganzen Versuchsdauer der gleiche Nähragar benützt.

wesen oder um Formelemente ein und desselben Mikroorganismus? Bevor wir auf diese Fragen eintreten konnten, mussten wir über die Natur dieser korkzieherförmigen Gebilde ins reine kommen.

Anfänglich hielten wir dieselben für Spirillen und machten Züchtungsversuche auf *Kutschers*¹⁾ Spirillennährmedien, aber ohne Erfolg. Auch Färbungsversuche mit starker (Karboll-) Fuchsinlösung und nach *Giemsa* schlugen fehl. Geisselfärbungen wurden nicht ausgeführt, weil zur Zeit, da wir die Gebilde in Händen hatten, uns, voreingenommen wie wir durch ihre merkwürdig selbständige Erscheinung waren, die Erkenntnis ihres wahren Charakters nicht kommen wollte. Erst nachträglich und durch Zufall wurden wir durch die Literatur auf die richtige Fährte geführt.

Schon 1890 beschrieb *Löffler*²⁾ bei nach seiner Geisseldarstellungsmethode gefärbten Präparaten von Rauschbrandbazillen solche Gebilde, die er als abgerissene und zu Zöpfen verschlungene Geisseln bewertete. Er hielt sie für die Rauschbrandbazillen als charakteristisch, doch bald nachher fand *Sakharof*³⁾ ebensolche Geisselzöpfe in der Kultur eines aus einem Cholerastuhl stammenden Bazillus. Diese Gebilde waren wie jene *Löfflers* ebenso gut im ungefärbten Zustande sichtbar wie in Präparaten mit Geisselfärbung. Analoge Befunde teilten 1894 *Novy*⁴⁾ von einem zur Gruppe des malignen Oedems gehörenden Bazillus, 1897 *Kanthack* und *Connell*⁵⁾ in bezug auf 4—14 Tage alte (anaerobe) Agarstrichkulturen von Tetanusbazillen, 1902 *Malvoz*⁶⁾ von einem *Bacterium coli* aus Typhusstuhl mit. Besonders die Mikrophotogramme letzterer Arbeit geben die Befunde in vollkommener Art wieder. 1904 beobachtete *Grassberger*⁷⁾ Geisselzöpfe wieder bei Rauschbrandbazillen und zwar sowohl in einem mit wässriger Gentianaviolettlösung gefärbten Präparat, wobei die Gebilde als solche in ungefärbtem Zustande in die Erscheinung traten, als auch sehr sinnfällig in nach der Methode *v. Ermenghems* behandelten Ausstrichen. 1919 beschrieben *Koga* und *Otsubo*⁸⁾ ähnliche Formen, die ihnen bei Reinzüchtungsversuchen von *Smegmaspirochäten* begegneten. Die Gebilde waren im Dunkelfeld oder im Tuschepräparat sichtbar. Sie sollen eine grosse Aehnlichkeit mit Involutionsformen von *Treponema macrodentium* *Noguchi* haben. Es gelang den Autoren trotz aller Bemühungen nicht, von ihnen Reinkolonien zu erhalten. Sie traten immer in Begleitung von *Bac. subtilis* auf. Es liessen sich 2 Hauptformen unter-

¹⁾ *Kutscher*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 18, S. 614.

²⁾ *Löffler*, Centralbl. f. Bakt., Bd. 7, Nr. 20.

³⁾ *Sakharof*, Ann. de l'Institut. Pasteur, 1893.

⁴⁾ *Novy*, Ztschr. f. Hyg., 1894, Bd. 17.

⁵⁾ *Kanthack* und *Connell*, Transact. of the pathol. Soc. of London, vol. 48, pag. 271; Journ. of Pathol., vol. 4, pag. 452; zit. nach Baumgartens Jahresber., 1897.

⁶⁾ *Malvoz*, Ann. de l'Institut. Pasteur, 1902.

⁷⁾ *Grassberger* und *Schattenfroh*, Arch. f. Hyg., Bd. 48, S. 18. Siehe auch l. c. Bde. 37, 42 und 60.

⁸⁾ *Koga* und *Otsubo*, Journ. of infect. Dis., vol. 24, 1919; zit. nach Bull. de l'Institut. Pasteur, T. 17, 1919.

scheiden: Grosse Pseudospirochäten mit Schraubengängen von $2-5 \times 1-1,5 \mu$ und kleine Pseudospirochäten mit Schraubengängen von $1-1,5 \times 1-1,2 \mu$. Die Zahl der Schraubengänge wechselt von 2-100 bei den grossen und mehreren 100 bei den kleinen Formen. Die Schraubengänge sind regelmässig. Im allgemeinen zeigen sich $15-30 \mu$ lange Gebilde mit 6-15 Schraubengängen. Häufig sollte man Erscheinungen von Längsteilung bemerken, doch auch Querteilung fehle nicht. Die Pseudospirochäten sind unbeweglich und zeigen sehr wenig Affinität für Farbstoffe. Hingegen sollen sie sich sehr gut mit den Geisselfärbemethoden zur Darstellung bringen lassen. Als zu ihrer Gewinnung am besten geeignete Kulturmedien geben die Autoren Aszitesplasma, Aszitesagar nach *Noguchi* und Pferdeserum nach *Shimamine* an. Zahlreiche Mikroben sollen imstande sein, solche Gebilde zu erzeugen.

Aus dem refraktären Verhalten gegenüber gewöhnlichen Färbeverfahren einerseits, der guten Darstellungsmöglichkeit mit Geisselfärbemethoden andererseits erhellt die Geisselnatur dieser Gebilde. Dass es sich nicht um selbständige Zellen handeln kann, ergibt sich auch daraus, dass an ihnen nie Lebensäusserungen, wie Bewegung oder Wachstum zu Kolonien beobachtet werden konnten; nur die (auch von uns beobachteten) «Längs-» und die «Querteilungserscheinungen» liessen auf Wachstum schliessen, vorausgesetzt eben, dass es sich dabei wirklich um Zellteilungsphänomene handelt.

Ueber ihre Entstehung bestehen 2 voneinander abweichende Ansichten. *Löffler*, *Sakharof*, *Migula*¹⁾ und *Malvoz* halten die Formen für Konvolute von einzelnen Geisseln, dadurch zustande gekommen, dass zuerst einzelne Geisseln benachbarter Bazillen sich verwickelten, wobei es sich leicht ereignete, dass bei der Fortsetzung ihrer Bewegungen ein Teil der verfangenen Geisseln von ihren Bazillenleibern abriss. Durch Wiederholung dieses Vorganges entstanden nach und nach gewaltige Geisselzöpfe, die sich schliesslich von allen dazu gehörigen Bazillen lostrennten und dann als selbständige Gebilde imponierten. Demgegenüber erhebt *Novy* den Einwand, dass es bei dieser Anschauung nicht zu verstehen sei, warum «die Randlinien dieser grossen Geisseln fast unveränderlich scharf und deutlich abgeschnitten sind. Nie fand es sich, dass eine Spirale mit mehr als einer Zelle zusammenhing, und dann ist sie immer mit dem dünnen Ende verbunden. Im Falle ihrer Zusammensetzung aus einem Haufen von Geisseln dürften wir gelegentlich erwarten, ausgefranste Ränder an den Spiralen und Bazillen mit verschiedenen Teilen der Spirale verbunden zu finden; allein das ist nie der Fall.» *Novy* neigt eher dazu, die Gebilde als Involutionsformen von Geisseln zu bewerten. Auch *Koga* und *Otsubo* scheinen sich letzterer Ansicht anzuschliessen, soweit das aus dem uns allein zugänglichen Referat hervorgeht.

Nachdem die Geisselnatur der Spirochätenformen einmal sichergestellt oder zum mindesten äusserst wahrscheinlich geworden war, musste es zunächst paradox erscheinen, dass diese Gebilde ausschliesslich in der Auflage,

¹⁾ *Migula*, System der Bakterien, Bd. I, 1897; zit. nach *Malvoz* l. c.

nicht aber im Stichkanal anzutreffen waren, und man konnte versucht sein, sie als Kriterium für den autochthonen Charakter der Auflage zu bewerten. Doch bewog uns folgende Ueberlegung, darauf kein grosses Gewicht zu legen. Die Entstehung von Geisselzöpfen dürfte, wenigstens soweit es sich um Agarkulturen handelt, durch den flüssigen Zustand des Mediums ganz wesentlich gefördert werden, wie auch aus entsprechenden Angaben der Literatur hervorgeht. So gibt z. B. *Novy* an, dass er mit Agar zu besonders guten Ergebnissen kam, wobei wieder im Kondenswasser das beste Material zu finden gewesen sei. (Sonderbarerweise sollen im Gegensatz dazu Bouillonkulturen für die Bildung der Spiralen nach diesem Autor ungeeignet sein). Diese Bedingung ist nun offenbar bei den Kulturen mit frischgeschmolzenem und erstarren gelassenem Agar in viel vollständigerer Weise am Agarniveau erfüllt als im Stichkanal, indem sich auf ersterem einerseits eine dünne Schicht von sog. Kondenswasser ansammelt, andererseits in den auf die Impfung folgenden Stunden die Funktion der Geisseln nicht durch die Gegenwart einer grösseren Bakterienmenge behindert wird. Hinsichtlich der Frage nach dem kausalen Zusammenhang von Pseudoaërobiose und Ausbildung der Geisselzöpfe (oder Riesengeisseln?) kann vermutet werden, dass ein solcher insofern besteht, als unter der schädigenden Einwirkung des atmosphärischen Sauerstoffes die Geisseln alteriert werden. Dabei käme es entweder zu einer abnormen Brüchigkeit derselben, was der Entstehung von Zöpfen Vorschub leistete, oder zu einem degenerativen, zur Quellung führenden Zustand, in dem sie als Riesengeisseln imponierten. Doch noch wertvoller erscheint uns das Eingeständnis, dass wir über den wahren Charakter des ganzen Befundes eigentlich nichts wissen. Schwierigkeiten bereitet dem Verständnis besonders auch der Umstand, dass nur mächtige Formen in ganz spärlicher Zahl, hingegen keine Uebergänge zu einfachen Geisseln gefunden wurden. Möglicherweise hätte hier eine Geisselfärbung besseren Aufschluss gegeben.

Ungleich wichtiger ist nun aber die objektiv feststellbare Tatsache des Vorliegens von Geisseln überhaupt. Das Vorhandensein von Geisselzöpfen ist ein untrügliches Zeichen, wenn nicht stattgehabter Lokomotion, so doch der Ausbildung von Bewegungsorganen. Also musste der Organismus zum wenigsten früher einmal beweglich gewesen sein. In ganz analoger Weise ist noch eine andere Feststellung zu bewerten: Im Anwachsen von mit pasteurisiertem Originalmaterial beimpften Agarkulturen dokumentiert sich unzweifelhaft das Vorhandensein von Sporen, wenn es uns auch nie gelungen ist, solche mikroskopisch bei Kulturen festzustellen. Sie mussten also jedenfalls im Konserveninhalt in lebendem Zustande vorhanden gewesen sein.

Nun ist seit den bahnbrechenden Untersuchungen von *Grassberger* und *Schattenfroh* die ausserordentliche Labilität der zur Gruppe der dimorphen Buttersäurebazillen gehörenden Anaërobier mit ihren pathogenen und harmloseren Vertretern bekannt. Diese von den Autoren als Denaturierbarkeit bezeichnete Labilität wird in erster Linie durch den Verlust von Beweglich-

keit und Versporungsvermögen dieser Organismen gekennzeichnet. Das legt uns die Auffassung nahe, dass *unser Stäbchen vor kurzem noch den Charakter der beweglichen Form des dimorphen Buttersäurebazillus gehabt hatte*, der aber schon bei unseren Züchtungsversuchen auf künstlichen Nährmedien durch *Denaturierung* verloren gegangen ist.

Es ist in diesem Zusammenhang noch darauf hinzuweisen, dass der Konserveneinhalt sehr wahrscheinlich ursprünglich nicht ausschliesslich von dem Buttersäurebazillus besiedelt war, indem die direkten Ausstrichpräparate, allerdings mehr vereinzelt, noch andere Formelemente von Mikroorganismen zu erkennen gaben, so z. B. eine grampositive Diplokokkenform mit distal zugespitzten Enden, eine andere mit kreisrunden und ziemlich grossen Einzelzellen. Dieser Umstand ist vielleicht geeignet, die Verhältnisse der Sporenogenität etwas zu beleuchten. Die genannten Autoren weisen unter anderem (Arch. f. Hyg., Bd. 42, S. 243) darauf hin, dass unter Umständen die Gegenwart anderer, aërober oder anaërober Bakterienarten die Neigung zur Bildung von Sporen auffällig begünstigt. Sie geben dann weiterhin an, «dass sich diese Beeinflussung des Versporungsvorganges durch Symbiose vor allem darin bemerkbar macht, dass bei der Reinzüchtung aus Bakteriengemischen, insbesondere dann, wenn aus flüssigen Nährböden Zuckeragarplatten gegossen werden, die auf den Platten zur Entwicklung kommenden Kolonien sehr häufig sporenarm sind, ja dass die Generationen, welche von solchen sporenarmen Kolonien weiterhin unter verschiedensten Verhältnissen angelegt werden (auf flüssigen und festen Nährböden), oft geringe Neigung zur Versporung beibehalten». Auch den folgenden Befund könnte man versucht sein, im gleichen Sinne zu verstehen: Aus Marktmilch konnten die Autoren den dimorphen Buttersäurebazillus und zwar ausschliesslich in seiner denaturierten Form kulturell in etwa 78 % bei etwa 80 Fällen gewinnen, indem sie dieselbe geraume Zeit ($\frac{1}{2}$ Stunde) im strömenden Dampfe erhitzen und dann der Brutwärme aussetzten. (In etwa 2 % wurde der bewegliche, leicht sporulierende Buttersäurebazillus erhalten. [Arch. f. Hyg., Bd. 37, S. 67].) Sicherlich musste in jenen 78 % auch ein mit Sporen ausgerüsteter Mikroorganismus vorgelegen haben, da die intensive Erhitzung so gut überstanden wurde. *Grassberger* gibt uns eine Erklärung für diese merkwürdige Tatsache (Arch. f. Hyg., Bd. 48, S. 61): «Der Grund liegt darin, dass unter der grossen Zahl der aus den Sporen ausschlüpfenden Stäbchen diejenigen, bei welchen die Neigung zur Versporung am geringsten ist, sich am raschesten vermehren und in kurzer Zeit alle anderen Rassen verdrängt haben. Mit der reichlichen Vermehrung geht aber Versporungsfähigkeit und Beweglichkeit rasch erblich in Verlust.» Durch das Erhitzen wurde nun die Milch dem Zustande der Reinkultur beträchtlich genähert. Dabei liesse sich die Frage aufwerfen, ob der Untergang aller nicht sporenbildenden (verunreinigenden) Mikroorganismen, die als Symbionten fungieren könnten, die Vorbedingung abgebe für diesen Vorsprung der schlecht sporulierenden Rassen des dimorphen Buttersäurebazillus gegenüber den gut sporulierenden.

Wir können mit unserer Schlussfolgerung noch einen Schritt weiter gehen, indem ja unsere Befunde der Pasteurisierbarkeit und der Geisselzöpfe darauf hindeuten, dass der Prozess der Denaturierung nicht weit zurückliegen kann. Geisseln mussten sogar noch in den künstlichen Nährmedien zur Ausbildung gekommen sein, obschon trotz wiederholter Kontrolle nie Lokomotion festgestellt werden konnte (was auf mangelhaften Gebrauch dieser Bewegungsorgane und baldiges Abwerfen derselben hindeutet).

Unser Organismus befindet sich also in einem neuen und möglicherweise ihm noch ungewohnten Zustand. Ein Argument für die Richtigkeit dieser Annahme liegt einmal in der geschilderten Aenderung im Habitusbild der Agarstichkultur, die zum Teil auch als zunehmende Empfindlichkeit gegenüber atmosphärischem Sauerstoff gedeutet werden kann. Als Ganzes wird sie wohl richtig als protrahierte Absterbeerscheinung bewertet. (Andere strenge Anaerobier, die ungefähr zur gleichen Zeit isoliert worden waren und in genau gleicher Weise auf künstlichem Milieu gehalten werden, leben heute noch bei freudigem Wachstum.) In dieser Beziehung ist noch eine Angabe von *Grassberger* von Interesse, der darauf hinweist, dass «in Kolonien, welche dem knolligen Typus entsprechen» — gemäss unserer Agarstichkultur ohne Seitenäste — «die Menge der Granulose führenden und insbesondere der Sporen tragenden Stäbchen häufig eine auffallend grosse ist, während bei Vegetationen mit diffuser Infiltration fast regelmässig Klostridien und Sporen in den Hintergrund treten» (Arch. f. Hyg., Bd. 42, S. 224). Wir dürfen also vielleicht die Bildung von Seitenausläufern als Symptom für das Abnehmen des Sporulationsvermögens ansehen.

Dann aber ist besonders die Tatsache des Absterbens als solche trotz kurzfristiger und sorgfältiger Weiterzüchtung ein deutlicher Hinweis darauf, dass es dem Organismus offenbar nicht gelungen ist, sich seinem neuen Zustande auf die Dauer anzupassen, beziehungsweise, dass er in seiner neuen Organisation noch nicht hinreichend gefestigt war, um die bei der künstlichen Züchtung gebotenen Verhältnisse dauernd zu ertragen.

Zusammenfassung: Aus dem Inhalt einer verdorbenen Fleischkonserve wurde ein unbeweglicher, obligat anaerober Bazillus isoliert, der als Buttersäurebazillus anzusprechen ist. Er legte eine Zeitlang ein scheinbar aerobes Verhalten an den Tag. Während dieser Episode wurden unter den Bazillen der oberflächlichen Auflagerung vereinzelt unbewegliche, spirochätenförmige Gebilde von beträchtlichen Dimensionen gefunden, wie sie in der Literatur als Geisselzöpfe beschrieben sind. Während der Organismus auch aus pasteurisiertem Konserveninhalt unschwer zu gewinnen war, liessen sich Sporen doch nie mikroskopisch nachweisen. Es dürfte also die denaturierte (unbewegliche, asporogene) Form des dimorphen Buttersäurebazillus im Sinne von *Grassberger* und *Schattenfroh* vorliegen, die sich vor kurzem aus der beweglichen, sporulierenden entwickelt hat. Man gewinnt den Eindruck, dass der neue Zustand noch nicht konsolidiert ist, was in der Aenderung des Habitusbildes der Agarstichkultur und im baldigen Absterben des Organismus seinen Ausdruck findet.

Es sei mir gestattet, Herrn Prof. Dr. *Rob. Burri* für die willkommenen Anregungen in der Interpretation der dargelegten Befunde, für die er sich in entgegenkommendster Art interessierte, auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

Meinem Kollegen, Herrn Dr. *Karl Schweizer*, verdanke ich den Hinweis auf die Arbeit von Koga und Otsubo, die mir zu weiterem Literaturstudium und damit zur Aufklärung des « Spirochäten »-Befundes den Anstoss gab.

Zum Nachweise von Obstwein im Traubenwein.

Von F. SCHAFFER.

(Aus dem Laboratorium des eidg. Gesundheitsamtes.)

In der Jahresversammlung des Schweiz. Vereins analytischer Chemiker im Mai 1919 haben wir mitgeteilt¹⁾, dass Obstweine eine auffallend stärker reduzierende Fähigkeit zeigen als Traubenweine und vorläufig ein Verfahren angegeben, das wir als Beitrag zum Nachweis von Obstwein im Traubenwein bezeichneten.

Der zu untersuchende Wein wird mit Tierkohle behandelt, wodurch nicht nur der Farbstoff, sondern auch der Gerbstoff vollständig entfernt werden kann. Das farblose, klare Filtrat wird mit Silbernitrat unter Zusatz von Alkali und unter nachstehend genauer beschriebenen Bedingungen auf seine reduzierende Wirkung geprüft.

Wie schon mitgeteilt wurde, geben auch reine Weine nach einiger Zeit schwache Reduktion. Weitere Versuche haben ergeben, dass dies insbesondere bei sauren Jungweinen der Fall ist. Der Unterschied gegenüber der Reduktion von Obstwein (aus Äpfeln und Birnen) ist aber so bedeutend, dass er für den Nachweis von diesem in Traubenwein geeignet erscheint. Die reduzierende Wirkung des Traubenweines lässt sich, wie durch Versuche festgestellt worden ist, schon durch künstliche Gärung (unter Hefezusatz mit etwas Hefenährsalz bei 30° C) so weit beseitigen, dass sie praktisch nicht mehr in Betracht fällt. Bei Obstwein ist dies nicht der Fall. Nach 8 bis 10tägiger künstlicher Nachernährung war im Obstwein wenigstens keine wesentliche Verminderung der Reduktion konstatierbar. Das gleiche wie mit künstlicher Gärung kann aber auch durch eine kurz andauernde schwache Oxydation erreicht werden. Hierzu eignet sich Magnesiumperhydrol, das in genau bestimmten, stets gleichen Mengenverhältnissen angewendet werden muss.

Die früher beschriebene Methode wurde dementsprechend modifiziert und gestaltet sich nun wie folgt:

¹⁾ *Schaffer* und *Schuppli*: Diese « Mitteilungen », 1919, S. 204.