

andere Wirkungskomponente des hormonalen Effektes, nämlich die lebendige Reaktion der Gebärmutter Schleimhaut, wird meist außer acht gelassen. Dabei ist bekannt, daß das Endometrium zur Gänze oder im Bereich einzelner Schleimhautbezirke in seiner Reaktivität verändert sein kann. Dafür bot auch die bei unserer 61jährigen Patientin erzeugte Menstruation ein beredtes Beispiel. Bei ihr antwortete das seit über einem Jahrzehnt ruhende Endometrium auf die Einwirkung oestrogenen Substanzen nicht wie gewöhnlich mit der Ausbildung typischer Drüsenschläuche. Wir sahen im Strichcurettement 14 Tage nach der ersten der vorbereitenden Injektionen zahlreiche zystisch erweiterte Drüsen mit abgeplatteten, statt hochprismatischen Drüsenepitheln, die auf die Zufuhr physiologischer Mengen brunsterregender Stoffe entstanden. Obgleich wir den strikten Beweis dafür nicht erbringen können, nehmen wir an, daß eine abwegige Reaktion des Endometriums in der Pathogenese uteriner Blutungen eine größere Rolle spielt, als wir gegenwärtig anzunehmen gewillt sind. Wir sehen darin nur eine Bestätigung der biologischen Tatsache, daß Hormone tote Substanzen sind, die nicht mehr und nicht weniger vermögen, als die vitalen Potenzen des lebenden Organismus zu wecken.

Damit hätten wir an Hand einer häufig vorkommenden gynäkologischen Erkrankung die praktische Wichtigkeit der Mikroskopie illustriert. Wir glauben gezeigt zu haben, daß die Mikroskopie für die gynäkologische Endokrinologie unentbehrlich ist und bleibt.

BACTERIUM BIFIDUM, EIN FAKULTATIVER ODER OBLIGATER ANAEROBIER?

Von DR. JOSEF MÖSE

(Hygienisches Institut der Universität Graz.
Prov. Leiter Doz. Dr. med. et phil. Franz Lieb)

Das *Bacterium bifidum*, jener von TISSIER (1) erstmalig beschriebene Keim, beherrscht in den meisten Fällen das Bild der Darmflora des gesunden Säuglings, besonders dann, wenn der Säugling mit Muttermilch ernährt wird. Die Frage seiner Herkunft im Säuglingsdarm war bis in die letzten Jahre eigentlich noch recht dunkel gewesen. Er wurde am 2.—3. Lebenstag regelmäßig im Säuglingsstuhl vorgefunden. 1942 gelang es dann ROUFOGALIS (2) in seiner eingehenden Arbeit, das *Bacterium bifidum* in der Vagina, im ersten Mekonium des Neugeborenen, ja selbst im steril durch Punktion gewonnenen Fruchtwasser nachzuweisen. In der Außenwelt, wie z. B. Brustwarzen, Badewasser usw., gelang ihm dieser Nachweis niemals. In bezug zu oben gestelltem Thema heißt dies also, daß das *Bacterium bifidum* nur dort nachgewiesen werden konnte, wo es unter geringem oder ohne Sauerstoffzutritt wachsen konnte. Es soll hier daher noch einmal die Frage der Sauerstoffempfindlichkeit des *Bacterium*

bifidum genauer erörtert werden. Die Durchsicht der Literatur zeigte, daß gerade hierin erhebliche Meinungsverschiedenheiten festzustellen sind. ADAM (3), KRUSE (4), SCHIAPARELLI (5), ZEISSLER und KAECKEL (6), STRANSKY und MASLOWSKY (7), RÜHLE (8), HENNEBERG (9) und BOVENTER (10) rechnen das Bacterium bifidum zu den strengen Anaerobiern. NOGUCHI (11), BASTEN (12), KÜTHE (13) rechnen es zu den fakultativen Anaerobiern. BLAUROCK (14) sowie ORLA-JENSEN (15) sahen bei alten Kulturen ausnahmsweise aerobes Wachstum, rechnen Bacterium bifidum aber allgemein zu den obligaten Anaerobiern. Zum Unterschied davon stellten CRUICKSHANK (16), PESCH und ZÖLLNER (17) auch normales aerobes Wachstum fest.

Es sollen zunächst die bei dieser Arbeit verwendeten Versuchsanordnungen beschrieben werden. — Die Züchtung erfolgte in jedem Falle auf dem von BLAUROCK (14) angegebenen Nährboden für das Bacterium bifidum. Dieser Nährboden zeigte sich nach eingehenden Vorversuchen als weitaus der optimalste. Er hat folgende Zusammensetzung: Zu 500 g Leber kommen 1000 ccm aqua dest., nach zweistündigem Kochen wird filtriert, das Filtrat dann auf 1000 ccm mit aqua dest. aufgefüllt und dazu 10 g Pepton, 5 g Kochsalz, 20 g Agar-Agar, 10 g Milchzucker und 1 ccm einer 1:1000-Cystinlösung gegeben. Das p_H ist 7,4.

Die anaerobe Züchtung erfolgte ausschließlich nach dem FORTNER-Verfahren. — In einer Anzahl von Nebenversuchen wurde auch das von BOVENTER (10) im Sinne von KOCH angegebene Verfahren verwendet, indem eine KÜSTER-Schale mit jeweils 1 g Pyrogallol auf 10 ccm einer 20%igen Pottaschelösung beschickt wurde. An Stelle des KÜSTER-Verfahrens wurde mit obigen Lösungen auch das Verfahren nach LENTZ erprobt. Diese beiden Arten der anaeroben Züchtung des Bacterium bifidum erwiesen sich als zumindest ebenbürtig, in einigen Fällen sogar besser als das FORTNER-Verfahren.

Die Diagnose des Bacterium bifidum erfolgte erstens nach dem Aussehen der Kolonien auf der BLAUROCK-Platte und zweitens in jedem Falle durch die mikroskopische Feststellung charakteristischer Astformen des Bacterium bifidum. Nur solche typische Astformen wurden im Versuch als Bacterium bifidum angesprochen. Mit Ausnahme von Original-Stuhlausstrichen auf Objektträgern, in welchen sich das Bacterium bifidum fast ausschließlich in Stäbchenform zeigte, konnten beim Abstrich verdächtiger Kolonien in jedem Falle neben den meist in überwiegendermaßen vorhandenen Keulenformen Astformen festgestellt werden. Die Form der Kolonien zeigte sich auf der BLAUROCK-Platte in kleinen, glattrandigen, halbkugelförmigen, weißen Kolonien, die im durchfallenden Licht ein gelbliches Zentrum besaßen. Außer dieser von BLAUROCK (14) als S-Typ bezeichneten Form konnte bei 35 Stämmen nur ein einziges Mal auch eine Kolonieförmigkeit beobachtet werden, die BLAUROCK mit R-Typ bezeichnete; kleine, mattweiße, rauhe Kolonien, etwas flacher als die Kolonien vom S-Typ.

Es wurden nun zunächst alle 35 im Versuch verwendeten Bacterium-bifi-

dum-Stämme auf ihr aerobes Wachstum auf der BLAUROCK-Platte im Brutschrank bei 37° geprüft. Es konnte dabei in keinem Falle ein Wachstum des *Bacterium bifidum* festgestellt werden. Auch nicht bei Kulturen, welche vorher vier Monate anaerob gezüchtet und alle zwei Tage überimpft worden waren. — Nach der geübten Wartezeit von 72 Stunden waren in jedem Falle die dicker beimpften Impfstriche noch voll zu erkennen, ja die darauf befindlichen Bakterien noch teilweise so erhalten, daß sie nach Beimpfung einer FORTNER-Platte wieder angingen und mit allen oben beschriebenen Einzelheiten als *Bacterium bifidum* zu erkennen waren. Ein Wachstum auf den aeroben Platten, welche mittels eines Plattenmikroskopes genau beobachtet wurden, war also in keinem Falle eingetreten, jedoch war das *Bacterium bifidum* auch nicht abgestorben. Nun wurden insgesamt 15 Stämme, die nach dem FORTNER-Verfahren gut angegangen waren, nach Herausschneiden der *Prodigiosus*-Kulturen bei Zimmertemperatur unter aeroben Bedingungen stehen gelassen. Dabei zeigte sich, daß einerseits die *Bacterium-bifidum*-Kolonien keinerlei weiteres Wachstum mehr aufwiesen, daß sie jedoch andererseits teilweise noch bis zur vierten Woche auf anaerobe Platten überimpfbar waren und sich nach wie vor GRAM-positiv färbten. In dieser Zeit war natürlich die nach dem Herausschneiden der *Prodigiosus*-Kulturen übriggebliebene Agarhälfte der BLAUROCK-Platte schon soweit eingetrocknet, daß die *Bacterium-bifidum*-Kolonien kaum mehr mit der Öse abgenommen werden konnten. Trotzdem trat auch noch dann nach Überimpfung auf eine frische BLAUROCK-Platte, die anaerob nach FORTNER verwendet wurde, wieder Wachstum ein.

Im einzelnen waren von den 17 dabei verwendeten Stämmen einer nach 16 Tagen, 12 nach rund drei Wochen und 4 erst nach der vierten Woche abgestorben. Beachtlich war dabei die außerordentliche Widerstandskraft dieser einmal angewachsenen Kolonien gegen Austrocknung unter aeroben Bedingungen.

Als nächstes wurden von 10 anaerob angewachsenen Kulturen hängende Tropfen unter normalen aeroben Verhältnissen angefertigt. Dabei wurde als Flüssigkeit Peptonwasser mit 1% Milchzucker und Cystinzusatz nach BLAUROCK (18) verwendet. Diese Präparate wurden durch drei Tage hindurch alle zwei Stunden auf geheizten Objektträgern bei 37° auf Wachstum beobachtet. Es konnte während dieser Zeit keine einzige Teilung festgestellt werden. Nach diesen drei Tagen konnte in jedem Falle durch Abimpfen vom hängenden Tropfen auf eine anaerob bebrütete BLAUROCK-Platte wieder normales Wachstum erreicht werden. Auch hier also hatten sich die einzelnen Bakterien unter aeroben Bedingungen in keiner Weise vermehrt, sondern sich nur lebendig erhalten.

In einer anderen Versuchsreihe wurden 10 Stämme des *Bacterium bifidum* auf eine BLAUROCK-Platte geimpft, welche auf ihrer ganzen Fläche dick mit *Bacillus prodigiosus* überstrichen wurde. Diese Platte wurde dann, so wie sie war, also unter aeroben Bedingungen, bebrütet. Dabei ging bei 9 von den 10 untersuchten Stämmen das *Bacterium bifidum* gut an. Die porzellan-

weißen typischen Kolonien ließen sich makroskopisch und mikroskopisch leicht als *Bifidus*-Kolonien erkennen. Es soll gleich gesagt werden, daß dies die einzige Möglichkeit war, das *Bacterium bifidum* auch unter aeroben Bedingungen zu züchten, wobei natürlich sofort zu bedenken ist, daß bei dieser Art von Züchtung von wirklich aeroben Verhältnissen keine Rede sein kann, denn die dick darübergestrichenen Kolonien des *Bacillus prodigiosus* verringerten auf der Plattenoberfläche den Sauerstoffgehalt derart, daß doch wieder annähernd anaerobe Verhältnisse herrschten¹⁾.

Als nächstes wurden zur Untersuchung des unter aeroben und anaeroben Bedingungen stehenden *Bacterium bifidum* das Verhalten der Polkörper geprüft. Die Körperchen waren im *Bacterium bifidum* meist in der Mehrzahl vorhanden. Sie befanden sich nicht nur an den beiden Polen, sondern meist auch noch im übrigen Bakterienleib verteilt. Dabei variierte außerdem noch die Größe der Körperchen erheblich. Die Verästelungen enthielten den meisten Fällen jeweils ein eigenes kleines Polkörperchen. Zunächst wurde für diese Polkörperchen des *Bacterium bifidum* der optimale p_{H} -Wert der Färbeflüssigkeit festgestellt. Am günstigsten erwies sich eine 0,2%ige Methylenblaulösung in 5%igen Lösungen von Milchsäure oder Essigsäure mit einem p_{H} von 2,3—2,5. Über oder unter diesem p_{H} -Wert war die Anfärbung wesentlich schlechter. Danach kann die gewöhnliche Färbemethode der Polkörperchen nach NEISSER auch für das *Bacterium bifidum* als beste angesehen werden.

Bei allen 35 Stämmen zeigte sich eine deutliche Färbung der Polkörperchen, solange die Stämme anaerob gezüchtet wurden. Dabei spielte es gar keine Rolle, ob diese Stämme jung oder alt waren. Auch die Anzahl der Überimpfungen war ohne Bedeutung. Unter aeroben Bedingungen verschwanden jedoch die Polkörperchen nach spätestens vier Tagen. Sie waren aber sofort wieder darstellbar, sobald unter anaeroben Verhältnissen weitergezüchtet wurde. Auch diese Versuche also zeigten ein Aufhören der normalen Erscheinungen des *Bacterium bifidum*, sobald es in aerobe Lebensbedingungen geriet.

Nach all dem Beschriebenen erscheint es eigenartig, daß zwei Autoren normales Wachstum unter aeroben Bedingungen beobachten konnten. — Was die Arbeit von PESCH und ZÖLLNER (17) anbelangt, sei festgestellt, daß dabei das *Bacterium bifidum* und *acidophilum* in einer Weise getrennt wurden, die nicht ganz einwandfrei erscheint. Eine Unterscheidung dieser beiden, sich in ihren Stäbchenformen sehr ähnlich sehenden Bakterien nach „gerade Stäbchen“ = *Bacillus acidophilus* und „gekrümmte Stäbchen“ = *Bacterium bifidum* scheint nicht ausreichend genug. PESCH und ZÖLLNER beobachteten auch einen Übergang von *Bacterium bifidum* in *Bacillus acidophilus* sowie beider in eine Kokkenform und auch umgekehrt. Jedoch muß die Bemerkung in der Arbeit „die mikroskopisch in die gleiche Gruppe

¹⁾ Dies wird auch durch die Tatsache unterstrichen, daß immer zunächst der *Prodigiosus*-Rasen wuchs und dann erst nach einigen Stunden die typischen *Bifidu*-Kolonien zu beobachten waren.

gehörenden Stämme zeigen ein „kulturell sehr verschiedenes Bild“ den Verdacht nahe legen, daß es sich in Wirklichkeit um verschiedene Bakterienarten gehandelt hat, die, weil mikroskopisch gleich aussehend, in die gleiche Gruppe eingereiht wurden. Ein einwandfreies aerobes Wachstum wäre damit leicht verständlich, da das *Bacterium acidophilum* ja gutes aerobes Wachstum zeigt. CRUICKSHANK (16) beobachtete ebenfalls aerobes Wachstum des *Bacterium bifidum*. Er untersuchte 8 Stämme von Säuglingen und 2 von der Maus. Von diesen Stämmen, die alle als glatte nach BLAUROCK, also S-Typen, beschrieben werden, wurden allerdings nur 4 der Säuglingsstämme von einem Antiserum gegen einen glatten Stamm agglutiniert. Von BOVENTER (10) wurde hingegen an 18 Stämmen, unter denen sich 2 vom R-Typ befanden, festgestellt, daß mit Ausnahme dieser beiden R-Typen alle verbleibenden Stämme vom S-Typ vom Antiserum mehr oder weniger, aber doch in jedem Falle agglutiniert wurden.

Abschließend kann also gesagt werden, daß das *Bacterium bifidum* in den hier untersuchten Fällen niemals ein einwandfrei aerobes Wachstum gezeigt hat. Diese Tatsache sowie der sofortige Stillstand des Wachstums, sobald das *Bacterium bifidum* von anaeroben in aerobe Lebensbedingungen gerät, ferner das Aufhören der Polkörperchendarstellbarkeit unter den gleichen Voraussetzungen zeigt, daß es wohl auch nicht zu den fakultativ anaeroben Bakterien gerechnet werden kann. Daß es sich allerdings so lange Zeit in aeroben Verhältnissen lebensfähig erhalten kann, ohne dabei seine Formen wesentlich zu verändern, daß es auf einer BLAUROCK-Platte, die einfach dick mit *Bacterium prodigiosus* überstrichen und im übrigen aerob ist, noch wächst, läßt es aber auch nicht zu den strengen Anaerobiern zählen.

Bacterium bifidum ist also ein obligater, nicht sehr sauerstoffempfindlicher Anaerobier.

Z u s a m m e n f a s s u n g

1. Der BLAUROCK angegebene Milchzucker-Cystin-Leber-Agar erwies sich in jedem Fall als der für das *Bacterium bifidum* bisher günstigste Nährboden.

2. Bei der anaeroben Züchtung des *Bacterium bifidum* hat sich neben dem FORTNER-Verfahren auch der von BOVENTER im Sinne von KOCH angegebene Ersatz der Kalilauge durch Pottasche beim KÜSTER- oder LENTZ-Verfahren ausgezeichnet bewährt.

3. *Bacterium bifidum* wuchs auf BLAUROCK-Platte unter normalen aeroben Verhältnissen niemals.

4. Die Kolonien des *Bacterium bifidum* hielten sich, einmal anaerob zum Wachsen gebracht, unter Luftzutritt bis zu vier Wochen lebensfähig. Ein weiteres Wachstum erfolgte dabei nicht mehr. Es zeigte sich dabei eine große Widerstandskraft des *Bacterium bifidum* gegen Austrocknung.

Bacterium bifidum zeigte bei dreitägiger Beobachtung im hängenden Tropfen bei 37° unter normalen aeroben Verhältnissen keinerlei Wachstumserscheinungen.

6. Mit geringen Ausnahmen wuchs *Bacterium bifidum* auf einer BLAU-ROCK-Platte, die vollkommen mit *Bacillus prodigiosus* überstrichen und unter aeroben Verhältnissen bebrütet wurde.

7. Es wurde für das *Bacterium bifidum* der günstigste pH -Wert zur Färbung seiner Polkörperchen bei einer 0,2%igen Methylenblaulösung von pH 2,3 bis 2,5 festgestellt.

8. Die Färbbarkeit der Polkörperchen des *Bacterium bifidum* verschwand nach spätestens 4 Tagen unter Luftzutritt.

9. *Bacterium bifidum* wurde abschließend als obligater, nicht sehr sauerstoffempfindlicher Anaerobier bezeichnet.

Literatur

1. *Tissier*, Recherche sur la flora intestinale des nourissons. Paris, 1900.
2. *Roufogalis*, Z. Hyg. **123** (1942): 195.
3. *Adam A.*, Jb. Kinderheilk. **31** (1922): 331, 361.
4. *Kruse*, Allgemeine Mikrobiologie. Leipzig, 1910.
5. *Schiaparelli P.*, Boll. Ist. sieroter. milan. **9** (1930): 465.
6. *Zeißler* und *Kaeckel*, Jb. Kinderhk. **99** (1922): 308.
7. *Stransky* und *Maslowsky*, Z. Kinderheilk. **43** (1927): 717.
8. *Rühle R.*, Jb. Kinderhk. **106** (1924): 21.
9. *Henneberg W.*, Zentralbl. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankh., I. Orig., **136** (1936): 36.
10. *Boventer K.*, Zentralbl. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankh., I. Orig., **142** (1938): 419.
11. *Noguchi Hid.*, Jb. exper. Med. **12** (1910): 182.
12. *Basten J.*, Z. Hyg. **77** (1914): 282.
13. *Küthe H.*, Zentralbl. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankh., I. Orig., **76** (1915): 409.
14. *Blaurock G.*, Mschr. Kinderheilk. **86** (1937): 304.
15. *Orla-Jensen S.*, *Orla-Jensen A.* und *Winther O.*, Zentralbl. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankh., II. Orig., **93** (1936): 321.
16. *Cruickshank R.*, J. of Hyg. **24** (1925): 241.
17. *Pesch K. L.* und *Zöllner A.*, Arch. Hyg. **116** (1936): 295.
Blaurock G., Zentralbl. Bakt., Parasitenkunde u. Infektionskrankh., I. Orig., **144** (1939): 75.

REFERATE

NORMAND D., Dissociation des éléments histologiques du bois (Isolierung der histologischen Holzelemente). Bull. de la Soc. bot. Fr. 91 (1944): 180—182.

Folgendes neues Mazerationsverfahren für Holz wird beschrieben: prismatische Holzstücke von 1—2 cm Länge und etwa 5 × 5 mm Querschnittsfläche werden in ein gekühltes Gemisch von 4 Teilen 95%igem Alkohol und 1 Teil rauchender Salpetersäure eingetragen und darin ein bis zwei Stunden

ZOBODAT - www.zobodat.at

Zoologisch-Botanische Datenbank/Zoological-Botanical Database

Digitale Literatur/Digital Literature

Zeitschrift/Journal: [Mikroskopie - Zentralblatt für Mikroskopische Forschung und Methodik](#)

Jahr/Year: 1947

Band/Volume: [2](#)

Autor(en)/Author(s): Möse Josef Richard

Artikel/Article: [Bacterium bifidum, ein fakultativer oder obligater Anaerobier? 187-192](#)