[Aus dem Königl. Institut für Infektionskrankheiten „Robert Koch“
zu Berlin.]

(Direktor: Geh. Obermed.-Rat Prof. Dr. Gaffky.)
(Abteilungsvorsteher: Prof. Dr. Neufeld.)

Zur Variabilität des *Bacillus bulgaricus*.

Von

Erwin Christeller,
Med. Pract.

Unter den zur Gruppe der Yoghurtbakterien gehörigen Bazillen haben Lürssen und Kühn zwei Formen unterschieden: den eigentlichen *Bacillus bulgaricus* und den „Körnchenbacillus“; White und Avery stellten zwei andere Typen auf, die sie mit A und B bezeichneten; ihre Beobachtungen wurden von Griebel bei seinen Untersuchungen über Yoghurtpräparate bestätigt.

Trotzdem die einzelnen Stämme des *Bacillus bulgaricus* untereinander gewisse Abweichungen zeigen, ist doch sein Verhalten anderen Bakterien gegenüber sehr wohl charakterisiert.

Aus Ausgangsmaterial diente mir ein als „Dr. Axelrodts Yoghurt“ bezeichnetes Präparat der Berliner Molkerei von C. Bolle. Dieses enthielt in großer Menge grampositive Stäbchen und ebenfalls grampositive, sehr plumpe und große Diplokokken.

Mit diesem Materiale wurden Platten des von Griebel angegebenen Milchagars (nach Kuntze) beimpft, auf denen neben den erwähnten Diplokokken das Langstäbchen sehr gut wuchs und durch seine Eigenschaften sich als ein typischer *Bacillus bulgaricus* zu erkennen gab.

Bei der großen Zahl ausführlicher Arbeiten der letzten Zeit erübrigt sich eine ins einzelne gehende Beschreibung des Bacillus. Er bildete nach 24stündigem, besser noch nach 48stündigem Stehen der Platte bei 37°

auf dieser zarte, flache, durchscheinende Kolonien von leicht krümeliger Struktur, grauweißer Färbung und unregelmäßig zackiger, rundlicher Begrenzung. Die einzelnen Individuen waren große, plumpe, an den Enden scharfgeackte Stäbchen, die oft in Reihen hintereinander lagen, auch vielfach zu langen Fäden auswuchsen und unbeweglich waren. Ihr Leib enthielt vielfach bei gewöhnlicher Färbung, mit Löfflerschem Methylenblau darstellbar, stark gefärbte Körnchen, so daß sie offenbar dem Typus B White und Averys angehörten. Bei Gramscher Färbung verhielten sie sich positiv.

Es gelang leicht, diese Kolonien auf Milchagar zu isolieren und weiter zu züchten.

Die Stäbchen brachten, in Röhrchen mit steriler Milch zurückgebracht, diese innerhalb von 24 Stunden bei 37° stets zur Gerinnung.

Nun wurden sie mehrere Male je nach 2 bis 3 Tagen in sterile Milch übertragen und dann einige Milchagarschräggkulturen vom Material der letzten Milchkultur angelegt. Nach 4tägigem Stehen wurden dann die Milchagarkolonien auf drei Milchagar- und drei Platten mit gewöhnlichem, schwach alkalischem Agar ausgestrichen.

Nun zeigte sich am nächsten Tage außer den drei Milchagarplatten auch die eine der drei Agarplatten mit einer Reinkultur, ganz ähnlich der auf den Milchagarplatten befindlichen, ziemlich dicht bewachsen. Die Kolonien unterschieden sich weder durch ihre Größe, noch durch ihre Färbung von den Milchagarkolonien, nur waren sie am Rande etwas stärker ausgezackt und fast milzbrandähnlich. Die in ihnen enthaltenen Bazillen waren aber auffälligerweise gramnegativ.

Ihr morphologisches Verhalten, ihre Unbeweglichkeit ließen sie im übrigen als völlig mit der Stammkultur übereinstimmend erscheinen. Ja, als sie am nächsten Tage wieder in Milch gebracht wurden, koagulierten sie dieselbe prompt und erhielten ihr grampositives Verhalten sofort wieder zurück.

Diese Fähigkeit, zur Stammform zurückzuschlagen, behielt nun aber der abgespaltene Typ nicht lange bei. Vielmehr ging ihm schon nach der zweiten Agarpassage die Eigenschaft verloren, auf Milchagar zu wachsen und in der Milch war sein Verhalten insofern verändert, als er in ihr nur sehr spärlich und langsam wuchs, infolgedessen die Koagulation derselben erst nach mehreren Tagen, später sogar überhaupt nicht mehr hervorrief. Dagegen wurde er in diesem Substrat regelmäßig wieder grampositiv.

Es wurde nun dieser Stamm in seinem Verhalten zu einer Reihe von Testnährböden geprüft und ergab, verglichen mit dem Originalstamm und einem Kolistamm der Institutssammlung, folgendes 24stündige Resultat:

	Lackmus- molke	Barsiekow- Milch- zucker	Barsiekow- Trauben- zucker	Neutralrot- agar	Bouillon	Milch	Agar	Milchagar	Manit- agar	Maltose- agar	Saccharose- agar
Original Yoghurt	steril	steril	steril	steril	steril	koagul. reichl. Wachs- tum	steril	reichl. Wachs- tum	steril	steril	steril
Agar Yoghurt	steril	rot- violett, trübe	rot- violett, trübe	steril	flockig. Satz, trübe	nicht koagul. gering. Wachs- tum	reichl. Wachs- tum	steril	steril	steril	steril
Coli- Samm- lung	hellrot, trübe	rosa, aus- gefällt	rosa, aus- gefällt	fluoresc gesprengt	üppig	koagul. reichl. Wachs- tum	üppig	üppig	rot	rot	blau

Dieses Verhalten behielt der abgespaltene Stamm im Laufe von 5 Wochen völlig unverändert bei, und es gelang in dieser Spanne Zeit bisher nicht, ihn zum völligen Rückschlag zu bringen, dagegen trat mit Regelmäßigkeit der Wechsel des färberischen Verhaltens gegenüber der Gramfärbung bei Übertragung von Milch auf Agar oder umgekehrt ein.

Als einige Zeit später mehrfach Proben derselben Bollesche Yoghurtmilch untersucht wurden, erhielten wir bei Verwendung eines ebenso bereiteten Milchagars nicht wieder die gleichen Kulturen, vielmehr wuchsen die Bazillen nunmehr auf Milchagar und gewöhnlichem Agar etwa gleich schlecht in ganz kleinen Kolonien und zwar nicht nur bei 37°, sondern auch bei 22° und 45°; letztere Temperatur ist als besonders günstig empfohlen worden. Auch nach den Erfahrungen anderer Autoren muß auf Plattenkulturen mit einem etwas launischen Verhalten der Yoghurtbazillen gerechnet werden.

Faßt man kurz das Wesentliche dieser Beobachtungen zusammen, so ergibt sich, daß der durch mehrtägiges Verweilen auf Milchagar abgespaltene Typus des *Bacillus bulgaricus* in folgenden Eigenschaften von der Ausgangsform abweicht:

1. Er wächst kräftig schon nach 24 Stunden auf gewöhnlichem Agar.
2. Er wächst nicht auf Milchagar.
3. Dagegen wächst er leidlich auf den Barsiekowschen Zuckernährböden sowie auf Bouillon.

4. In Milch wächst er sehr kümmerlich und zwar stets in gram-positiver Form.
5. Koagulation der Milch vermag er nicht hervorzurufen.
6. Bei Wachstum auf Agar verliert er die Gramfestigkeit.

Literatur-Verzeichnis.

C. Griebel, Beiträge zur Überwachung des Verkehrs mit Yoghurt und Yoghurtpräparaten. *Zeitschrift f. Unters. d. Nahrungs- und Genußmittel*. 1912. Bd. XXIV. Nr. 9. S. 541.

Lürssen u. Kühn, Yoghurt, die bulgarische Sauermilch. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1908. II. Abt. Bd. XX. S. 234.

White u. Avery, Observations on certain lactic acid bacteria of the so called *Bulgaricus*-type. *Ebenda*. 1910. II. Abt. Bd. XXV. S. 161.

Kuntze, Studien über fermentierte Milch. I. Yoghurt und Mazun. *Ebenda*. 1908. Bd. XXI. S. 24—25.