

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

Herausgeber: Bundesamt für Gesundheit

Band: 46 (1955)

Heft: 4

Artikel: Über die Erreger der "Brotkrankheit". I. Mitteilung

Autor: Streuli, H. / Staub, M.

DOI: <https://doi.org/10.5169/seals-983098>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. [Mehr erfahren](#)

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. [En savoir plus](#)

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. [Find out more](#)

Download PDF: 02.01.2026

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, <https://www.e-periodica.ch>

Über die Erreger der „Brotkrankheit“ ^{*)}

Von *H. Streuli* und *M. Staub*

(Mitteilung aus dem Kantonalen Laboratorium Zürich)

I. Mitteilung

Einleitung

Zur Untersuchung chemischer Veränderungen in fadenziehendem Brot, namentlich auch der Fäden, sollten vorerst einige typische Repräsentanten der Erreger ausgewählt werden, um Modellversuche mit Reinkulturen durchzuführen. Unerwartete Schwierigkeiten bei dieser Auswahl veranlassten uns jedoch, das Problem der Erreger gesondert zu betrachten und ausführlicher zu studieren, worüber wir hier berichten wollen.

1. Terminologie

Brotkrankheiten sind bakteriell bedingte Veränderungen des Brotes, welche dieses für den Verzehr ungeeignet machen. Von andern Arten mikrobiellen Brotverderbs unterscheiden sie sich dadurch, dass hier die Infektion vor dem Backen stattfindet.

Dem Erscheinungsbilde gemäss unterteilen wir und sprechen vom Bluten, Sauerwerden, Fadenziehen des Brotes oder bei atypischer Veränderung auch einfach von Verderb.

Ausschliesslicher Gegenstand vorliegender Betrachtung ist die heute weitaus häufigste und wichtigste dieser Krankheiten, die «Brotkrankheit» im engen Sinne, welche an bestimmten Symptomen – Obstgeruch, Fadenziehen – erkannt wird, sich aber phänomenologisch nicht immer scharf von andern Brotkrankheiten abgrenzen lässt.

«Fadenziehen» und «Brotkrankheit» werden in der Literatur gelegentlich als Synonyma verwendet; nicht ganz zu Recht. Nicht in jedem Fall und vor allem nicht in jedem zeitlichen Stadium ist der Brotverderb mit der Erscheinung des Fadenziehens verbunden. Im Interesse begrifflicher Sauberkeit werden wir von «fadenziehendem Brot» nur dann sprechen, wenn «Spinnwebfäden» (siehe unten) gefunden wurden.

Dagegen verwenden wir wie üblich den Ausdruck «Fadenzieher» oder «Fadenzieher-Organismen» für alle Bakterien, die aus krankem Brot isoliert wurden – ohne Rücksicht auf allfälliges Unvermögen, in Reinkultur steriles Brot fadenziehend zu machen – ebenso für (auch aus andern Materialien isolierte)

^{*)} Ausschnitt aus der Dissertation von *H. Streuli*: Zur Kenntnis der «Brotkrankheit» (Universität Zürich 1955).

Bakterien, welche solches Vermögen besitzen. Nötigenfalls werden wir letztere als «echte Fadenzieher» kennzeichnen.

Ein besonders auffälliges und wichtiges Symptom der Brotkrankheit ist die Zersetzung der Brotkrume. Ihre Beschreibung in der Literatur lässt leider sehr zu wünschen übrig, nicht zuletzt infolge Fehlens einer einheitlichen, eindeutigen Terminologie. So finden sich die Bezeichnungen klebrig, schmierig, schleimig, fadenziehend – collant, gluant, visqueux, filant, bzw. sticky, viscous, slimy, ropy – ohne nähere Begriffsbestimmung.

Als «schmierig» bezeichnen wir Materialien, welche sich anfühlen wie feuchte, zerdrückte Brotkrume oder etwa dicker Kleister, wie auch Stoffe von der Konsistenz dickflüssigen Gummis. Im ersten Fall ist die Masse zudem «kurz», im zweiten Fall «lang».

Auch die Klebrigkeit kann variieren von kleisterartig bis gummiartig. Zähflüssig zersetzte Krume ist immer klebrig, eine Unterscheidung von pain collant und pain visqueux daher fragwürdig.

Die Bezeichnung «Schleim» möchten wir vorbehalten wissen für Massen, welche a) feucht, b) zähflüssig, c) «lang» sind, d) eine gewisse Druck- und Zugelastizität aufweisen. Es ist u.E. für die Brotfäden ganz charakteristisch, dass sie in diesem Sinne nicht schleimig sind, sie sehen wie Spinnweben trocken aus und besitzen wie diese keine nennenswerte Elastizität; reissen sie, so ziehen sie sich nicht zusammen, sondern behalten ihre ursprüngliche Länge bei. Diese Erscheinung steht in deutlichem Gegensatz zu den Fäden, wie wir sie z.B. von schleimbildenden *B.-subtilis*-Kolonien her kennen: auch hier können wir oft 1–2 dm lange Fäden ziehen; diese aber glänzen feucht, nach dem Reissen ziehen sie sich vollständig zu einem feinen Tröpfchen zusammen. Fadenziehen bei Brot und Fadenziehen bei Kartoffeln sind bei genauer Beobachtung zwei recht verschiedene Erscheinungen.

«Fadenziehendes Brot» liegt dann und nur dann vor, wenn es gelingt, die Krume zu feinen, spinnwebartigen, seideglänzenden, trockenen Fäden auszuziehen. Beim Ziehen verspürt man einen gewissen gummiartigen Widerstand, nach dem Reissen sind die Fäden aber unelastisch. Von diesen «echten» Fäden unterscheiden wir die «Schleimfäden», wie sie z.B. bei fadenziehender Milch, fadenziehendem Wein, fadenziehenden Kartoffeln vorliegen und auch bei Brot vorkommen können.

2. Ursachen der Brotkrankheit

Im allgemeinen führt man das Entstehen der Brotkrankheit auf das Zusammenwirken zweier Faktoren zurück: Anwesenheit bestimmter Mikroorganismen und Vorliegen für die Entwicklung dieser Organismen geeigneter Milieubedingungen. Prüfen wir erneut, ob diese Auffassung unbedingt gültig ist:

Wohl kaum je in der Fachliteratur, gelegentlich aber bei ältern Bäckern wird die Brotkrankheit verwechselt mit derjenigen Beeinträchtigung von Teig und

Brot, die bei Verwendung von gekeimtem Getreide eintritt. Niemals aber führt gekeimtes Getreide allein zum Krankheitsbild des fadenziehenden Brotes; als Ursache der Brotkrankheit kommt es also nicht in Frage.

Harada (1951)²⁾ gibt an, dass eine Schimmel-Protease (Taka-Protease) für das Fadenziehen verantwortlich sein kann. Nicht nur mit Rücksicht auf die Frage nach den möglichen Ursachen der Brotkrankheit ist diese Beobachtung von Interesse, sondern ganz besonders auch im Hinblick auf die Frage nach der Natur der Fäden. Wir haben Brot mit Taka-Protease *) beimpft und tatsächlich rasches und typisches Fadenziehen erhalten, doch wimmelte das zersetzte Brot von Bakterien. Es gelang uns denn auch, aus Taka-Protease verschiedene *Subtilis*-Stämme zu isolieren, welche Brot fadenziehend machen konnten; insbesondere fand sich darin der Stamm 2b, ein unfehlbarer Fadenzieher. Beimpften wir hingegen mit einer gleichen Menge steriler Protease (Filtration durch Kerzen *Pasteur-Chamberland* L1 und L3), so trat Fadenziehen nicht auf: das Brot wurde morsch, änderte aber weder die Farbe noch zeigte es auch nur Spuren von Fäden. – Leider hat *Harada* bei seinen durch Protease fadenziehend gewordenen Broten die Abwesenheit von Bakterien nicht nachgewiesen. Seiner Interpretation – Protease als Ursache der Brotkrankheit – können wir daher nicht folgen.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass verbürgte Beobachtungen über Brotkrankheit ohne Mikroorganismen bis heute nicht existieren.

Vorkommen und Systematik der Erreger

1. Problem

Ist die Brotkrankheit auf Mischinfektion oder auf Reininfektion zurückzuführen?

Welches ist die Systematik der Erreger nach dem heutigen Stand der Wissenschaft?

2. Versuche

A. Plan und Durchführung

a) Isolierung

Zwei Wege wurden eingeschlagen:

1. Untersuchung von ganzen Broten. Isolierung möglichst aller in fadenziehendem Brot vorhandenen Bakterienstämme.
2. Untersuchung von Brotstücken, in Petrischalen bebrütet.

*) Schweizerische Ferment AG, Basel. Wir möchten dieser Firma für die uns freundlichst zur Verfügung gestellten Protease- und Amylase-Präparate auch an dieser Stelle bestens danken.

Ersterer Weg ist wirklichkeitsnäher, besitzt aber den Nachteil, dass obligatorische und fakultative Mischinfektion nicht unterschieden werden können und dass spärlich vertretene Organismen leicht verloren gehen. Der zweite Weg dagegen erlaubt eine Differenzierung: sind in einem sehr frühen Stadium der Brotkrankheit (Krankheitsherde noch klein und lokalisiert) in jedem Herd verschiedene Organismen zu finden, vielleicht immer wieder dieselben Partner, so ist äusserst wahrscheinlich, dass es sich um eine obligatorische Mischinfektion handelt. Nachteil: Obligate Anaerobier werden sich auf Scheiben nicht entwickeln.

Alle Mutresubstrate, aus welchen wir im Laufe dieser Arbeit untersuchte Bakterien isolierten, numerieren wir fortlaufend mit arabischen Zahlen:

Substrat No. 3,5	:	Erzwungen fadenziehendes Ruchbrot
4	:	Spontan fadenziehendes Roggenbrot
6, 7, 10-13	:	Model-Weissbrot («Pain de mie»)
9, 14	:	Einback
8, 16, 17	:	Roggenbrot
15	:	Weissbrot
1, 18	:	Erde
2	:	Taka-Protease

1. **Ganze Brote.** (Substrate No. 3-5). a) Fadenziehen erzwungen durch Aufbewahren in Blechbüchsen bei 25°. Die stark fadenziehende Krume wurde erst bei Raumtemperatur, dann bei 100° getrocknet, pulverisiert und gemischt, um eine gute Durchschnittsprobe zu erhalten. Eine Probe wurde in steriles Wasser aufgeschlämmt, mit steriles Sand kräftig geschüttelt, durch Einstellen in siedendes Wasserbad von 90° während 10 Minuten pasteurisiert und in abgestufter Verdünnung auf Platten, teils auf Fleischagar, teils auf Bohnenagar ausgesät. Alle unterschiedlichen Kolonietypen wurden einzeln weiter gereinigt, indem aus wohl isolierten Kolonien nach eingetretener Sporenbildung in steriles Wasser abgeimpft und nach Verdünnung wiederum auf Platten ausgesät wurde. Zeigten die Platten immer noch keinen streng einheitlichen Kolonietypus, wurde die Prozedur ein drittesmal wiederholt. Gleichzeitig gründliche mikroskopische Prüfung. Von der letzten Platte wurden auf Bohnen-Schrägagar zwei Stammkulturen ausgestrichen; für sämtliche künftigen Untersuchungen immer Material aus diesen Stammkulturen (im Eisschrank aufbewahrt) verwendet und damit eine Weiterzüchtung (Gefahr einer Veränderung der Eigenschaften) vermieden.
b) Spontan fadenziehendes Roggenbrot. Dieses Roggenbrot war im Januar (!) fadenziehend geworden und wurde vom Konsumenten an die Ecole Française de Meunerie eingesandt, von wo es dank der Aufmerksamkeit von Direktor *J. Buré* an uns gelangt ist. Isolierung der Bakterien wie oben.
2. **Brotscheiben.** (Substrate No. 6-16). Sämtliche Brote wurden in verschiedenen Bäckereien gekauft. Sie wurden flambiert, mit steriles Messer je 4 ca. 1 cm dicke Scheiben abgeschnitten, diese in sterile Petrischalen gelegt, 5-10 Minuten bei 100-103° pasteurisiert, sodann mit steriles Wasser befeuchtet und bei 30° und 60° in Feuchtkammern (grosse Konservengläser, Boden mit Wasser bedeckt) aufbewahrt. Kontrolle nach 2, 4, 6 und 9 Tagen, ob Krankheitsherde entstanden und wie sich diese verändern. Numerierung der Herde. Prüfung auf Aussehen (Farbe, Struktur), Geruch, mit steriler Nadel auf Konsistenz der Krume. Sind auf einer oder beiden Brotscheiben

mehrere offensichtlich gleiche Herde anzutreffen (was sehr selten vorkam), so wird aus dieser Vielzahl nur ein einziger Herd weiterverarbeitet. Dem Herd wird mit der Oese etwas Material entnommen, in sterilem Wasser aufgeschlämmt, für 10 Minuten bei 90° gehalten, um allfällige schleimige Verklebungen zu lösen, Aussaat auf Bohnenagar-Platten, in Tiefagar und auf sterile Brotscheiben vom Rest des Mutterbrotes. Die Plattenaussaat lässt erkennen, ob verschiedene Stämme anwesend sind, der Tiefagar sollte allfällig vorhandene *Clostridium*-Arten auffinden helfen, die Brotprobe zeigt, ob das ursprüngliche Krankheitsbild des Herdes reproduzierbar ist. Sind auf der Platte unterschiedliche Kolonietypen vorhanden, wird einzeln nochmals auf steriles Brot abgeimpft, um zu sehen, ob diese Stämme auch einzeln das Krankheitsbild reproduzieren können. Weitere Reinigung der Platten-Kolonien wie oben, von Tiefagarkolonien durch wiederholte Aussaat in Tiefagar.

Zeigte sich später bei der Identifizierung, dass verschiedene Stämme desselben Brotes in sämtlichen Eigenschaften übereinstimmen, so wurde nur einer dieser Stämme aufbewahrt, die andern verworfen.

b) Identifikation

Bestimmung nach *Smith, Ruth Gordon* und *Clark*⁵⁾ mit gewissen Modifikationen und Ergänzungen.

Es wurde geprüft auf: Morphologie der Stäbchen, Sporangien und Sporen; Gramfärbung; Gasbildung auf Kohlehydraten mit Fe bzw. auf Glucose-Bouillon, anaerob; Wachstum auf NaCl 5%; Hydrolyse von Gelatine, Casein, Stärke; Gas- und Nitritbildung auf Nitrat, aerob; Gas auf Nitrat, anaerob; pH von Glucose-Bouillon, aerob und anaerob; Wachstum bei pH 6,0; Bildung von Acetoin; Wachstum auf Tyrosin- und auf Glucose-Agar. Nährböden genau nach *Smith et al.* – Neben diesen für die Klassifikation der Organismen ausschlaggebenden Proben wurde geprüft auf: Eigelb-Reaktion nach *Knight* und *Proom*³⁾ (eine Reaktion, die u.E. zur Klassifikation unbedingt herangezogen werden sollte), Hautbildung auf Bohnen-Bouillon, Wachstum auf NaCl 7% und 10%, auf Citrat-Agar nach *Smith et al.* und nach *Simmonds*, auf dem Basal Medium mit Glucose von *Knight* und *Proom*, vereinzelte Stämme auch auf Kartoffeln.

Mikroskopische Prüfung auf Kapseln: in verdünnter Tusche; junge Organismen teils ab Kleieagar, teils ab Bohnenagar.

Bestimmung des Wachstumstemperatur-Maximums: genau nach *Smith et al.*

c) Einwirkung auf Brot

Eine Charakterisierung und Legitimation von Bakterien als Erreger der Brotkrankheit wird man natürlich vor allem anhand derer Einwirkung auf Brot und brotähnliche Substrate erwarten.

Vorgehen:

Einwirkung auf Brotscheiben: Modelbrote von rundem Querschnitt («Pain de mie») wurden flambiert, mit steriles Messer in ca. 1 cm dicke Scheiben geschnitten, mit steriles Wasser befeuchtet und im Autoklaven während 20 Minuten bei 110° «sterilisiert». Beimpft wird genau ins Zentrum mit einigen Tropfen einer verdünnten Aufschlämung von Sporen des zu untersuchenden Stammes. Zwei Parallelbestimmungen. Bebrütung bei 30° in Feuchtkammer. Kontrolle nach 2, 4, 6, evtl.

mehr Tagen. (Die zentrale Beimpfung ist eine Vorsichtsmassnahme gegen Irreführung durch allfällige Entwicklung von restlichen Organismen im ungenügend sterilisierten Substrat). – Modifikationen: Veränderte Sterilisationsbedingungen, flächenförmige Beimpfung.

E i n w i r k u n g a u f S e m m e l n : Mittels sterilem Korkbohrer wird in die Semmel ein Loch gestochen, das Innere aus Pasteur-Pipette massiv beimpft, das Loch verschlossen. In Blechbüchsen verschlossen wurden die Semmeln während 10 Minuten im strömenden Dampf «pasteurisiert», darauf bei 33^0 bebrütet. (Es hat sich später gezeigt, dass unter diesen Pasteurisationsbedingungen doch noch Schimmelbildung eintreten kann).

Nährböden

B o h n e n b o u i l l o n . Übergiesse 100 g weisse Bohnen mit ca. 1,5 l Leitungswasser, bringe zum Sieden; halte unter gelindem Kochen, bis alle Bohnen zu Boden gesunken sind (30–40 Minuten), filtriere durch Glaswolle und ergänze mit Leitungswasser zu 1 Liter. Löse in diesem Absud 3 g Pepton, stelle auf pH 7,0 ein und füge 20 g Glucose zu. Sterilisiere im Autoklav während 20 Minuten bei 121^0 . pH-Kontrolle!

B o h n e n a g a r . Bohnenbouillon mit 2 % Agar.

F l e i s c h a g a r . Nach Smith et al.⁵).

T i e f a g a r . Gélose profonde VF pour anaérobies, Serpasteur, Paris.

E i g e l b a g a r . Trenne nach Hausfrauenart den Dotter eines rohen Eies ab, gib in sterile Schale, entnimm mit steriler Kugelpipette das Eigelb und verdünne mit gleicher Menge physiologischer KCl-Lösung.

Auf 10 Teile geschmolzenen Fleischagar von 45^0 gib 1 Teil der Eigelblösung, mische und giesse in Platten.

S t e r i l i s a t i o n . 20 Minuten bei 120^0 in Autoklaven.

B e b r ü t u n g . Bei 30^0 , sofern nichts anderes angegeben.

B. Ergebnisse

a) Isolierung und Identifikation

Die bei 60^0 bebrüteten Brotscheiben zeigten keinerlei anormale Veränderungen, mikroskopisch waren Bakterien nicht nachzuweisen. Die Organismen, welche aus fadenziehenden ganzen und geschnittenen Brotteilen isoliert wurden, wiesen in keinem Fall Wachstumstemperatur-Maxima über 55^0 auf (Tabelle 4). Auf Grund dieser beiden sich ergänzenden Befunde ist zu schliessen, dass thermophile Organismen höchstens in Ausnahmefällen als Erreger der Brotkrankheit in Frage kommen.

Bezifferung der isolierten Stämme:

Die arabische Zahl kennzeichnet das Muttersubstrat, die lateinischen Minuskel unterscheiden verschiedene Stämme desselben Muttersubstrates (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1

Systematik der aus fadenziehendem

Art	Substrat Nr.	3	4	5	6	7	8
B. subtilis	a-d						
B. subtilis var. aterrimus	e		a, c, d, e, g	+	b-d	a-d	
B. licheniformis					a		
B. cereus					f		
Total Stämme		5	5	1	5	4	0

Bezifferung der isolierten Stämme: Die arabische Zahl kennzeichnet das Muttersubstrat,

Die genannten Stämme gehören sämtliche der Gattung *Bacillus* an. In der Morphologie der Stäbchen, Sporangien und Sporen, der Gramfärbung und in den biochemischen Reaktionen entsprechen sie mit gewissen Ausnahmen genau den für die betreffende Art geltenden Anforderungen von *Smith et al.*; der detaillierte Beleg dürfte sich ersparen.

Ausnahmen:

Die Stämme 4d, 5, 6b, 7b, 7d, 14b reduzieren Nitrat nicht. – Agarkulturen des *B. subtilis* var. *aterrimus* 3e zeigen ein stumpfes Rosa. Keine Schwarzfärbung des Substrates auf Glucose-Agar! Auch Kartoffel wird nicht verfärbt, wohl aber das zur Feuchtigkeit beigegebene Glycerin tiefschwarz. Im Basal medium mit Glucose nach *Knight* und *Proom*³⁾ erzeugt der Stamm ein prächtiges tintenblaues Ultramarin. – In Glucose-Bouillon unter anaeroben Bedingungen zeigten mehrere *Licheniformis*-Stämme weder Wachstum noch Gasbildung. – Auf Citrat-Agar nach *Smith et al.* wie auch nach *Simmonds* gediehen die Organismen mit seltenen Ausnahmen nicht oder nur sehr kümmerlich.

b) Flora der einzelnen Brote

Insgesamt wurden 14 Brote (Substrate 3–16) untersucht. Davon war eines bakterienfrei, eines enthielt nur einen einzigen Stamm, mehr als einen Stamm beherbergten 12 Brote, worunter 8 Brote gleichzeitig mehr als eine Art (Tabelle 1).

Die Brot s c h e i b e n (Substrate No. 6–16) zeigten fast ausnahmslos mehrere, verschiedenartige Krankheitsherde.

c) Flora der einzelnen Krankheitsherde

In einem sehr frühen Stadium des Verderbs (Krankheitsherde noch klein und isoliert) findet sich in den meisten Krankheitsherden nur ein einziger *Bacillus*-Stamm:

bzw. zersetzt Brot isolierten Bakterien

9	10	11	12	13	14	15	16	17	Total Stämme
b, e	+	b, c	a-c	a	b	a	a-c	a, b	33
a		a		b	a c	b			1 4 4
3	1	3	3	2	3	2	3	2	42

die lateinische Minuskel unterscheidet verschiedene Stämme desselben Muttersubstrates.

1 Stamm pro Herd in 19 Herden

2 Stämme 7 Herden

(6b + f, 6c + f, 6d + f;
9a + f; 12b + c;
16a + b; 16a + c)

3 und mehr Stämme 1 Herd

Insgesamt untersucht 27 Herde

(14a + b + c)

Dabei sind die Misch-Herde der Brote 6 und 14 als Artefakte zu werten: beim Brot No. 6 – unserer ersten Brotscheibe – wurden die Bakterien viel zu spät, als schon die ganze Schicht zersetzt, geerntet; beim Brot No. 14 grenzten die Herde I, II und III unmittelbar aneinander, so dass Herd III sehr wohl von den Nachbarstämmen besiedelt werden konnte. Man vermerke ferner, dass in den Broten 12 und 14 neben den Misch-Herden auch Rein-Herde mit denselben Stämmen auftreten, was wiederum die Misch-Herde als Produkte eher des Zufalls denn des Gesetzes erscheinen lässt.

Bei mikroskopischer Betrachtung der Krankheitsherde zeigten sich manchmal – unregelmässig – auffällig viele Hefezellen, mehr als in Präparaten von unzersetzer Krume desselben Brotes. Grossenteils erklärt sich dies dadurch, dass mit zunehmender Auflösung der Krume das Präparat durchsichtiger wird, und daher die Hefezellen besser zutage treten. Zum andern Teil aber darf die Häufung der Hefezellen als objektive Tatsache gelten. Nach Aussaat auf Agarplatten haben wir jedoch niemals Hefekolonien gefunden: die Hefezellen waren tot, was auch die Methylenblaufärbung bekräftigte. Eine direkte Beteiligung von Hefen an der Brotkrankheit (vgl. Seligmann, 1919) ist sicher auszuschliessen.

d) Einwirkung der isolierten Stämme auf Brot

a) Brotscheiben

Sämtliche *B. subtilis*-Stämme vermochten Brot zu zersetzen, ein Drittel davon auch, es mehr oder weniger fadenziehend zu machen. (Positives Ergebnis der Probe auf Fadenzieher ist häufig blosse Geduldssache: nach hundertmaligem Betupfen des

Brotes mit der Nadel mag es wohl einmal gelingen, einen Faden zu entreissen, wo nach nur zehnmaligem Betupfen nichts gefunden wurde.) Auf Details einzugehen, lohnt sich nicht.

B. licheniformis-Stämme zeitigen eine Veränderung des Brotes, die sich von dem durch *Subtilis* verursachten Verderb merklich unterscheidet: die Struktur der Krume ändert kaum, das Brot wird nicht feucht, schmierig-weich, sondern eher trocken, morsch; bei der Isolierung aus Brotschnitten (s. Experimenteller Teil) waren die Herde mit Reinkulturen von *B. licheniformis* verhältnismässig spät – nach frühestens 4 Tagen erkennbar; 2 von 4 Herden waren trocken, morsch, einer (Stamm 11a) bei mechanischer Beanspruchung dünnbreiig, fadenziehend einer allein nach 9 Tagen (Stamm 15b, mit Kapsel).

B. cereus zerstetzt Brotscheiben in charakteristischer Weise – Geruch nach feuchten Lappen, Waschküche, Quark, schmutzig-gelbe Farbe, schmierig-nasse Krume, niemals Fäden.

Auch die beiden untersuchten *BB. megateria* zerstzten Brotscheiben ohne Fadenziehen.

Allgemein ist das Krankheitsbild einer infizierten Brotscheibe vom Schnitt eines kranken Brotes bei aller Ähnlichkeit deutlich verschieden; je mehr Brotscheiben man untersucht, desto stärker tritt diese Tatsache ins Bewusstsein. Vor allem halten wir fest, dass wir niemals den unverkennbaren süßlichen Duft des Anfangsstadiums der Brotkrankheit wahrnehmen, sondern nur einen verwaschenen säuerlichen Geruch, wie er vielen Bakterienkulturen eigen ist; erst bei fortgeschrittenen Zersetzung stellt sich das bekannte Proteolyse-Aroma ein. Auch das Aussehen und die Struktur der Krume, sowie das Fadenziehen sind etwas verschieden, ganz abgesehen vom üppigen, vereinzelt sogar rasenartigen Wachstum der Bakterien.

b) Semmeln

Erst unmittelbar vor Abschluss dieser Arbeit haben wir ein Schock Semmeln beimpft. Trotz unbestreitbarer Schwächen dieses Substrates bewogen uns die Ergebnisse, unsere früheren an weit über hundert Brotscheiben gewonnenen Schlüsse hinsichtlich «echten» und «falschen» Fadenziehern grossenteils wieder zu verworfen. Der Unterschied gegenüber den Scheiben-Versuchen ist frappant. Über die Hälfte unserer *Subtilis*-Stämme, fünf von sieben *Licheniformes*, ein *Cereus*-Stamm (9a) und der *B. megaterium* «pain filant» bewirkten Fadenziehen. Nicht so sehr der (zahlenmässig geringe) Unterschied ist überraschend, als vielmehr die Feststellung, dass beimpfte Semmeln ein Krankheitsbild wie in praxi zeigen, was bei Scheiben sehr selten (Stamm 2b) der Fall war. Zwar gilt auch hier, dass der Geruch noch nicht charakteristisch ist, wenn auch ähnlicher, nicht mehr säuerlich. Aussehen und Struktur der Krume aber und Fadenziehen gleichen vollkommen den Verhältnissen bei spontan erkrankten Brot.

3. Diskussion der Ergebnisse

a) Vorkommen

Verschiedentlich wurde festgestellt, dass in fadenziehendem Brot Reinkulturen vorlagen (Reinsch, 1898; Istin und Roussel, 1941; Remlinger und Bailly, 1947; Kufferath, 1947; Berthe Delaporte und Lemoigne, 1948). (Diese ausschliesslich mikroskopisch gewonnenen Befunde sind mit Vorsicht zu betrachten, ist doch eine Unterscheidung von *Subtilis*-Stämmen auf Grund bloss morphologischer Merkmale unmöglich). – Umgekehrt können auch schon Reinkulturen eines einzigen Erregers Brotkrankheit mit sämtlichen Symptomen erzeugen. Der Brotkrankheit muss also nicht obligatorisch eine Mischinfektion zugrunde liegen.

Wir konnten zeigen, dass in einem sehr frühen Stadium der Brotkrankheit (Krankheitsherde noch klein und lokalisiert) in den meisten Herden nur ein einziger Bacillus-Stamm vorhanden ist, also Reininfektion vorliegt! In 11 von 13 untersuchten Broten aber waren mehr als 1 Stamm und demgemäss unterschiedliche Krankheitsherde anzutreffen; auf das Brot als Ganzes bezogen, besteht also eine Mischinfektion! Antithetisch formuliert: Reininfektion bei Beginn, aber Mischflora im Verlauf der Brotkrankheit!

Es bleibt zu untersuchen, ob Mischflora eine Verschärfung der Krankheit bewirken kann, ähnlich wie dies z.B. bei fadenziehendem Wein festgestellt worden ist⁴⁾.

b) Systematik

Folgende Mikroben sind als Erreger genannt worden:

B. panificans	Laurent (1885)
B. mesentericus panis viscosi I (Bact. mesentericum Migula)	Vogel (1897)
B. mesentericus panis viscosi II (B. panis Migula)	Vogel (1897) u.a.
Bacterium panis	Fuhrmann (1906)
B. liodermos Flügel	Uffelmann (1890) u.a.
B. mesentericus fuscus	Juckenack (1900)
B. mesentericus vulgatus	Uffelmann (1890) u.a.
B. mesentericus var. viscosus Berolinensis	Seligmann (1921)
B. mesentericus niger	Jordan Lloyd et al. (1921)
B. mesentericus; schleimbildende, gramnegative Varianten	Kerckhoff (1927)
B. mesentericus	versch. Autoren
B. subtilis	versch. Autoren
B. subtilis, Marburg-Typ	Barton-Wright (1943)
B. megatherioides	Henneberg (1926)
B. megaterium	B. Delaporte und Lemoigne (1948)
B.-megaterium-ähnlicher B.	Remlinger und Bailly (1947)
B. cereus	Second (1953)
B.-anthracoides-ähnlicher B.	Istin und Roussel (1941)

Bacillus, gramnegativ, Gasbildner mit geschwollenen Sporangien

Beulshausen (1901)

Proteus

Grant (1920)

Fränkel-Bacillus (Clostridium perfringens?)

Fleisch (1947)

Fast alle bisherigen Angaben über Erreger der Brotkrankheit sind empfindlich entwertet

- a) infolge ungenügender Charakterisierung der Organismen, insbesondere durch Fehlen moderner biochemischer Untersuchungsmethoden,
- b) durch Ermangelung des Nachweises, dass die betreffenden aus fadenziehendem Brot isolierten Bakterien nach Beimpfung Brot wiederum fadenziehend machen können.

Versuchen wir dennoch, die gesicherten Ergebnisse herauszuschälen:

1. Mit einziger Ausnahme einer leider nur flüchtig erwähnten *Proteus*-Infektion (Grant, 1920) wurden sämtliche bisher untersuchten Fälle von Brotkrankheit auf Stäbchen mit endogenen Sporen, also auf Organismen der Familie *Bacillaceae* zurückgeführt.
2. Obligat anaerobe Organismen wurden nie gefunden, allerdings scheint auch nur selten darnach gesucht worden zu sein (Jordan Lloyd et al., 1921; Havanto, 1940; Streuli, diese Arbeit). (Die Angabe von Fleisch: Fränkel-Bacillus als Erreger der Brotkrankheit, welche nach privater Mitteilung auf (heute nicht mehr vorhandenen) Unterlagen der Eidgenössischen Getreideverwaltung beruht, darf wohl als Missverständnis gewertet werden). Die Erreger beschränken sich damit ausnahmslos auf die Gattung *Bacillus*. Sowohl obligat aerobe wie auch fakultativ aerobe Erreger sind vertreten, erstere ungleich häufiger. (Die mit der aeroben Gattung *Bacillus* eng verwandte anaerobe Gattung *Clostridium* wäre von Interesse, weil ihre Vertreter nicht selten Buttersäure, Valeriansäure, usw. bilden, und damit eine Erklärung für gewisse Geruchsqualitäten kranken Brotes möglich erschien).
3. Thermophile Organismen sind nie aufgefunden worden, mit Ausnahme des Schreibenden hat aber anscheinend niemand darnach gesucht. Ein einzigesmal allerdings hat Weyland (private Mitteilung, 1952) die bemerkenswerte Beobachtung gemacht, dass ein spontan entstandenes fadenziehendes Brot sich siedendheiss anfühlte; für diesen Fall wären Thermophile wohl in Rechnung zu setzen.
4. Nur in einem einzigen Fall wurde ein Gasbildner mit geschwollenen Sporangien, gramnegativ, ermittelt (Beulshausen), dieser Bacillus machte das Brot nur klebrig und gab ihm unter rötlich-brauner Verfärbung einen charakteristisch himbeerartigen, später widerlich ranzigen Geruch, vermochte jedoch nicht, das Brot fadenziehend zu machen.
Die weitaus häufigsten – und damit auch praktisch wichtigsten – Erreger finden sich somit in der *Bacillus*-Gruppe 1 (Benennung nach Smith, R. Gordon und Clark⁵). Der Beulshausensche *Bacillus* dürfte der Gruppe 2 angehören.

Man könnte versuchen, noch deduktiv abzuleiten, weshalb gerade die Gattung *Bacillus* die Erreger stellen muss:

1. Den Bedingungen beim Backen entsprechend muss die Dauerform der Erreger während mindestens 15 Minuten Temperaturen um 95° aushalten können.
2. Da im Brot nie eine völlig sauerstofffreie Atmosphäre vorhanden ist (*Seidel*, 1932; eine Angabe, die immerhin überprüft werden sollte), fallen obligat anaerobe Organismen ausser Betracht.
3. Den Lagerbedingungen des Brotes entsprechend sind die Erreger mesophil, eventuell thermotolerant.

Auf Grund dieser Bedingungen verbleiben als mögliche Erreger: fakultativ aerobe bzw. microaerophile Vertreter von *Clostridium* und Vertreter von *Bacillus*.

In krankem Brot tatsächlich aufgefunden wurden aus der *Bacillus*-Gruppe 1:

- B. subtilis* – sehr häufig
- B. subtilis* var. *aterrimus* – einmal (*Streuli*) (*Jordan Lloyd et al.*, 1921?)
- B. licheniformis* – häufig
- B. cereus* – wiederholt
- B. cereus* var. *mycoides* – selten
- B. megaterium* – einmal (*B. Delaporte* und *Lemoigne*, 1948)

Davon sind als Erreger der Brotkrankheit einwandfrei sichergestellt *B. subtilis* und *B. megaterium*, in einem einzigen Fall wahrscheinlich auch *B. cereus* (*Second*, 1952).

Eigenartig ist, dass *B. cereus* nicht öfters auftritt, findet er sich in der Erde (Infektionsquelle!) doch noch häufiger als der *Subtilis*. Vielleicht ist er im Brot selten, weil er in seinem Nahrungsbedarf anspruchsvoller ist als der *Subtilis*; auch wäre eine geringere Thermoresistenz der Sporen in Betracht zu ziehen. – In unsren Krankheitsherden haben wir *B. cereus* nur ein einzigesmal allein (Stamm 13 b; hellzitronengelbes, sehr feuchtes Nest von 2 cm Ø nach 2 Tagen), sonst aber in Gesellschaft mit *Subtilis*-Stämmen beobachtet.

Theoretisch besonders interessant wäre ferner der *B. pumilus*, denn dieser besitzt keine Amylasen. Tatsächlich vermochte der *B. mesentericus panis viscosi I* (*Vogel*), ein sicherer Fadenzieher, Stärke nicht abzubauen; eine exakte Klassifizierung auf Grund der magern Angaben *Vogels* ist jedoch unmöglich. Andere ähnliche Erreger wurden bisher nicht beobachtet; zwar wollen auch spätere Forscher den *Vogel'schen* Typus I beobachtet haben, doch fehlen dort gerade Angaben über dessen Einwirkung auf Stärke.

Bergey's Manual (5. Auflage, 1939) gibt an, dass der *B. panis Migula* (= *B. mesentericus panis viscosi II*, *Vogel*) Stärke nicht hydrolysiere. Diese Angabe widerspricht der Feststellung *Vogels*; *Bergey's* Stamm war daher kaum authentisch. Ferner widersprechen sich die erste und die fünfte Auflage des Manual in ihren Angaben über die Nitratreduktion dieses *Bacillus*.

Zur Bezeichnung «*B. mesentericus*»:

(Da den diesbezüglichen Ausführungen von *Smith et al.*, wiedergegeben in *Bergey's Manual* (6.A., 1948), im deutschen Sprachgebiet nicht immer die gebührende Beachtung geschenkt worden ist, soll auch hier nochmals darauf hingewiesen werden:) Der Name *B. mesentericus* bezeichnet in Europa eine andere Bazillenart als in Amerika; die Ursache der Verwirrung ist nicht mehr mit Sicherheit feststellbar. Um Verwechslungen zu vermeiden, muss daher diese Bezeichnung fallen gelassen werden. Beim heutigen Stand der Kenntnisse ist eine Trennung des europäischen *B. mesentericus* vom *B. subtilis* nicht gerechtfertigt; was also früher in Europa mit *mesentericus* benannt wurde, heisst heute *subtilis*. Der amerikanische *B. mesentericus* dagegen erhielt den Namen *B. pumilus*.

Zur Systematik des *B. subtilis*:

*Gibson*¹⁾ – und neuerdings auch *Smith et al.* – unterscheiden zwischen *B. subtilis* und *B. licheniformis*: der *B. subtilis* ist obligat aerob, der *B. licheniformis* dagegen wächst auch anaerob und bildet auf Nitrat unter anaeroben Bedingungen Gas; dadurch unterscheidet er sich scharf vom *B. subtilis*. *Gibsons* Auffassung wird geteilt von *Knight* und *Proom*³⁾; der *B. licheniformis* entspräche dem *B. subtilis Ford*-Typ, im Unterschied zum *Marburg*-Typ.

c) Virulenz

Es stellt sich die wichtige Frage, ob sämtliche Organismen der genannten Arten Brotkrankheit erzeugen können, oder ob nur einzelne virulente Stämme diese Fähigkeit besitzen.

Ausschliesslich für *B. subtilis* liegen Untersuchungen zu dieser Frage vor. *Vogel* (1897) hat Brot mit verschiedenen Kartoffelbazillen beimpft und gefunden, dass von 26 Stämmen nur neun das Brot in die «klebrige, charakteristisch riechende Masse» verwandeln konnten; bei den andern 17 Stämmen trat z.T. gelbliche Verfärbung ein, die Brotdichte blieb aber trocken, stark brüchig, ohne auffallenden Geruch. *Allen* (1919) hingegen beobachtete bei künstlich infizierten Broten Fadenziehen in jedem Fall innerhalb der ersten 30 Stunden.

Eigene Versuche mit brotfremden, frisch isolierten *Subtilis*-Stämmen konnten wegen Zeitmangels leider nur in beschränktem Rahmen durchgeführt werden. Sieben aus Taka-Protease und Erde isolierte Stämme haben alle Brotscheiben bzw. Semmeln mehr oder weniger zersetzt oder fadenziehend gemacht. Dasselbe gilt von den 33 aus Brot isolierten und von sechs aus Sammlungen erhaltenen Stämmen.

Wir vermuten, dass sämtliche *Subtilis*bazillen potentielle Erreger der Brotkrankheit (d.h. imstande, Brotkrume zu verderben), aber nur zum Teil echte Fadenzieher sind. Dass ein potentieller Erreger in praxi tatsächlich zum Erreger wird, hängt ab: a) von hinreichender Thermoresistenz, b) von der Fähigkeit, sich unter den gegebenen Milieubedingungen zu entwickeln, und zwar rasch zu entwickeln. Mit welchen andern, besser definierten Eigenschaften diese Fähigkeit zusammenhängt, liegt noch verborgen.

Verdankung

Vorliegende Arbeit wurde grösstenteils am Institut Pasteur, Paris, Service des Fermentations ausgeführt. Herrn Prof. Dr. M. Lemoigne, Chef de Service, möchten wir den zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz und seinen wertvollen Rat aufs beste danken. Auch verschiedenen seiner Mitarbeiter, die gesamthaft genannt sein mögen, sind wir für Hilfe und Diskussion sehr verbunden.

Zusammenfassung

1. Die «Brotkrankheit» entsteht als Folge einer fakultativen Mischinfektion durch Stämme einer oder mehrerer eng verwandter *Bacillus*-Arten.
2. Auch Reinkulturen einzelner Erreger vermögen sämtliche Symptome des Verderbs hervorzurufen.
3. Die Erreger der Brotkrankheit gehören mehrheitlich zur Art *Subtilis*, doch sind auch den Arten *Licheniformis*, *Megaterium*, vermutlich auch *Cereus* echte Fadenzieher eigen.
4. Vermutlich sind sämtliche *Subtilis*-bazillen potentielle Erreger der Brotkrankheit (d.h. imstande, Brotkrume zu verderben), aber nur zum Teil echte Fadenzieher.

Résumé

1. Le pain filant est causé par une infection mixte facultative par des bactéries de souches plus ou moins apparentées.
2. Des cultures pures de ces germes peuvent aussi faire apparaître tous les symptômes de cette maladie.
3. Les germes qui causent le pain filant appartiennent en majorité à l'espèce *Subtilis*. Toutefois, les espèces *Licheniformis*, *Megaterium* et probablement aussi *Cereus* sont également de véritables producteurs de fils.
4. Il est probable que tous les bactéries *Subtilis* sont des germes potentiels du pain filant, c.à.d. qu'ils sont capables de gâter la mie, mais ne sont qu'en partie de véritables producteurs de fils.

Summary

The ropiness of bread has been found to be mainly caused by germs belonging to the *Bacillus Subtilis* species. However, the species *Licheniformis*, *Megaterium* and probably also *Cereus* can also produce ropiness in bread.

Literatur

- 1) Gibson T., *J. Dairy Res.* **13**, 248 (1944)
- 2) Harada T., *J. Sci. Res. Inst. Tokyo* **44**, 189 (1950)
(Bemerkung über Fadenziehen und Proteasen auch im *Bull. Chem. Soc. Japan* **24**, 105, 1951).
- 3) Knight B. C. J. G. und Proom H., *J. Gen. Microbiol.* **4**, 508 (1950)
- 4) Lüthi H., *Diese Mitt.* **44**, 30 (1953)
- 5) Smith N. R., Gordon Ruth E. und Clark F., *Aerobic Mesophilic Sporeforming Bacteria*. Misc. Publ. No. 559, U. S. Dept. of Agric. a) 1946 b) 2. Aufl. 1953

Weitere Literatur s. H. Streuli, Diss. Univ. Zürich 1955; im Druck.