

Experimentelle Beiträge zur Mikrobiologie der Getreidemehle. 1. Mitteilung [Fortsetzung]

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): **13 (1922)**

Heft 4

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984088>

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.

Experimentelle Beiträge zur Mikrobiologie der Getreidemehle.

Von Dr. HANS GEILINGER.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Eidg. Gesundheitsamtes,
Vorstand: Prof. Dr. F. Schaffer.)

1. Mitteilung:

Ueber koliartige Mehlbakterien. (Fortsetzung.)

VI.

Ergänzungen betr. die nähere kulturelle Charakterisierung unserer zur Mehlkoli- und der nahestehenden Herbiokolagruppe gehörenden Stämme (Erhebungen betr. den sogenannten Gasquotienten, das Wachstum auf Milchagar, in Barsiekownährlösungen, Lackmusmolke, Neutralrotagar, Indol- und Tryptophanbildung, zur Hämolysefrage).

Da es einerseits wünschbar war, eigenartige Kulturmerkmale unserer Mehlkoli- und Herbi kolaorganismen durch Herstellung beträchtlicherer Parallelkulturreihen einer noch exakteren Vergleichung zu unterwerfen, andererseits die kulturelle Charakteristik dieser Mikroorganismen von uns noch zu fragmentarisch durchgeführt war, so hielten wir eine ergänzende kulturelle Bearbeitung des durch eine Anzahl verschiedener, durch Tier- und Endoplatenpassagen gewonnener Stämme vergrößerten Materials für angebracht.

Erneute *Gelatineplattenkulturen* ergeben den reinen Zustand sämtlicher Stämme und bestätigen den *Vorsprung in der Gelatinepeptonisierung*, den «c» gegenüber den anderen Mehlkoli hat. Von den *Herbi kola-Stämmen* ist jetzt (nach 16 Monaten) «Gelb M 12» der am schnellsten verflüssigende: Nach 6 Tagen liegen seine Kolonien in grossen Verflüssigungsschalen, während die beiden anderen Stämme noch flachkuppig erhaben, zum Teil gedellt sind (bei gleichem Durchmesser der Kolonien!). Der «H»-Stamm (Albidoliquefac.) fällt auf durch seine nagelkopfförmig erhabenen Kolonien, die am 6. Tage noch keine Spur von Peptonisierung, am 15. schalenförmige Verflüssigung bei kompakt gebliebenem Bakterienbelag aufweisen (21 Monate nach der Isolierung). Die folgende *Tabelle VI* ergibt das Uebereinstimmen in der Schnelligkeit und Intensität der Gelatinepeptonisierung bei unseren Originalstämmen «a», «b», «d», «e» und «f» und einiger ihrer durch Tierpassage erhaltenen Tochterstämmen und das diesbezüglich abweichende Verhalten des «c»-Stammes 1 bis 3 Monate nach deren Isolierung, resp. unmittelbar nach derselben bei den beiden Mauspassage-Stämmen.

Ein gegenüber *Kasein tryptisch wirkendes Enzym* wird von den Originalstämmen inklusive «H» und die Herbi kola-Stämme *nicht gebildet*, indem Strichkulturen auf *Milchagarplatten* nach einem Tag bei 32 resp. 2 und 3 Tagen bei 37° keine Aufhellungszone erkennen lassen, während ein *Bact. vulgare* und ein *Bac. mesentericus* am zweiten Tag eine solche erzeugt hatten. Die Tier- und Endoagarpassagestämmen verhalten sich gegenüber Milch-Kasein wie die Originalstämmen.

Tabelle VI.

A.

Stichkulturen in Gelatine, die bei 23° C. beginnt weich zu werden, bei 18° aufgestellt. Die Stämme werden vor der Impfung über Gelatineplatten geschickt, von jedem Stamm werden von je 2 Kolonien Abstiche gemacht.

	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage	15 Tage
« a »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« b »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« c »	—	—	+	++	++	++	+++ +
	—	—	+	++	++	++	+++ +
« d »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« e »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« f »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« g »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	—	±	+++ +
« h »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« i »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
« k »	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
«Maus Nr. 2. 4. Versuch»	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +
«Maus Nr. 8. 4. Versuch»	—	—	—	—	±	++	+++ +
	—	—	—	—	±	++	+++ +

Zeichenerklärung: — = fest; ± = beginnende, schlauchförmige Verflüssigung; + = schlauchförmige Verflüssigung; ++ = strumpfförmige Verflüssigung; +++ = fast vollständige Verflüssigung.

B.

Kulturen in Gelatine, die bei 37° gehalten wird. Das Fortschreiten der Peptonisierung wird durch jeweiliges Einstellen in kaltes Wasser beobachtet.

	1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage
« a »	—	—	—	++
« b »	—	—	—	++
« c »	—	—	+	++
« d »	—	—	—	++
« e »	—	—	—	++
« f »	—	—	—	++
« g »	—	—	—	++
« h »	—	—	—	++
« i »	—	—	—	++
« k »	—	—	—	++
« Maus Nr. 2 4. Versuch »	—	—	+	++
« Maus Nr. 8 4. Versuch »	—	—	—	++

Zeichenerklärung: — = Gelatine lässt sich zu fester Erstarrung bringen; + = bei starker Erschütterung zittert die Gelatine; ++ = vollständige Peptonisierung.

Alle diese Stämme, insbesondere auch «H» und die Spaltlinge von «g», wieder mit Ausnahme von «c», das bei gutem Wachstum überhaupt keine Gasbildung erkennen lässt, verhalten sich ebenso übereinstimmend in *Agarschüttelkulturen mit 2% Dextrose* bzw. *Laktose*, *Maltose* oder *Saccharose* bei 37° nach 12 bis 17monatiger künstlicher Fortzüchtung. Die Intensität der Vergärung der einzelnen Zuckerarten entspricht den früheren Befunden (siehe 12, 74 d. Zeitschr.). Bei den *Herbikola-Stämmen* zeigt sich eine *Abweichung*: Während früher alle drei Stämme bei 37° Dextrose vergoren, lässt diesmal «Gelb M 8» Gasbildung vermissen. Es ist seit der Isolierung ein Jahr verflossen. Nach 16 Monaten werden die *Herbikola-Stämme* auf Gasbildung in einer schwach alkalisch reagierenden 2%igen Dextrose-Fleischextraktpeptonlösung in *Smithkölbchen* geprüft (bei 32 und 37°), wobei bei keinem der Organismen Gas sichtbar wird.

Eine Frage von besonderem Interesse ist es, ob sich die *Zusammensetzung der Gärungsgase aus Kohlensäure und Wasserstoff* als differentialdiagnostisches Kriterium z. B. gegenüber Koli verwenden lässt. Nach den Untersuchungen der früheren Autoren wird der Eindruck erweckt, dass dem so sei wenigstens in bezug auf *Bact. levans* (siehe d. Zeitschr., 12, 76). Nun hat jedoch *Frieber*¹⁾ gezeigt, dass bei der Methodik sämtlicher einschlägiger Untersuchungen von allen Autoren darin gefehlt wurde, dass der Umstand der Gasabsorption übersehen wurde. Dies kann aber zu völlig falscher Beurteilung der Tatsachen führen, indem bei nicht gasdichtem Abschluss der CO₂-Gehalt zu einer Funktion der Gesamtgasmenge wird: Je grösser

¹⁾ Die Bedeutung der Gasabsorption i. d. Bakteriologie. C. f. B., I. Abt., O., 69, 437 (1913).

Eine Modifikation der Untersuchungsmethode von Gärungsgasen. C. f. B., II. Abt., 36, 438 (1913).

die Gesamtgasmenge, umso grösser der CO_2 -Gehalt. Diese Erscheinung erklärt sich aus der verschiedenen Absorbierbarkeit von Wasserstoff und Kohlendioxyd in Wasser. In einer weiteren Arbeit¹⁾ weist *Frieber* ferner nach, dass das Gasverhältnis $\text{H}_2 : \text{CO}_2$ bei *Bact. paratyphi A*, *Bact. paratyphi B*, *Bact. enteritidis*, *Bact. paracoli* und *Bact. coli commune* einen Wert hat, der annähernd bei 1 liegt. Es werden also fast gleiche Volumina beider Gase gebildet. Daraus ergibt sich ohne weiteres, dass das Gasverhältnis $\text{H}_2 : \text{CO}_2$ als Artcharakteristikum für die erwähnten Mikroorganismen nicht benutzt werden kann. Wie steht es in dieser Beziehung mit der Mehlkoligruppe? Durch *Rogers* und Mitarbeiter²⁾ wurde die Eigenart einer grossen Zahl gelb und farblos wachsender Gasbildner teils mit, teils ohne Gelatinepeptonisierungsvermögen kulturell-biochemisch so umschrieben, dass an der nahen Verwandtschaft oder Identität mit den Vertretern der Mehlkoligruppe ein Zweifel kaum bestehen bleiben dürfte. Diese Autoren nun legen Wert auf den CO_2 - H_2 -Quotienten. Ueberdies fanden sie sogar gelatineverflüssigende, gelbwachsende Stämme, die nur Wasserstoff, aber keine Kohlensäure bildeten.

Aus alledem ergibt sich, dass die Angaben betreffend das Gasverhältnis bei den Mehlkoli einer Revision dringend bedürfen. Unseres Wissens besteht hier noch eine Lücke. Wir haben uns vorläufig darauf beschränken müssen, die Gaszusammensetzung an der Hand der *Smiths*chen Gärkölbchen bei einigen Stämmen zu prüfen. (Wie erwähnt bildeten die Herbi kola-Stämme und «c» bei dieser Gelegenheit kein [nicht absorbiertes] Gas.) Wie *Tabelle VII* zeigt, fanden wir die Ergebnisse von *Frieber* insofern bestätigt, als mit abnehmendem Gesamtgasvolum der relative Gehalt an H_2 zunimmt. Dessen ungeachtet fallen aber ohne weiteres die *Kolistämme der Varietas typica* durch die sprunghafte *Erhöhung des Wasserstoffgehaltes* innerhalb der nach dem Gesamtgasvolum geordneten Kulturreihe auf. Es darf daraus der Schluss gezogen werden, dass sich hier auch bei Heranziehung der exakten *Friebers*chen Technik konstante Unterschiede feststellen lassen werden.

Tabelle VII.

Uebersicht über das Verhalten dreier Stämme von *Bact. coli commune* (Stamm «cyst.», «Milch» und «alt») und unserer *Mehlkoli-Original- und Passagestämme* in bezug auf den $\text{H}_2 : \text{CO}_2$ -Quotienten in Dextrose (2%) -Fleischextraktbouillonkulturen in *Smith's*chen Gärkölbchen. Die eine Hälfte der Kulturen wurde 24 Stunden bei 37°, die andere 48 Stunden bei 32° gehalten.

Gesamtgasvolum	$\text{H}_2 : \text{CO}_2$	Bezeichnung der Stämme	Art der Bebrütung	Laufende Nr.
9,1	0,7 : 1	« b »	32° 2 Tage*)	7 a
9,1	0,7 : 1	« g, 1. Typ, Form I »	32° 2 Tage	11 a
8,6	0,7 : 1	« f »	32° 2 Tage	8 a
8,5	0,7 : 1	« b »	32° 2 Tage*)	7
7,8	0,8 : 1	« H »	32° 2 Tage	4 a
7,6	1,1 : 1	« g, 2. Typ, klein »	32° 2 Tage	10 a
6,0	0,9 : 1	« g, 1. Typ, gross »	32° 2 Tage	13
5,9	1 : 1	« a »	37° 1 Tag	6 a

¹⁾ Ist das Gasverhältnis $\text{H}_2 : \text{CO}_2$ ein Differentialdiagnostikum bei Typhus-Coli-ähnlichen Bakterien? C. f. B., I. Abt., O, 71, 534 (1913).

²⁾ *Rogers, Clark a. Evans*, The characteristics of bacteria of the colon type occurring on grains. Journ. of infect. Diseases. 17, 137 (1915). Ref. C. f. B., I. Abt., Ref. 64, 410.

Gesamtgasvolum	H ₂ : CO ₂	Bezeichnung der Stämme	Art der Bebrütung	Laufende Nr.
5,8	1,1 : 1	« g, 1. Typ, Form II »	32° 2 Tage	12 a
5,5	1,1 : 1	« f »	37° 1 Tag	8 a
5,1	0,8 : 1	« b »	37° 1 Tag*)	7 a
4,8	1,4 : 1	« g, 1. Typ, Form III »	32° 2 Tage	13 a
4,7	1 : 1	« f »	32° 2 Tage	9
4,7	1,2 : 1	« H »	37° 1 Tag	4 a
4,7	1,2 : 1	« g, 1. Typ, gross »	37° 1 Tag	9 a
4,5	1 : 1	« H »	32° 2 Tage	4
4,5	1 : 1	« b »	37° 1 Tag*)	7
4,4	1,1 : 1	« g, 1. Typ, Form IV »	32° 2 Tage	14 a
4,4	1,2 : 1	« g, 2. Typ, klein »	32° 2 Tage	14
4,3	1,5 : 1	« g, 1. Typ, Form IV »	37° 1 Tag	14 a
4,3	3,3 : 1	Bact. coli comm. « alt »	32° 2 Tage	3 a
4,1	1,7 : 1	« g, 2. Typ, klein »	37° 1 Tag	10 a
4,1	3,1 : 1	Bact. coli comm. « alt »	37° 1 Tag	3 a
3,9	0,9 : 1	« a »	32° 2 Tage	6 a
3,9	1,3 : 1	« f »	37° 1 Tag	9
3,9	2,9 : 1	Bact. coli comm. « alt »	37° 1 Tag	3
3,8	1,2 : 1	« a »	32° 2 Tage	6
3,8	1,9 : 1	Bact. coli comm. « cyst. »	32° 2 Tage	1
3,8	2,5 : 1	Bact. coli comm. « Milch »	37° 1 Tag	2
3,8	2,8 : 1	Bact. coli comm. « cyst. »	37° 1 Tag	1
3,8	2,8 : 1	Bact. coli comm. « cyst. »	32° 2 Tage	1 a
3,7	2,7 : 1	Bact. coli comm. « Milch »	37° 1 Tag	2 a
3,6	2,3 : 1	Bact. coli comm. « Milch »	32° 2 Tage	2
3,4	5,8 : 1	Bact. coli comm. « alt »	32° 2 Tage	3
3,3	1,4 : 1	« g, 1. Typ, gross »	32° 2 Tage	9 a
3,3	1,7 : 1	« g, 1. Typ, Form III »	37° 1 Tag	13 a
2,9	2,6 : 1	« g, 2. Typ, klein »	37° 1 Tag	14
2,9	4,8 : 1	Bact. coli comm. « cyst »	37° 1 Tag	1 a
2,8	2,1 : 1	« g, 1. Typ, gross »	37° 1 Tag	13
2,8	2,5 : 1	« a »	37° 1 Tag	6
2,6	2,2 : 1	« g, 1. Typ. Form II »	37° 1 Tag	12 a
2,4	3,8 : 1	Bact. coli comm « Milch »	32° 2 Tage	2 a
2,3	2,8 : 1	« g, 1. Typ, Form I »	37° 1 Tag	11 a
2,3	4,7 : 1	« H »	37° 1 Tag	4
1,9	3,7 : 1	Bact. levans (Stammkult.)	32° 2 Tage	5
1,7	3,3 : 1	Bact. levans (Stammkult.)	32° 2 Tage	5 a
1,1	4,5 : 1	Bact. levans (Stammkult.)	37° 1 Tag	5 a

Zusammensetzung obiger Nährflüssigkeit: Liebigs Fleischextrakt 1%, Pepton Witte 1%, Kochsalz 0,2%, Dextrose 2%, Reaktion schwach alkalisch. Die Impfung erfolgte mit je einer mittleren Oese aus einer 24stündigen Vorkultur in obiger Nährlösung.

*) Starke Schleimproduktion in den Vorkulturen.

Bei einer vergleichenden Bestimmung der bei der Vergärung von Dextrose und Laktose in Bouillon durch die Mehlkoliabarten einerseits, das typische Koli andererseits gebildeten Säuremengen ergaben sich *Levy* nur in bezug auf den gelben Säurebildner wesentliche (siehe d. Zeitschr., 12, 80) Unterschiede. Bemerkenswert im allgemeinen war die verzögerte Milchezuckervergärung. Uns kam es bei der kulturellen Charakterisierung unserer beschränkt tierpathogenen Stämme zunächst nur darauf an, ihr diesbezüglich qualitatives Verhalten in zwei bei der Differenzialdiagnostik im Gebiete der Typhus-Koli-Gruppe häufig herangezogenen Nährsubstraten kennen zu lernen, den *Barsiekowschen* Nährflüssigkeiten und der Lackmusmolke nach *Petruschky*, wobei, sollte die Auffassung dieser Kleinwesen als Koli resp. Parakoli-Unterarten zu Recht bestehen, auch das für Koli resp. Parakoli typische Verhalten zu fordern war. (Es sei an dieser Stelle nochmals an das Verhalten der aus dem Meerschweinchen Nr. 7 auf *Endo-* und *Drigalskiagar* gezüchteten gelben Gasbildner erinnert, die auf ersterem nach 24 Stunden (37°) erst in hellroten Kolonien auftraten, statt wie bei typischem Koli in dunkelroten, eventuell Metallglanz aufweisenden, auf letzterem überhaupt nicht zum Farbenumschlag, wenn nicht zur Bläuung führten.) Besondere Beachtung verdient das Verhalten des Stammes «c» und der Herbi kola-Stämme.

Was die Resultate der Kultivierung in *Barsiekowscher Nährlösung* anlangt, so lassen sie sich folgendermassen zusammenfassen: Es wurde die Vergärung von *Dextrose*, *Laktose* und *Saccharose*, ferner des sechswertigen Alkohols *Mannit* je zu 1% geprüft. Als Kontrollkulturen dienten jeweilen mit *Bact. typhi*, Stamm «alt», *Bact. paratyphi B*, Stamm «Mörgeli»¹⁾ und *Bact. coli comm.*, Stamm «cyst.» geimpfte Röhren. Der Typhusstamm rötet die Dextrose- und Mannitlösung bei 37° innert 24 Stunden, wobei Gerinnung eintritt. Die Laktose- und Saccharoselösung lässt er unverändert unter den gleichen Bedingungen, sowie auch nach 48 und 72 Stunden. Der Paratyphusstamm bildet Gas aus Dextrose und Mannit, verhält sich im übrigen dem Typhusstamm ganz analog; der Kolistamm zeigt Rötung, Gerinnung und Gasbildung innert 24 Stunden bei 24° gegenüber Dextrose, Laktose und Mannit, während er Saccharose auch späterhin und bei 37° unangegriffen lässt (weder Rötung, noch Gerinnung oder Gasbildung, Kontrollweiterimpfung in Laktoseagar ergibt starke Gasbildung).

Die zur Prüfung gelangten *gelben Mehlkolistämme* «a», «b», «d», «e», «f», «h», «g, 1. Typ.», «g, 2. Typ.», die Formen I, II, III und IV von «g, 1. Typ.», die Endoplattenpassagestämme «a rosa», «a dunkelrot», «d hellrot», «d dunkelrot», «e hellrot, üppig» und «e dunkelrot, klein» decken sich vollständig in ihrem Verhalten gegenüber den drei Zuckerarten und dem Mannit: Sie vergären diese Substanzen unter Gas- und Säurebildung (Rötung und Gerinnung) innert 24 Stunden bei 24° resp. bezüglich Laktose

¹⁾ Diesen Stamm verdanken wir dem Hygiene-Institut der Universität Zürich (Direktor: Prof. Dr. *W. Silberschmidt*).

innert 48 Stunden bei 32°. Dass also diese Stämme Saccharose angreifen, während der Kontrollkolistamm dies nicht tut, hat nichts Ueberraschendes, da es typische Koli mit und ohne Saccharosespaltungsvermögen gibt, welches Merkmal daher als Einteilungsprinzip in weitere Unterabteilungen des typischen Koli bereits Verwendung fand. Der *weisse Gasbildner* «H» verhält sich gegenüber Dextrose, Saccharose und Mannit wie die gelbe Varietät, währenddem Laktose nur langsam angegriffen wird: Rotfärbung nach 3 Tagen bei 32° noch geringfügig. Gasbildung und Gerinnung werden nicht beobachtet. Die dem «gelben Säurebildner» *nahestehenden Stämme* «c» und «33» lassen überall Gasbildung vermissen, im Uebrigen zeigen sie das in *Tabelle VIII* wiedergegebene Verhalten:

Tabelle VIII.

Barsiekows Nährlösung mit 1 %.

	Dextrose			Laktose			Saccharose			Mannit		
	24 St. 24°	31 St. 32°	48 St. 32°	24 St. 24°	31 St. 32°	48 St. 32°	24 St. 24°	31 St. 32°	48 St. 32°	24 St. 24°	31 St. 32°	48 St. 32°
«c»	rg	rg	rg	—	rg	rg	r	rg	rg	r	rg	rg
«33»	rg	rg	rg	—	r	rg	r	rg	rg	r	rg	rg
«Gelb M 4», «Gelb M 8», «Gelb M 12»	rg	rg	rg	—	—	—	rg	rg	rg	rg	rg	rg

Zeichenerklärung: — = unverändert; r = Rotfärbung; g = Gerinnung.

Nach 3 Tagen die gleichen Befunde wie nach 48 Stunden.

Die *Herbikola*-Stämme stimmen untereinander überein, Gas wird anscheinend aus keiner der gärfähigen Substanzen gebildet, besonders auffallend ist das Fehlen der Säurebildung aus Milchzucker, was in guter Uebereinstimmung mit dem Fehlen einer sauren Reaktion bei der Milchgerinnung (siehe oben) steht. Man darf aber auf dieses Kriterium als Unterscheidungsmerkmal gegenüber der Mehlkoligruppe vorläufig keinen besonderen Wert legen, hat doch *Düggeli* bei der Milchgerinnung auch Säurebildung feststellen können.

Die «gelben Gasbildner» verhalten sich also in den angeführten *Barsiekow*-Substraten wie ein typisches Koli, der «weisse Gasbildner H» nähert sich stark dem Verhalten eines Parakoli. (Das Laktosespaltungsvermögen dürfte bei diesem Organismus immer noch nicht voll entwickelt sein, ungeachtet der anlässlich der Virulenzsteigerungsversuche 2½ Monate früher festgestellten Gasbildung aus Laktose bei 37° [in Agarschüttelkulturen!].) Die drei *Herbikola*-Stämme decken sich mit der Eigenart des Parakoli, lassen bei dieser Gelegenheit allerdings überdies Gasbildung aus Dextrose vermissen; auch bei «c» und «33» lässt sich letzteres nicht feststellen, im Uebrigen aber *dokumentieren sich diese Organismen durch die Milchzuckervergärung im Sinne der Säurebildung (ohne Gasproduktion)*, die beim Stamm der zweimaligen Tierpassage «33» gegenüber «c», dem Stamm der einmaligen Tierpassage, wohl nicht zufälligerweise etwas verzögert ist, *als nicht zum Parakoli gehörig*.

Die *Lackmusmolke* stellten wir uns her nach dem Rezept, wie es im Lehrbuch von *Kolle* und *Hetsch*: «Die experimentelle Bakteriologie und die Infektionskrankheiten», 3. Aufl. 1911, S. 936 angeführt ist. Am Schluss wurde mit Kieselgur (2 gehäufte Teelöffel auf 350 cm³) geklärt. Auf ihre Brauchbarkeit prüften wir sie mit folgenden Teststämmen bei 37°: Einem *Typhus*-stamm «alt», der sie innert 24 Stunden ganz wenig rötete, ohne dass eine deutliche Trübung eintrat; eine Änderung im Aussehen der Kultur ist später nicht eingetreten. Eine Kontrollkultur mit einem *Bact. paratyphi A* bot ganz den gleichen Befund. Drei *Paratyphus B*-Stämme «Mörgeli», «Nr. 2 G.-V.» und «Mäusevirus» verhielten sich folgendermassen (*Tabelle IX*):

Tabelle IX.

nach	1 Tag	2 Tagen	3 Tagen	5 Tagen	9 Tagen
«Mörgeli»	rr t	rr t	r t	b tt H	b tt H
«Nr. 2, G.-V.»	rr t	rr t	r t	r t	b tt H*)
«Mäusevirus»	rr t	b tt H	b tt H	b tt H	b tt H

*) War nach 8 Tagen noch: v tt.

Zeichenerklärung: r = schwach rot, rr = stark rot, v = violett, b = blau, t = schwach getrübt, tt = stark getrübt, H = Kahmhaut.

Die Kulturen ergeben also die beim *Paratyphus B* typische Erscheinung des Farbenumschlages nach mehrtägiger Bebrütung. Auch die Häutchenbildung ist charakteristisch. Ein *Koli*-Stamm «cyst.» ergibt starke Rotfärbung und starke Trübung nach 24 Stunden ohne spätere Veränderung, ein *Alkaligenes*-Stamm führt zur Bläuung unter schwacher Trübung im gleichen Zeitintervall, worauf dann später die Trübung noch zunimmt und Hautbildung eintritt.

Wie verhalten sich nun auf diesem charakteristische Wachstumbilder ergebenden Substrat unsere Mehlkoliorganismen? Wie bei den *Barsiekow*-flüssigkeiten, so stimmen auch hier die Stämme «a», «b», «d», «f», «h», «g, 1. Typ.», «g, 2. Typ.» und die Formen I, II, III und IV von «g, 1. Typ.» überein. Sie röten und trüben die Lackmusmolke innert 24 Stunden bei 31 und 37° stark, verhalten sich also wie der *Koli*-Stamm. Ausserdem bilden sie noch Kahmhäute. Eine Veränderung tritt, wie das übrigens auch bei den *Barsiekow*-lösungen der Fall war, nur insofern ein, als nach 2 bis mehreren Tagen der Lackmusfarbstoff abblasst. Nicht wesentlich von diesen Mikroorganismen unterscheidet sich «H», nur zeigt sich die 24stündige Kultur bei 31° erst schwach gerötet, jene bei 37° noch violett. Nach 48 Stunden hat sich diese Differenz ausgeglichen. «c» verhält sich abgesehen von nur angedeuteter Hautbildung ganz wie die gelben Gasbildner, «33» hat gegenüber «c» etwas verzögerte Säurebildung (nach 24 Stunden schwach rot, nach 48 Stunden stark rot bei 31°. Die *Herbikola*-Stämme ergeben folgendes (*Tabelle X*):

Tabelle X.

nach	1 Tag		2 Tagen		3 Tagen		5 Tagen		9 Tagen	
	31°	37°	31°	37°	31°	37°	31°	37°	31°	37°
« Gelb M 4 »	r t	r t	v t	r t	v t	r t	v t	r t	v t	v t
« Gelb M 8 »	v tt H	rr t	b tt H	v t	b tt H	v t	b tt H	v t	v t	v t
« Gelb M 12 »	r t	rr t	v t	r t	v t	r t	v t	r t	b tt H	v t

Zeichenerklärung siehe Tabelle IX. (Die Röhrcchen wurden mit ungeimpfter Kontrolle verglichen.)

Wenn bei den *Barsiekow*-Kulturen auf das nicht einheitliche Verhalten der Herbiakola-Organismen im allgemeinen gegenüber Milckzucker hingewiesen wurde, so dürften die Ergebnisse mit Lackmusmolke dies bezüglich der drei vorliegenden Stämme bestätigen. Besonders auffallend ist die starke Säurebildung der Stämme « Gelb M 8 » und « Gelb M 12 » bei 37° nach 24 Stunden. Es macht sich dann aber bei 31 und 37° beim Aelterwerden der Kulturen ein Zurückgehen des Säuregrades bemerkbar, die Reaktion kann sogar alkalisch werden. So erinnert z. B. der Reaktionsumschlag der « Gelb M 12 »-Kultur bei 31° an jenen einer *Paratyphus B*-Kultur. Das verschiedene Verhalten unserer Herbiakola-Stämme einerseits in Laktose-*Barsiekow*, andererseits in Lackmusmolke bietet der Interpretation Schwierigkeiten; wie sich bei den Lackmusmolkenkulturen zeigt, sind unter anderem die Temperaturverhältnisse von einigem Belang für den Chemismus.

Hatten sich schon bei den *Barsiekow*-Zuckerlösungen und der Lackmusmolke beim Aelterwerden der Kulturen Farbstoffreduktionserscheinungen gezeigt, so sollte dieser Einfluss unserer Mikroben nun noch im besonderen gegenüber *Neutralrot* geprüft werden. Der *Rothberger-Oldekopsche* *Neutralrotagar* spielt ja ohnehin in der Differenzialdiagnostik der Typhus-Koligruppe eine Rolle, indem er durch *Bact. typhi* (und z. B. auch *Bact. faecale alcaligenes*) nicht entfärbt wird, während *Bact. coli* und die *Paratyphus-Enteritidis*-Untergruppe, wenigstens in der Mehrzahl der Fälle Fluoreszenz, Entfärbung resp. Gelbfärbung und Gasbildung hervorrufen. Wir benutzten zur Herstellung das *Oldekopsche* Rezept¹⁾ in der Modifikation nach *Galli-Valerio* und *Bornand*²⁾ (Zusatz von 0,6—0,8 statt 0,3 % Agar): 1 % Fleischextrakt Liebig, 0,5 % Kochsalz, 2 % Pepton Witte. Schwach alkalisieren mit Sodalösung, 1 Stunde kochen und filtrieren. Dazu 0,6 % Agar, 1 Stunde kochen, heiss filtrieren. Dazu 1 % einer konz. wässerigen Lösung von *Neutralrot* und 0,15 % Glukose. Fraktioniert sterilisieren. Betreffend den Chemismus der Reaktion sei auf die Arbeit von *Bornand*³⁾ verwiesen. Es ist uns bei den

¹⁾ Eine Modifikation des *Rothberger-Schefflerschen* *Neutralrotnährbodens*. C. f. B. I. Abt., O., 35, 120 (1904).

²⁾ Le contrôle rapide des eaux potables par les cultures sur Agar au *Neutralrot*. C. f. B., II. Abt., 36, 567 (1913).

³⁾ Le diagnostic bactériologique des souillures de l'eau potable. Contribution à l'étude des réactions des milieux de culture au *Neutralrot*. Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene, 12, 92 (1921).

Lackmuszuckernährflüssigkeiten aufgefallen, dass nur bei saurer Reaktion später ein Abblässen eingetreten ist, so dass zu prüfen wäre, ob auch hier wie beim Neutralrot eine saure Reaktion Vorbedingung für die Reduktion sei. Wie zu erwarten, verhielt sich die oben angeführte Schar der gelben Gasbildner (siehe *Barsiekow*-Substrate) und des *Levans*stammes «H» wie ein typisches Koli; es trat Fluoreszenz, Kanariengelbfärbung und Gärung innert der ersten 24 Stunden bei 24° ein. *Abweichend verhielten sich hingegen «c» resp. «33» und die Herbi kola-Stämme; es geht ihnen ein Reduktionsvermögen gänzlich ab*, der Nährboden bleibt unverändert sowohl 24 Stunden bei 24° als auch nach weiteren 1 und 2 Tagen bei 37°. Da nun «c» und die Herbi kola-Stämme nach den Resultaten der *Barsiekow*-Kulturen aus Dextrose Säure zu bilden vermögen, so dürfte nicht in dem Fehlen, sondern höchstens in dem zu geringen Grad der sauren Reaktion der Grund für das negative Verhalten betr. Fluoreszenzbildung zu suchen sein, wenn er nicht auf einem Mangel überhaupt des Reduktionsvermögens gegenüber Neutralrot beruht. (Bekanntlich bildet ja auch *Bact. typhi* Säure aus Traubenzucker, ohne dass es im Neutralrotagar zur Fluoreszenz käme.) Ein zu hoher Säuregrad kommt bei Agarkulturen wohl nicht in Betracht. Das negative Verhalten obiger Stämme dürfte aber eine ungezwungene Erklärung finden, wenn wir das Reduktionsvermögen gegenüber Neutralrot, abgesehen von der Vorbedingung der sauren Reaktion, vor allem als Funktion der Entwicklung von Wasserstoff (und nicht als durch anaerobe Atmung bedingt) auffassen, worauf mich Herr Dr. von *Fellenberg* hinwies. Wie bereits mitgeteilt, handelt es sich bei diesen Organismen um wenig kräftige Dextrosevergärer, die Herbi kolastämme kamen erst nach längerer Fortzüchtung auf künstlichem Nährmedium zur Prüfung des Verhaltens in Neutralrotagar.

Wie für die Einreihung in die Gruppe des typischen Koli dem *Indolbildungsvermögen* nach der Ansicht namhafter Autoren (siehe z. B. *Konrich*, Zur Bewertung des *Bacterium coli* im Wasser, *Klin. Jahrb.*, **23**, 1 [1910]) keine ausschlaggebende Bedeutung beigemessen werden kann, so dürfte das nach den bis jetzt bekannten, gar nicht übereinstimmenden Befunden der Literatur und bei eigenen Stämmen (vergl. die positiven Befunde *Holligers* und *Levys*, die verschiedenes, vorwiegend negatives Verhalten aufweisenden Stämme von *Rogers* und Mitarbeitern, soweit man sie zur Mehlkoligruppe rechnen darf, unsere indolnegativen Gasbildner und den «gelben Säurebildner» mit fraglichem Verhalten) ebenso wenig der Fall sein bezüglich der nahestehenden Mehlkoliabart für die Unterbringung in eine eigene Gruppe.

Das Verfahren der Indolprüfung nach *Morelli*, das wir bis anhin anwandten, hat in der Literatur verschiedene Beurteilung gefunden. *Konrich*¹⁾ hat es sich als nahezu unbrauchbar erwiesen, *Bornand*²⁾ hält auch die *Ehrlich-Böhmesche* Methode diesem Verfahren beträchtlich überlegen hinsichtlich Einfachheit und Empfindlichkeit. *Zipfel*³⁾ andererseits beurteilt das Verfahren in günstigem Sinne,

¹⁾ L. c.

²⁾ L. c.

³⁾ Zur Kenntnis der Indolreaktion. C. f. B., I. Abt., O., **64**, 65 (1912).

er bekam innert 24 Stunden wie auch *Thöni* und *Geilinger*¹⁾ bei Verwendung geeigneter Nährlösungen positive Resultate. Wir hielten es in Anbetracht dieser Sachlage für wünschbar, unsere Resultate noch mittels der heutzutage wohl am häufigsten angewandten *Ehrlich-Böhmeschen* Methode nachzuprüfen²⁾. Zugleich sollte auf die Gegenwart von *Tryptophan* untersucht werden, wozu wir uns der Reaktion von *Erdmann* und *Winternitz*³⁾ bedienen. Nach diesen Autoren soll bei Gegenwart von Tryptophan in der Nährflüssigkeit nach schwachem Ansäuern mit Essigsäure und tropfenweisem Zusatz von frisch bereitetem, gesättigtem Chlor- oder Bromwasser unter beständigem Umschütteln eine rotviolette Färbung entstehen; als Nährflüssigkeit erwies sich eine 5%ige Peptonbouillon am besten geeignet. Der Eintritt der Reaktion bei einer grossen Anzahl geprüfter Mikroorganismen schwankte zwischen 1—5—10 Tagen. Es ergab sich dabei die Tatsache, dass das indolbildende *Bact. coli commune* die Gegenwart von Tryptophan vermissen liess, während umgekehrt *Typhus*- und *Paratyphus*bakterien positive Tryptophan- und negative Indolreaktion verursachten. *Andrejew*⁴⁾ hat in Uebereinstimmung mit diesen Befunden bei Untersuchung von 33 verschieden starke Indolreaktion ergebenden Stämmen von *Bac. suipestifer* beobachtet, dass die Tryptophanreaktion nach *Erdmann* und *Winternitz* nur bei 5 Stämmen negativ ausgefallen ist und zwar gerade bei solchen, die starke Indolreaktion ergaben. *Burri* und *Andrejew*⁵⁾ hat sich dann bei der vergleichenden Prüfung von 18 Koli- und Paratyphusstämmen nach der gleichen Methode ein positives Verhalten von 12 indolnegativen ergeben, sowie ein Versagen bei 6 Stämmen, die sich als kräftige Indolbildner erwiesen hatten.

Als Nährsubstrat verwendeten wir neben dem 10%igen Peptonwasser nach *Selter*, das ziemlich stark alkalisch reagierte und auf dem kein freudiges Wachstum einsetzen wollte, ein 2%iges Peptonwasser mit 1% Fleischextrakt Liebig und 0,4% NaCl, mit Soda schwach alkalisiert und ferner die gewöhnliche Rindfleischnährbouillon. Geprüft wurden die für die *Barsiekow*-Substrate angeführten Stämme. Wir gelangten zu folgenden Befunden:

Kulturen in 10%iger Peptonnährlösung, 24 Stunden bei 37°, 24 Stunden bei Zimmertemperatur und 25 Tage bei 31° luftdicht verschlossen gehalten. Indolreaktion nach *Ehrlich-Böhme* am 5. Tage: Nur Stamm *Coli* «*cyst*» ergibt Rotfärbung; Tryptophanreaktion nach *Erdmann-W.* am 5. Tage nur bei *Typhus* «*alt*» schwach positiv.

Kulturen in 2%iger Peptonnährlösung, 24 Stunden bei 37°, 24 Stunden bei Zimmertemperatur, 18 Tage bei 31° (luftd. verschl.). Die Prüfung nach 5 Tagen

¹⁾ Ueber die Brauchbarkeit des Indolnachweisverfahrens nach *Morelli* bei Kulturen von *Bact. coli*. Mitteil. a. d. Geb. d. Lebensmittelunters. u. Hyg., 8; 65 (1917). — C. f. B., I. Abt., Ref. 69, 29.

²⁾ Anmerkung bei der Korrektur: Die Spezifität der *Ehrlichschen* Reaktion als Indolreagens wird neuerlich durch *Frieber* (C. f. B., I. Abt., O. 87, 254) dargetan, namentlich im Hinblick auf die früher und auch jetzt noch als massgebend herangezogene *Sal-kowskische* Reaktion, die aber nach *Friebers* Ergebnissen als Kriterium der Indolbildung zu verwerfen ist; sie tritt nämlich auch bei Gegenwart von Indolessigsäure, einem Zwischenprodukt beim Tryptophanabbau, auf. Die Fähigkeit zum Abbau bis zur Indolessigsäure kommt aber einer sehr grossen Zahl, vielleicht allen Bakterienarten zu.

³⁾ Ueber das Proteinochrom, eine klinisch und bakteriologisch bisher nicht verwertete Farbenreaktion. Münch. med. Wochenschr., 1903, S. 982. — C. f. B., I. Abt., Ref. 34, 75.

⁴⁾ Untersuchungen über die bakterielle Flora des Hammeldarms auf das Vorkommen von Bakterien der Hog-Cholera-gruppe. Arb. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte. 33, 363 (1910).

⁵⁾ Vergleichende Untersuchung einiger Coli- und Paratyphusstäme. C. f. B., I. Abt. O., 56, 217 (1910).

ergibt wieder ausschliesslich bei *Coli* «*cyst*» starke Indolreaktion und diesmal nur bei *Bact. paratyphi* «*Mörgeli*» schwach positive Tryptophanreaktion.

Am Ende der angegebenen Bebrütungszeiten ergibt sich bei obigen Kulturen sowie bei den 14tägigen Rindfleischbouillonkulturen, von denen je eine Serie bei 37, 31 und 21° gehalten worden war, folgendes: Bei den Kulturen in 10%igem Peptonwasser und Fleischbouillon zeigt bloss der Stamm *Coli* «*cyst*» positive Indolreaktion; er ergibt eine schöne Kirschrotfärbung, nur bei der bei 21° gehaltenen Fleischbouillonkultur ist die Reaktion schwach ausgefallen. Umgekehrt weisen alle diese Kulturen, mit Ausnahme von *Coli* «*cyst*» und ausserdem von Stamm «*d*» in 10%igem Peptonwasser, positive Tryptophanreaktion auf. Bei den *Herbikola*-Stämmen ist die Tryptophanreaktion schwächer als bei den übrigen. *Typhus* «*alt*» und *Paratyphus* «*Mörgeli*» zeigen die Reaktion stark, die übrigen Stämme teils in gleichem Grade, teils etwas schwächer. In der 2%igen Peptonnährlösung ergibt ausser dem tryptophannegativen *Coli* «*cyst*» auch der Stamm «*c*» eine allerdings schwach positive Indolreaktion und zwar neben einer ziemlich stark positiven Tryptophanprobe. Man könnte sich fragen, ob es sich nicht nur um eine Vortäuschung von Indol handelt, indem nämlich nach dem Zusatz der p-Dimethylaminobenzaldehydlösung ein roter Ring entstand, worauf aber nach Schütteln und Beendigung der Reaktion von einer Rötung nichts mehr zu beobachten war. Da sich aber auch bei der *Morellischen* Probe eine sehr schwache Rosafärbung des Oxalsäurestreifens ergeben hatte, so sind wir geneigt, die Gegenwart von Spuren von Indol anzunehmen. (Der Stamm «33» = «*c*» nach Tierpassage wurde in dieser Nährflüssigkeit nicht geprüft.)

Wir können also zusammenfassend sagen, dass sich die Ergebnisse, wie sie mit der *Morelli*-Probe erhalten wurden, ganz genau mit den mittels der *Ehrlich-Böhmeschen* gewonnenen decken, indem sämtliche Mehlkoli-Stämme sich als Nichtindolbildner erwiesen mit Ausschluss des überhaupt eine Ausnahmestellung unter den Gasbildnern einnehmenden, dem gelben Säurebildner *Levys* sich nähernden Stammes «*c*». Dieser ergibt sowohl nach *Morelli*, als nach *Ehrlich-Böhme* einen sehr schwach positiven Ausfall, der höchstens zu dem Schlusse auf die Gegenwart von Spuren von Indol berechtigt. Bezüglich der Bildung von Tryptophan (Indolalanin, aus dem eben die Indolbildner die Indolgruppe abzuspalten vermögen) konnten wir in Uebereinstimmung mit mehreren Autoren die Beobachtung eines reziproken Verhältnisses von Tryptophan- und Indolbildung machen, indem Stämme, die kein Indol bildeten, Indolalanin aufwiesen und umgekehrt.

Wir haben uns mit dem qualitativen Tryptophannachweis und auf diese Methode beschränkt. Es wurden $2\frac{1}{2}$ cm³ Kulturflüssigkeit mit verdünnter Essigsäure schwach angesäuert. Dann erfolgte langsamer Zusatz von etwa 20 Tropfen frisch bereitetem, gesättigtem Chlorwasser (auch Bromwasser wurde öfters verwendet) unter fortwährendem Umschütteln und Beobachten. Es zeigte sich bald eine rotviolette Verfärbung, die nach weiterem Zusatz von Chlorwasser nicht an Intensität zunahm, sondern in Braun überging. Sie war ziemlich unbeständig und verwandelte sich in etwa einer Viertelstunde in einen Misston. (Die Indolreaktion wurde wie üblich ausgeführt: 2 Teile Kulturflüssigkeit; dazu 1 Teil p-Dimethylaminobenzaldehydreagens, umschütteln; dazu 1 Teil gesättigte wässrige Lösung von Kaliumpersulfat, umschütteln. Mit Chloroform ausschütteln.)

Die Methode von *Erdmann* und *Winternitz* ist auch für den quantitativen Nachweis ausgestaltet worden¹⁾. Nach *Thomas*²⁾ wird jedoch für diesen Zweck vor allem diejenige von *Herzfeld*³⁾ (von *Thomas* etwas modifiziert) in Betracht fallen.

Für quantitative Erhebungen müsste mit chemisch genau definierten Nährmedien gearbeitet werden. Es ist uns aufgefallen, dass eine ungeimpfte Kontrolle mit 10% Pepton enthaltendem Selterschem Nährsubstrate eine angedeutet positive Tryptophanreaktion ergab, während die entsprechende Coli- und «d»-Kultur keine Spur von diesem Körper nachweisen liessen.

Herzfeld und *Klinger*⁴⁾ weisen nach, dass auch die nicht Indol bildenden Bakterien instande sind, das Tryptophan anzugreifen. Das in bezug auf die Gegenwart von Indol und Tryptophan reziproke Verhalten älterer Kulturen kann also nicht ohne weiteres damit erklärt werden, dass nur bei den Indolbildnern ein Tryptophanabbau statthabe. Die Verhältnisse liegen komplizierter, indem ausserdem noch das verschieden ausgebildete Vermögen der Tryptophanabspaltung aus höheren Eiweissbausteinen für die in einem bestimmten Alter der peptonhaltigen Kultur auffindbaren Tryptophanmenge massgebend ist.

Herzfeld und *Klinger* fanden in 2 Tage bei 37° gestandener Peptonlösung für Typhusbazillen eine Abnahme des in derselben schon enthaltenen Tryptophans. Sie kommen jedoch in Berücksichtigung ihrer Befunde mit reinem Tryptophan zum Schlusse, dass wenn auch den Typhusbazillen die Fähigkeit Tryptophan zu verbrauchen in beschränkter Masse zukomme, für diese Kultur der geringe Gehalt an diesem Körper nicht auf einen besonders starken Verbrauch, sondern auf eine relativ geringe Abspaltung desselben zurückzuführen sei. Bei unseren Kulturen liegen die Verhältnisse gerade umgekehrt, die Typhuskultur zeigt gegenüber der ungeimpften Kontrolle einen höheren Tryptophangehalt. Diese Divergenz erklärt sich wohl aus dem verschiedenen Alter der Kulturen und der verschiedenen Zusammensetzung der Kulturflüssigkeiten, auch die Individualität des Typhusstammes ist vorläufig in Betracht zu ziehen. —

Aus verschiedenen Autopsiebefunden, bei denen sich rotbraunes oder rötliches Bauchhöhlenexsudat zeigte (vergl. Meerschweinchen Nr. 30, Stamm «f», Agarrasen; Nr. 33, Stamm «c», Agarrasen; Nr. 56, Stamm «g, 1. Typ», Bouillonkultur; Nr. 58, Stamm «g, 2. Typ», Bouillonkultur; 3. und 4. Passagetier beim Stamm «H») durfte der Schluss auf das Vorhandensein von *Hämotoxinen* gezogen werden. — Es ist vielleicht noch eine offene Frage, welchen Wert wir dem Kriterium der Hämolysinbildung beim *Bact. coli* beilegen sollen. Soweit wir die Literatur überblicken, ergibt sich wohl ohne Zweifel, dass in kulturell-diagnostischer Hinsicht damit nicht viel anzufangen ist. Um nur eine Arbeit aus neuerer Zeit, die die Frage auf Grund eines grösseren Materials zu beantworten suchte, zu erwähnen, ergab sich *Jaffé*⁵⁾ bei der Prüfung von 75 Koli und koliähnlichen Organismen folgendes: Beim Wachstum auf 5% igem Hammelblutagar zeigten, zum Teil erst nach 3 Tagen, 9 Stämme Hämolyse mehr oder weniger stark. Da die Stämme aber sonst keineswegs übereinstimmend waren, konnte dieses Kriterium nicht als charakteristisch für eine bestimmte Art angesehen werden und nicht zur Einteilung der Koligruppe in Betracht fallen.

Eine andere Frage aber ist es, ob uns die Hämotoxinbildung etwas über die Virulenzverhältnisse aussagt. Das scheint nun auch nicht der Fall zu sein nach

¹⁾ *Levene* u. *Rouiller*, Journ. of Biol. Chem., 1907, 2, 481, Zit. bei *Thomas*.

²⁾ Sur le dosage du tryptophane dans les matières protéiques. Ann. de l'Inst. Pasteur, 34, 701 (1920).

³⁾ Bioch. Zeitschr., 56, 258 (1913). Zit. bei *Thomas*.

⁴⁾ Quantitative Untersuchungen über den Indol- u. Tryptophanumsatz der Bakterien. C. f. B., I. Abt., O., 76, 1 (1915).

⁵⁾ Variationen in der Typhus-Koli-Gruppe, Arch. f. Hyg., 76, 145 (1912).

einer Arbeit von *Rosenthal*¹⁾, der mit Hilfe der Blutagarplattenkultur und mittels Vitro-Versuchen nach Tierpassagen zeigte, dass die Hämolysebildung sehr von dem Umstand abhängig ist, ob und wie oft der betreffende Mikroorganismus unmittelbar vor der Prüfung mit der betreffenden Blutart in Berührung kam, und dass sich auf diese Weise ein Divergieren von Virulenz und Hämolysebildungsvermögen unschwer nachweisen lässt. Andererseits aber zeigen uns die Versuche von *Weinberg* und *Nasta*²⁾ die grosse Bedeutung der Hämotoxinkomponente für den Vergiftungseffekt besonders des *Bac. perfringens*, des *Staphylococcus pyogenes aureus* und in besonders interessanter Weise auch bezüglich des *Streptococcus pyogenes*. Dass es sich bei der Wirkungsweise der verwendeten Antihämolysine, speziell des normalen Pferdeserums, wirklich um eine Absättigung nur der hämotoxischen Komponente handelt, wird dadurch bewiesen, dass antihämolytisches Vermögen in vitro und neutralisierende Wirkung gegenüber Giften verschiedener Mikroorganismenarten ziemlich genau parallel gehen. — Es dürfte also beim derzeitigen Stande unseres Wissens die Berücksichtigung der Hämotoxine beim Studium der Virulenzverhältnisse der uns hier beschäftigenden Koliabarten wie der Koligruppe überhaupt noch fruchtbringend sein.

Wir haben vorerst nur einen orientierenden Versuch mit 10% Meerschweinchenblut enthaltenden Agarplatten angestellt, wobei sich innert 24 Stunden bei 32° bei den Stämmen «a», «b», «c», «e», «h» und einem über Endoagar geschickten Stamm die Ausbildung eines klaren Hofes ergab, während die übrigen Stämme in dieser Zeit mehr oder weniger vollständige Klärung im Belagbereich ergaben oder, wie die Herbi kola-Organismen, auch das vermissen liessen. Ein *Pyozyaneusstamm* war im gleichen Zeitraum ebenfalls hofbildend, ein *Bact. vulgare* hellte kaum auf im Belagbereich. Nach weiteren 24 Stunden (37°) ist dann bei sämtlichen Stämmen — auch den Herbi kola-Organismen — Hofbildung eingetreten.

Der Umstand, dass wir für die Herstellung des Substrates nicht gewaschene Blutkörperchen, sondern Blut verwendeten, wobei an die hämotoxinabschwächende Wirkung eventuell vorhandener Antihämotoxine zu denken ist, hat also die Hämolyse wohl kaum beeinträchtigt. Es handelt sich um die von *Baerthlein*³⁾ als *Hämopepsie* bezeichnete Blutveränderung, wobei nicht nur das Hämoglobin, sondern auch die Stromata abgebaut werden. Abgesehen von der störenden Wirkung von Reaktionsänderungen, Verschwinden der Isotonie usw., Umstände, die wohl wenigstens bei den 24stündigen Kulturen als nicht wesentlich in Betracht kommend nicht berücksichtigt zu werden brauchen, wäre das Verhalten der verwendeten Blutart gegenüber andern Vertretern der Koligruppe zu prüfen, müsste der Hämolyseversuch im Reagensglas beigefügt werden. Besonders ist nicht zu vergessen, dass wir es, abgesehen von den Herbi kola-Stämmen, mit Organismen zu tun haben, die *sich bereits im Meerschweinchenkörper aufgehalten* haben. Aus dem Gelatinepeptonisierungsvermögen auf eine gegenüber dem gewöhnlichen Koli im allgemeinen gesteigerte Eiweissabbaufähigkeit und damit das regelmässig vorhandene Phänomen der Hämopepsie zu schliessen, ist wohl kaum angängig. Dagegen spricht schon das Fehlen der Indolbildung, ferner das Ergebnis der Kultur auf Milchagar, wo kein Kaseinabbau beobachtet werden konnte (allerdings wurden diese Platten nur 3 Tage lang beobachtet). Auch *Bach*⁴⁾ spricht sich gegen einen Parallelismus von Peptonisierungsvermögen und hämolytischer Wirkung aus.

¹⁾ Untersuchungen über die Beeinflussung der Hämolyse von Mikroorganismen. Zeitschr. f. Hyg., 75, 569 (1913).

²⁾ Rôle des hémolysines dans l'intoxication microbienne. Ann. de l'Inst. Pasteur, 34, 690 (1920).

³⁾ Ueber Blutveränderungen durch Bakterien. C. f. B., I. Abt., O. 74, 201 (1914).

⁴⁾ Vergleichende Untersuchungen über Proteus-Stämme, unter besonderer Berücksichtigung des sogenannten Hämotoxinbildungsvermögens. C. f. B., I. Abt., O., 85, 305 (1921).

In Zusammenfassung des Abschnittes VI ergibt sich:

1. Der dem gelben Säurebildner *Levys* nahestehende Stamm «c» *peptonisiert Gelatine bei 23 und 37° schneller* als die übrigen Stämme des *Bact. coli var. luteoliquefac.*, die untereinander in dieser Beziehung übereinstimmen.

2. Ein *Kasein abbauendes Enzym* konnte bei allen diesen gelb und farblos wachsenden Gelatinepeptonisierern vor und nach der Tierpassage *nicht nachgewiesen* werden.

3. Diese Organismen, soweit sie uns vorgelegen haben, dürften sich durch ihren *Kohlensäure-Wasserstoff-Quotienten* vom *Bact. coli var. typica* unterscheiden lassen. Es zeigt sich nämlich ungeachtet der bei der angewandten Methodik nicht zu vermeidenden Fehlerquellen ein beträchtliches Ueberwiegen des Wasserstoffgehaltes im Gasgemisch bei den drei herangezogenen Stämmen von *Bact. coli commune*, während die Mehlkoliorganismen nur in den Fällen von kleinem gebildetem Gesamtgasvolum infolge weitgehender CO₂-Auflösung in der Absperrflüssigkeit so hohe (scheinbare) Wasserstoffwerte erreichen.

4. In Nährlösung nach *Barsiekow* mit 1% *Dextrose* bzw. *Laktose, Saccharose* oder *Mannit* verhalten sich *die gelben Gasbildner wie ein typisches Koli*, d. h. sie rufen in allen diesen Medien Rotfärbung, Gerinnung und Gasbildung hervor; der weisse Gasbildner «H» unterscheidet sich davon durch verzögerte Säure- (und fehlende Gas-?) bildung aus Milchzucker (Annäherung an das Verhalten von Parakoli, das Laktose überhaupt nicht angreift). Ein analoges Verhalten weisen die Stämme «c» und «33» auf, immerhin ist die Hemmung gegenüber Milchzucker nur wenig ausgesprochen. *Die drei Herbikola-Stämme lassen Milchzucker ganz unangegriffen*, bilden Säure (Gerinnung) aus Dextrose, Saccharose und Mannit.

5. In *Lackmusmolke* (nach *Petruschky*) zeigen die *gelben Gasbildner* wiederum *koliartiges Wachstum* (intensive Rötung und Trübung innert 24 Stunden bei 31 und 37°), für sie charakteristisch ist vielleicht die Bildung einer Kahlhaut. Abgesehen von einer etwa 24stündigen Verzögerung in der Säurebildung stimmt auch «H» mit seinen gelb wachsenden Stammverwandten überein. Das ist auch der Fall bei «c» resp. «33». «33», der Stamm «c» nach weiterer einmaliger Tierpassage, unterscheidet sich in *Laktose-Barsiekow-Substrat* und in *Lackmusmolke* durch etwas verzögerte Säurebildung. (Ueber die analoge Wirkung der Tierpassage betreffend die Stämme «H», «a» und «f» vergl. diese Zeitschr. 12, 76, 77; 13, 165.)

Weiterer Abklärung bedürfen die Gärverhältnisse bei den Herbikolastämmen besonders hinsichtlich der Säurebildung aus Milchzucker in verschiedenen Medien wie z. B. Milch, (Lackmus-) Molke, *Laktose-Barsiekow*.

6. In *Neutralrotagar* rufen die *gelben Gasbildner* und der Stamm «H» *Fluoreszenz, Gelbfärbung und Gasbildung* hervor; *hingegen verursachen «c» und «33», sowie die Herbikolastämme keine sichtbare Veränderung dieses Substrates.*

7. *Sämtliche Stämme* mit Ausnahme von «c» bilden nach dem Ausfall der Reaktion mit dem *Ehrlichschen* Aldehydreagens bzw. Oxalsäurepapierstreifen (*Morelli*) *kein Indol* (bei sich stark positiv verhaltender Testkultur eines Darmkoli). Die beiden Reaktionen geben übereinstimmende Resultate auch hinsichtlich des Stammes «c», wo der Ausfall als sehr schwach positiv bewertet werden dürfte. Diese nicht Indol bildenden Bakterien ergeben *positive Tryptophanreaktion* (*Erdmann und Winternitz*), was nicht zu dem Schlusse auf Unangreifbarkeit des Tryptophans für anindole Bakterien verleiten darf (Substrat nach Selter ungeimpft: schwach positive, Kultur von Stamm «d» im selben Nährsubstrat: negative Tryptophanreaktion).

8. Eine Anzahl unserer Gelbkoli-Stämme, unter ihnen auch «c», zeigen auf 10%igem *Meerschweinchenblutagar* innert 24 Stunden bei 32° *Hämolyse* und zwar als Hämopepsie. Die Befunde berechtigen aber einstweilen weder zu Schlüssen in diagnostischer Hinsicht, noch bezüglich der Bedeutung des Hämotoxins für die Virulenz, vor allem da es sich um Organismen handelt, die bereits mit Meerschweinchenblut (Tierpassage) in Berührung gekommen waren.

Bern, im September 1921.

Der verbesserte Wiegner'sche Schlämmapparat.

HERMANN GESSNER, Assistent.

Mitteilung aus dem agrikultur-chemischen Laboratorium der E. T. H. Zürich.

Mit Hilfe der mechanischen Schlämmanalyse wollen wir die Zerteilung der Böden bestimmen d. h. die Schlämmanalyse soll uns angeben, wie viel Bodenkörner von den verschiedenen Grössen im Boden vorhanden sind. Die heute am häufigsten angewandten Schlämmethoden, wie die nach Schöne¹⁾, Kopecky²⁾, Hilgard³⁾ u. a. geben uns die Möglichkeit, den Boden in mehrere Fraktionen zu zerlegen. Vielerorts werden die Fraktionen bestimmt, die an der Sitzung der internationalen Kommission für mechanische und physikalische Bodenuntersuchung zu Berlin am 31. Oktober 1913 von Atterberg vorgeschlagen und von der Kommission angenommen wurden. Diese Fraktionen sind:

Körner grösser als	2	cm Durchmesser	Stein und Geröll
» von	2,0 — 0,2	cm	» Kies
» »	0,2 — 0,02	cm	» Grobsand
» »	0,02 — 0,002	cm	» Feinsand
» »	0,002 — 0,0002	cm	» Schluff
» feiner als	0,0002	cm	» Rohton

¹⁾ Schöne, Bulletin de la Soc. d. Naturalistes de Moscou, XL, 1^{er} part (1867).

Schöne, Zeitschr. f. anal. Chem., 7, 29 (1868).

²⁾ J. Kopecky, Die Bodenuntersuchung . . . , mit besonderer Berücksichtigung eines kombinierten Schlämmapparates, Prag 1901.

³⁾ Referat in: Forschungen auf dem Gebiete der Agrikultur-Physik, 2, 57 (1879).