

Wenn ich gegen die Bildung der Arthrosporen bei den Bakterien auftrete, so bin ich doch weit entfernt zu behaupten, dass außer den eigentlichen (endogenen) Sporen keine andern Dauerformen von den Bakterien erzeugt werden. Ich habe selbst früher eine solche Dauerform für *Bacillus Anthracis* beschrieben und abgebildet¹⁾. Sie bildet sich unter bestimmten Verhältnissen durch Festigung und Erhärtung der äußern vergallerteten Membran der Stäbchen und wächst unter günstigen Bedingungen zu neuen Stäbchen aus, wobei die erhärtete Membran abgeworfen wird und schließlich verquillt. Es wird aber wohl niemand einfallen, diese Dauerform als eine besondere Art der Fruktifikation aufzufassen, wenn auch die erhärteten Stäbchen sich durch etwas größere Resistenz im Vergleich zu den gewöhnlichen Stäbchen auszeichnen, ebenso wie es niemand einfällt, die Sklerotien der höhern Pilze als eine besondere Fruktifikationsform zu bezeichnen, trotzdem sie auch die Art unter ungünstigen Lebensverhältnissen besser erhalten, als das gewöhnliche Mycelium des Pilzes.

Ueber Alkali-Albuminat als Nährboden bei bakteriologischen Untersuchungen.

Von J. Rosenthal und O. Schulz.

Herr Professor Tarchanoff in Petersburg hat vor kurzem in dieser Zeitschrift eine Methode beschrieben, Eiweiß derartig zuzubereiten, dass es als fester Nährboden für Bakterienzüchtung angewandt werden kann. Ehe diese Mitteilung an die Redaktion gelangte, waren wir mit ähnlichen Versuchen beschäftigt gewesen, hatten dieselben aber, weil sie nicht befriedigend ausgefallen waren, abgebrochen. Die Mitteilung des Herrn Tarchanoff hat uns veranlasst, jene Versuche wieder aufzunehmen. Was wir jetzt berichten wollen, knüpft daher an die Mitteilung jenes Forschers an, soll jedoch an die Stelle der von jenem angegebenen Methode ein einfacheres und leichter auszuführendes Verfahren setzen.

Schon früher (Pflüger's Archiv XXXIII 303 und XXXIX 476 und 485) hatte Herr Tarchanoff gefunden, dass Eiereiweiß unter gewissen Umständen glasig und durchsichtig gerinne, und dass man diesen Zustand bei gewöhnlichem Hühnereiweiß künstlich herstellen könne durch Zusatz geringer Mengen von Aetzkali oder Aetznatron, welche nicht ausreichen, das sogenannte Lieberkühn'sche Alkali-Albuminat zu erzeugen. Wir sind in unsern neuern Versuchen von diesem Tarchanoff'schen Albuminat ausgegangen und haben nach

1) Prazmowski A., Die Entwicklungsgeschichte und Morphologie des *Bacillus Anthracis*. Abhandl. der k. k. Akademie der Wissensch. zu Krakau, Bd. XII, 1884, Taf. V. Siehe auch meinen Aufsatz: Ueber den genetischen Zusammenhang der Milzbrand- und Heubakterien. Biol. Centrabl., 1884, S. 403.

einem möglichst einfachem Verfahren gesucht, dasselbe in einer für unsere Zwecke passenden Form herzustellen. Es haben sich dabei neue Fragen aufgedrängt, auf welche wir hier nicht eingehen wollen: wir haben die Untersuchung derselben einem der Herren Laboranten im Erlanger physiologischen Institut übertragen, welcher darüber in seiner Inauguraldissertation berichten wird. Für den vorliegenden Zweck genügt es, wenn wir sagen, dass wir das glasartig durchsichtige, vollkommen klare Eiweiß mit etwas Pepton und etwas Fleischinfus versetzt, in Erlenmeyer'schen Kolben oder in Reagensgläsern sterilisieren und dann ganz wie Blutserum verwenden. Vor diesem hat es einige Vorteile voraus: 1) ist es leichter überall zu beschaffen; 2) ist es durchsichtiger, 3) ist es sicherer zu sterilisieren.

Es scheint uns aber, dass die Einführung dieses neuen Nährbodens in die bakteriologische Untersuchungstechnik noch bedeutendere Vorteile dadurch gewährt, dass sie die Mittel der differentiellen Diagnostik vermehrt. Schon jetzt dient das verschiedene Verhalten der einzelnen Spaltpilze auf Gelatine, Agar-Agar und Blutserum zur vorläufigen Trennung und Unterscheidung der verschiedenen Arten. Jedes neue Mittel zu diesem Zwecke, wie es durch die Benutzung eines vierten, leicht herzustellenden Nährbodens gewonnen ist, wird unsere Kenntnis von den biologischen Eigenschaften der einzelnen Arten erweitern und dadurch nützlich werden können.

Wie Herr Tarchanoff angibt (diese Zeitschrift Bd. VIII S. 19), stellt er das glasig gerinnende Eiweiß her, indem er ganze Hühner-eier mit der Schale in 5- oder 10prozentige Alkali- oder Natronlauge legt und das Alkali durch Diffusion in die Eier eindringen lässt¹⁾. Je nach der Dauer des Verweilens in der Lauge wird dann das Eiweiß verschieden verändert, so dass es entweder schon in der Kälte fest oder, wenn es weniger Alkali aufgenommen hat, bei Zimmer-temperatur flüssig ist und erst beim Erhitzen gerinnt, dabei aber, wenn der Alkaligehalt richtig getroffen ist, nicht weiß und undurchsichtig (marmorartig) wird, sondern glasartig durchsichtig bleibt. Man kann aber, wie Herr Tarchanoff ja schon früher gefunden hat, diesen letztern Zustand auch herstellen, indem man Eiweiß in der Kälte mit passenden Alkalimengen versetzt und dann erhitzt. Wie wir gefunden haben, kann man auch noch erhebliche Mengen von Wasser zu dem Eiweiß hinzufügen und dadurch nach Belieben verschiedene Grade von Konsistenz erzielen, was unter Umständen von großem Nutzen ist. Will man die Lösungen der Sterilisierung

1) Dies Verfahren ist, wie wir nachträglich aus dem Patentbericht des am 25. Mai d. J. erschienenen Heftes der Berichte der deutsch. chem. Gesellschaft ersehen, Herrn Prof. Tarchanoff patentiert worden. D. R. P. 42462. Kl. 53. „Verfahren zur Herstellung von transparentem alkalischem Eiweiß in Form einer festen Gallerte“. Wir beabsichtigen selbstverständlich nicht, in Herrn Tarchanoff's Patentrechte irgendwie einzugreifen.

wegen lange kochen, dann muss man natürlich auf den Wasserverlust durch Verdunstung Rücksicht nehmen und diesem entsprechend etwas mehr Wasser zusetzen, als man in dem fertigen Nährboden haben will. Uebrigens bedarf es keiner sehr strengen Sterilisierung, da die angewandten Stoffe auch ohne diese vollkommen steril zu sein pflegen.

Impft man so zubereitet Nährstofflösungen nach dem Erhitzen, wodurch sie fest geworden sind, im Reagensglas mit der Platinnadel, so erhält man ähnliche Erscheinungen wie bei Blutserum. Die einmal festgewordene Masse kann nachträglich wieder auf jede passende Temperatur erhitzt werden; sie eignet sich also besonders für Züchtung von Bakterien, welche nur bei höherer Temperatur sich entwickeln und ersetzt vollkommen das Blutserum. Neben dem schon hervorgehobenen Vorteil der leichtern Beschaffung und Zubereitung hat sie aber vor diesem noch den nicht zu unterschätzenden Vorzug, dass sie die Beimischung verschiedener Stoffe, Salze aller Art oder der Extraktivstoffe des Fleisches u. a. und dadurch eine Veränderung der Zusammensetzung in breitem Maße gestattet, welche für die Erforschung der Lebensbedingungen einer jeden Bakterienart von großem Vorteil zu werden verspricht. Wir haben die verschiedensten Mikroben auf diesem Boden gezüchtet. Sie zeigen wie auf andern Nährböden Unterschiede in der Art des Wachstums, einige verflüssigen das Albuminat schnell, andere langsam, wieder andere gar nicht, so dass dieses Verhalten ebenso wie das auf andern Nährböden zur Diagnostik dienen kann. Man kann aber auch die Gerinnung des Albuminats in flachen Schalen vornehmen oder in Erlenmeyer'schen Kolben und kann diese impfen, indem man kleine Tropfen der bakterienhaltigen Mutterflüssigkeit auf die Oberfläche aufsetzt oder mit der Platinnadel Striche zieht, wie dies bei den Plattengüssen üblich ist. Man erhält so isoliertes Wachstum der verschiedenen Arten, ganz wie bei den andern üblichen Verfahrensweisen, und zwar je nach Belieben bei Zimmer- oder bei höherer Temperatur. Wir wollen hier auf die Einzelheiten dieser Versuche nicht eingehen, da es uns für jetzt nur darauf ankommt, das Wesentlichste der Methode zu beschreiben und dieselbe der Prüfung der Fachleute zu unterbreiten. Wir begnügen uns daher mit diesen Andeutungen und wollen nur die Zubereitung des Alkali-Albuminats und die Mischungsverhältnisse angeben, welche sich uns als brauchbar erwiesen haben und welche wir in der Mehrzahl der Fälle als die geeignetsten ansehen, unbeschadet der Abweichungen von dieser Durchschnittszusammensetzung, welche vielleicht in einzelnen Fällen notwendig oder nützlich sein können.

Das frischen Hühnereiern entnommene Eiweiß ist, ehe dasselbe mit der Alkalilösung vermischt wird, zuvor von den Chalazen zu befreien und abzuklären. Am einfachsten geschieht dies in der Weise,

dass man das Eiweiß durch ein beutelartig zusammengesetztes dünnes Filtriertuch oder besser durch eine doppelte Lage von Musseline langsam und unter Anwendung eines geringen Druckes mit der Hand hindurchpresst. Man erhält so ein vollkommen klares und von Luftblasen freies Filtrat. Letzteres wird in einem mit eingeschliffenen Stopfen versehenen Messzylinder mit 1prozentiger Natron- oder Kalilauge und destilliertem Wasser versetzt und zwar in dem Verhältnis, dass auf je 5 cem Eiweiß 3 cem Alkalilösung und 2 cem Wasser in Anwendung kommen. Da starkes Schütteln einen zähen, bleibenden Schaum hervorruft, so empfiehlt es sich, die Flüssigkeit einige Stunden stehen zu lassen und sie durch wiederholtes Hin- und Herneigen des Zylinders innig durchzumischen.

Mit dem so zubereiteten Alkalialbuminat werden nunmehr Reagensgläser, Erlenmeyer'sche Kolben oder flache Glasschalen beschickt und in 95—98° heißes Wasser gebracht, in welchem man sie kurze Zeit verweilen lässt. Nach wenigen Minuten geseht die Eiweißlösung zu einer gleichmäßig festen Gallerte, die in dünnen Schichten vollkommen klar erscheint, in stärkern etwas opalisiert, stets aber die bei einem Nährboden erforderliche Konsistenz und Durchsichtigkeit zeigt. Erhitzen auf 100° ist zu vermeiden oder darf nur kurze Zeit geschehen, da die alsbald in großen Blasen entweichenden Wasserdämpfe den Zusammenhang der Gallerte zerstören.

In vielen Fällen wird man mit einem Alkalialbuminat von angegebener Zusammensetzung auskommen können, d. h. es wird nicht nötig sein, dem Eiweiß, das allein den Lebensbedingungen vieler Bakterien genügt, noch besondere Stoffe zuzusetzen. Andererseits kann nicht selten eine Abänderung jener Zusammensetzung z. B. eine Erhöhung des Gehaltes an bestimmten anorganischen Salzen oder eine Verringerung der Alkalimenge wünschenswert sein. Wie wir beobachtet haben, sind in dieser Richtung vielfache Modifikationen möglich. Ohne auf die schon erwähnten weitem Versuche, über welche demnächst von anderer Seite eingehend berichtet werden wird, näher einzugehen, wollen wir hier nur hervorheben, dass der Alkaligehalt noch um $\frac{1}{5}$ der angegebenen Menge verringert werden kann, dass also eine Mischung von 5 cem Eiweiß mit 2,4 cem 1prozentiger Natron- oder Kalilauge und 2,6 cem Wasser noch eine verwendbare Albuminatgallerte liefert; dass ferner der Zusatz von anorganischen Salzen (NaCl , KCl , Na_2CO_3 , K_2CO_3 , Na_2SO_4 , Na_2HPO_4) im allgemeinen aufhellend, aber zugleich erweichend wirkt. Hieraus ergibt sich, dass, wenn statt Wasser etwa eine $\frac{1}{2}$ - oder 1prozentige Kochsalzlösung angewendet wird, zugleich die Alkalimenge geringer sein darf. Den gleichen Erfolg hat, was kaum weiter bemerkt zu werden braucht, das NaCl -haltige Pepton-Fleischinfus. Aus naheliegenden Gründen scheint letzteres zur Verdünnung des Alkali-Albuminats besonders geeignet, wir haben es wiederholt verwendet und gute Resultate erhalten, wenn wir eine Mischung

von 5 cem Eiweiß und 2,2 cem 1prozentiger Alkalilauge mit Fleischinfus¹⁾, das etwa zur Hälfte mit destilliertem Wasser verdünnt war, auf 10 cem auffüllen.

Bei den bisherigen Auseinandersetzungen haben wir immer angenommen, dass die Eiweiß-Alkali-Mischung erst durch Erhitzen auf 98° zum Erstarren gebracht, dadurch zugleich sterilisiert und dann nach dem Erhalten auf die eine oder die andere Art geimpft werde. Die Sterilisierung ist, wie schon gesagt, verhältnismäßig leicht zu erreichen, wenn man mit sterilisierten Gefäßen arbeitet, weil das frisch aus den Eiern gewonnene Eiweiß in der Regel keine Keime enthält und die übrigen Flüssigkeiten, Kali- oder Natronlauge und Fleischinfus, vor der Zumischung für sich sterilisiert werden können. Man kann aber bei diesen Nährböden noch ein anderes Verfahren anwenden, welches unter Umständen auch von Vorteil zu werden verspricht. Mischt man dem Albuminat vor dem Erhitzen eine infektiöse Flüssigkeit zu, welche verschiedene Mikroben enthält, und erhitzt dann, so werden während des Erstarrens die hinzugefügten Bakterien wohl getötet, nicht aber die etwa gleichzeitig vorhandenen Dauersporen. Die letztern werden sich daher nachträglich entwickeln, wenn man den Kolben oder das Reagensglas bei passender Temperatur im Wärmekasten aufbewahrt. Man kann dieses Verfahren der Trennung von Dauersporen und andern beigemengten Bakterien gewiss oft mit Vorteil verwenden. Dasselbe ist im Prinzip ja auch mit Blutserum durchführbar; aber doch viel schwerer auszuüben, weil man letzteres nur auf 60° erwärmen darf, unser Eiweiß aber auf 98°, was die sichere und schnelle Abtötung der Bakterien viel besser verbürgt.

Aus alle dem glauben wir schließen zu dürfen, dass die Einführung des Alkali-Albuminats in die bakteriologische Untersuchungstechnik durch Herrn Tarchanoff einen wirklichen Fortschritt und eine nützliche Bereicherung der bisherigen Methoden darstellt; wenn aber die von jenem Forscher vorgeschlagene Methode durch ihre Umständlichkeit zu ausgedehnter Verwendung nicht geeignet ist, so glauben wir dem von uns vorgeschlagenen Verfahren nachsagen zu können, dass es leicht ausführbar ist und durch die Abänderungen, welche es gestattet, vielfachen Zwecken sich anzupassen vermag. Natürlich ist es nicht unsere Meinung, durch dasselbe andere bewährte Methoden verdrängen zu wollen. Neben diesen, nicht statt ihrer wollen wir es verwendet wissen.

1) Nach Flügge, Mikroorg. S. 649; nach Fränkel, Bakterienkde. S. 97.

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Biologisches Zentralblatt](#)

Jahr/Year: 1888-1889

Band/Volume: [8](#)

Autor(en)/Author(s): Rosenthal Josef, Schulz Oskar

Artikel/Article: [Ueber Alkali-Albuminat als Nährboden bei bakteriologischen Untersuchungen. 307-311](#)