

**ARCHIV FÜR  
HYGIENE UND  
BAKTERIOLOGIE**

---



THE LIBRARY  
OF THE



CLASS B610.5  
BOOK Ar2h

1911

# ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON MAX v. PETTENKOFER.)

UNTER MITWIRKUNG

VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. EMMERICH, München;  
Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr.  
F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN,  
Würzburg; Prof. Dr. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT,  
Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELJUS,  
Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

**J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,**

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU

STRASSBURG

WIEN

LEIPZIG

BERLIN.

---

ZWEIUNDVIERZIGSTER BAND.

UNIVERSITY OF  
MICHIGAN  
LIBRARY

MÜNCHEN UND BERLIN.

DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.

1902.

UNIVERSITY OF  
MICHIGAN  
LIBRARY

# Inhalt.

	Seite
<u>Über das Vorkommen gemischter Fettsäure-Glyceride im tierischen Fette. Von Willy Hansen aus Rostock. (Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Rostock)</u> . . . . .	1
<u>Beiträge zur Kenntnis der quantitativen Zersetzung des Milchzuckers durch den Bacillus acidi lactici. Von Dr. Paul Haacke aus Schwerin (Meckl). (Aus dem hygienischen Institut der Universität Rostock)</u> . . . . .	16
<u>Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung. II. Von Dr. Max Schottelius, Professor der Hygiene. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.)</u> . . . . .	48
<u>Über die Konstanz der Sporenceimung bei den Bacillen und ihre Verwendung als Merkmal zur Artunterscheidung. Von Dr. Georg Caspari, Zahnarzt aus Rummelsburg in Pommern. (Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.) (Mit Tafel I)</u> . . . . .	71
<u>Studien über die Absterbebedingungen der Sporen einiger Aspergillusarten. Von Professor A. Lode. (Aus dem hygienischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck)</u> . . . . .	107
<u>Über die Verunreinigung des städtischen Hafens und des Flusses Akeraelven durch die Abwässer der Stadt Christiania. Von Dr. Axel Holst, o. ö. Professor, Dr. Magnus Geirsvold, Assistent am hygienischen Institute und Sigval Schmidt-Nielsen, Chem.-Ingenieur. (Aus dem hygienischen Institute der Universität Christiania). (Mit Tafel II—IV)</u> . . . . .	153
<u>Über Buttersäuregärung. (II. Abhandlung.) Von Dr. R. Grafsberger und Dr. A. Schattenfroh. A. Zur Morphologie des beweglichen Buttersäurebacillus. Von Dr. R. Grafsberger, Assistent am Institute. (Aus dem hygienischen Institute der Universität Wien.) (Mit Tafel V—VIII)</u> . . . . .	219
<u>B. Biologisches Verhalten und Verbreitung des beweglichen Buttersäurebacillus. Von Dr. A. Schattenfroh, Assistent am Institute</u>	251

	Seite
<u>Beitrag zur Biologie der Rattentrypanosomen. Von Oberarzt Dr. Jürgens.</u> <u>(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . .</u>	265
<u>Theoretische Betrachtungen über Ansteckung und Disposition. Von</u> <u>Otto A m m o n . . . . .</u>	289
<u>Versuche über Typhusagglutinine und -Präcipitine. Von Privatdozent</u> <u>Dr. Oskar Bail, Assistenten des Institutes. (Aus dem hygieni-</u> <u>sehen Institute der deutschen Universität in Prag Vorstand:</u> <u>Prof. F. Hueppe) . . . . .</u>	307

# Über das Vorkommen gemischter Fettsäure-Glyceride im tierischen Fette.

Von  
**Willy Hansen**  
aus Rostock.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität zu Rostock)

## I.

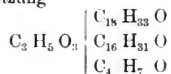
Seit der Untersuchung von Chevreul über die tierischen Fette betrachtet man ganz allgemein dieselben als Mischungen der Triglyceride derjenigen Fettsäuren, welche bisher im Körper der Tiere, bezw. in der von den letzteren abgesonderten Milch gefunden wurden, im wesentlichen: Butter-, Capron-, Capryl-, Caprin-, Palmitin-, Stearin- und Ölsäure.

In allen Lehrbüchern, aber auch in den ausführlichsten Handbüchern der reinen und angewandten Chemie wird demzufolge angegeben, daß die tierischen Fette aus den Triglyceriden der genannten Fettsäuren, hauptsächlich aber aus Tripalmitin, Tristearin und Triolein in wechselnden Mischungsverhältnissen bestehen. In den festen Fetten (Talgen) sollen hauptsächlich das Tristearin und Tripalmitin, in den weicheren (Schmalzen, Butter) das Tripalmitin und Triolein vorherrschen.

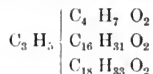
Ob jemals angenommen wurde, daß die Fettsäuren auch als gemischte Glyceride oder doch wenigstens solche neben den einfachen Glyceriden im tierischen Fette vorhanden seien, habe ich nicht in Erfahrung bringen können. Angaben über das Vorkommen gemischter Fettsäure-Glyceride im Tierfette und über die Darstellung solcher aus demselben habe ich in der Litteratur



nicht finden können, aufser der einzigen in »Benedict, Analyse der Fette und Wachsarten<sup>1)</sup>«, welcher Autor schrieb<sup>2)</sup>: »Doch scheint es auch Fette zu geben, in welchen sich gemischte Ester des Glycerins vorfinden, wie dies Bell namentlich für die Butter wahrscheinlich gemacht hat, in welcher er ein Oleopalmitobutyrat von der Zusammensetzung



annimmt, und weiter<sup>3)</sup>: »Nach Bell enthält die Butter wahrscheinlich gemischte Ester des Glycerins, was schon deshalb wahrscheinlich ist, weil Triacetin<sup>4)</sup> in Wasser löslich ist. Extrahiert man Butterfett mit heissem Alkohol, so geht ein Fett (2—3% vom Gewicht der Butter) in Lösung, welches bei 15,5° C. schmilzt und 13—14% lösliche neben 79—80% unlöslichen Fettsäuren enthält. Mischt man der Butter hingegen Tributyrin zu, so löst sich dasselbe vollständig mit Alkohol extrahieren. Der niedrige Schmelzpunkt des extrahierten Fettes rührt nicht von einem höheren Ölsäuregehalt her, indem die Fettsäuren desselben höher als die Butterfettsäuren schmelzen. Daher ist wahrscheinlich ein Oleopalmitobutyrat vorhanden. In Übereinstimmung damit haben Blyth und Robertson<sup>5)</sup> aus der Butter ein krystallinisches Glycerid von der Formel



abgeschieden.«

Rein spekulativ hätte man vielleicht darauf kommen müssen, dafs wahrscheinlich alle Fette mehr oder weniger aus gemischten Glyceriden bestehen. Denn man kann doch kaum annehmen, dafs bei der Bildung von Neutralfetten, sei es aus Eiweifs, sei es aus Kohlehydraten, immer nur gerade soviel der einzelnen

1) III. Auflage, herausgegeben von Ferd. Ulzer. Berlin, 1897. Springer.

2) a. a. O., S. 43.

3) a. a. O., S. 544 u. 545.

4) Soll wohl heifsen: Tributyrin.

5) Vergl. Chemiker-Zeitung, 1889, 13, S. 128.

Fettsäuren und des Glycerins entsteht, als notwendig ist, normale einfache Glyceride zu bilden.

Wenn trotzdem immer als bewiesen angesehen wurde, daß nur einfache Triglyceride in den tierischen Fetten<sup>1)</sup> vorkommen, so liegt der Grund hierfür hauptsächlich wohl darin, daß durch die Untersuchungen Berthelots<sup>2)</sup> über die Fette dargethan worden war, daß einfache Triglyceride synthetisch darstellbar sind, und daß dieselben Eigenschaften besitzen, welche mit denjenigen der aus tierischen und pflanzlichen Fetten isolierten Triglyceride, bzw. der Körper, welche man für einfache Triglyceride ansah, übereinstimmen.

Allerdings gab es Beobachtungen, die den Verdacht erwecken konnten, daß bezüglich des Vorkommens nur von einfachen Triglyceriden in Neutralfetten unser Wissen noch lückenhaft sei. Zunächst die Beobachtung von Heintz, daß reines Tristearin aus tierischen Fetten nicht zu gewinnen war.

Heintz<sup>3)</sup> schrieb wörtlich: »Als ich meine Arbeiten über die tierischen Fette begann, hatte ich gehofft, durch Umkrystallisieren derselben aus der ätherischen Lösung endlich chemisch reine Fette abzuschneiden, wie man nach Lecanu aus dem Hammelfett nach dieser Methode reines Stearin erhalten sollte. Allein diese Hoffnung mußte ich bald aufgeben, ich mußte mich sogar überzeugen, daß das nach Lecanus Methode gewonnene Stearin immer noch nicht rein ist. Denn wenn es verseift wird, so liefert es nach Zersetzung der entstandenen Seife durch Kochen mit verdünnter Salzsäure eine Säure, deren Schmelzpunkt weit unter dem der Stearinsäure liegt. Später hat auch Patric Duffy nachgewiesen, daß das nach Lecanus Methode gewonnene Stearin, dessen Schmelzpunkt um 62° liegt, durch sehr oft wiederholtes Umkrystallisieren aus sehr viel Äther in einen Stoff von viel höherem Schmelzpunkt übergeführt werden kann. Das bei 62° C. schmelzende Stearin liefert bei der Verseifung

1) In einigen Pflanzenfetten hat man bekanntlich auch Diglyceride nachgewiesen.

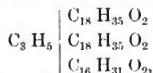
2) Journal de Pharmac. T. XXIV.

3) Heintz, Über die Fette. Journal f. prakt. Chemie, 1855, Bd III, S. 49.

eine Säure, deren Schmelzpunkt bei 64° liegt. Ebensowenig gelang es mir, aus dem Menschenfett ein reines Fett zu erhalten.«

Der von Heintz genannte Patric Duffy<sup>1)</sup> hat das Stearin genau untersucht. Erhalten hat er es, wie schon erwähnt, durch wiederholtes Umkrystallisieren von Hammeltalg aus Äther in der Weise, daß bei den ersten 5—6 Krystallisationen das 10—15fache, bei den folgenden das hundertfache Quantum des Äthers angewandt wurde. Nach fünfmaligem Umkrystallisieren zeigte das Produkt den Schmelzpunkt 61,3°, nach 17maligem den von 63°, nach 32maligem denjenigen von 64°. Die Ausbeute betrug schliesslich pro Kilogramm Hammeltalg 2 g Stearin (Tristearin).

Bei seinen Versuchen über die Resorption verschiedener Fette aus dem Darmkanale hat L. Arnschink<sup>2)</sup> sich eines Tristearins bedient, das durch Umkrystallisieren aus Hammeltalg erhalten war und dessen Schmelzpunkt er zu 59,7° C. gefunden hatte. Dasselbe bestand zu 94,96% aus Fettsäuren und 5,04% aus Glycerin (vergl. die Fufsnote a. a. O. S. 437). Nun ergibt aber die einfache Rechnung, daß Tristearin 95,73% Stearinsäure enthält. Eine Verbindung von der Formel



Distearopalmitin, würde immer noch 95,59% Fettsäuren enthalten. Daher ist ohne weiteres klar, daß Arnschink kein reines Tristearin unter den Händen gehabt hat; sein Tristearin war entweder ein gemischtes Triglycerid oder ein Gemisch von Tristearin und Tripalmitin. Also auch ihm ist es nicht geglückt, durch Umkrystallisieren tierischen Fettes reines Tristearin zu gewinnen.

Eine weitere, höchst auffällige Erscheinung ist die, daß viele Beobachter den Schmelzpunkt des anscheinend reinen Tristearins aus Tierfett verschieden angegeben haben. Arnschink hat denselben zu 59,7° angegeben und bemerkt in der Fufsnote<sup>3)</sup>:

1) Quart. Journ. of the Chem. Soc. Vol. V, p. 197.

2) Zeitschrift f. Biologie, 1890, Bd. 26, S. 437.

3) a. a. O., S. 437.

»Gewöhnlich wird als Schmelzpunkt des Stearins  $63^{\circ}$  angegeben.« Patric Duffy gab ihn zu  $64^{\circ}$  an.<sup>1)</sup> Aber ganz besonders auffällig ist die von Heintz<sup>2)</sup> bestätigte Angabe Patric Duffys, daß das Tristearin zwei Schmelzpunkte besitzt, nämlich bei  $55^{\circ}$  C. und  $71^{\circ}$  C. Über diese höchst merkwürdige Beobachtung äußerte sich Heintz folgendermaßen:

»Bei der Untersuchung des bei  $62^{\circ}$  C. schmelzenden Stearins beobachtete ich eine Erscheinung, die bis dahin nicht bekannt war. Wenn man es nämlich in ein Kapillarrohr einschließt, so wird es schon bei  $51^{\circ}$  bis  $52^{\circ}$  vollkommen durchsichtig, trübt sich aber wieder bei Steigung der Temperatur und wird endlich nochmals durchsichtig. Ich glaubte damals, das erste Durchsichtigwerden sei mit keinem wahren Schmelzen verbunden, weil, wenn man ein dünnes Blättchen des Stearins in Wasser taucht, dessen Temperatur einige und  $50^{\circ}$  C. beträgt, zwar ein Durchsichtigwerden beobachtet wird, aber die Masse nicht in einen Tropfen zusammenfließt. Später hat Patric Duffy diese Erscheinung ebenfalls beobachtet und zugleich behauptet, daß bei der Temperatur von einigen 50 Graden doch eine wahre Schmelzung des Stearins stattfindet. Ich habe mich neuerdings davon überzeugt, daß dieses in der That richtig ist, und daß ein Stearinblättchen, wenn es nur hinreichend dünn ist, wirklich in Wasser von  $52^{\circ}$  C. flüssig wird. P. Duffy erklärt diese Erscheinung für die Folge der Bildung verschiedener isomerer Modifikationen des Stearins. Allein, da man bis dahin noch nicht chemisch reines Stearin dargestellt hatte, so konnte sie auch eben durch die Gemischtheit veranlaßt sein, und es entsteht daher gerecht die Frage, ob auch chemisch reines Stearin diese Erscheinung zeigt.

Da man aus tierischen Fetten das Stearin nicht in reinem Zustande gewinnen kann, so benutzte ich die Methode von Berthelot, es aus der reinen Stearinsäure und Glycerin wieder zusammenzusetzen. Ich erhielt in der That ein Stearin, das bei seiner Verseifung in Glycerin und vollkommen reine Stearinsäure zerfiel, und es gelang mir nun nachzuweisen, daß auch dieses

1) a. a. O.

2) a. a. O., S. 50.

chemisch reine Stearin zwei Schmelzpunkte besitzt, wovon der eine bei  $55^{\circ}$  C., der andere bei  $71,6^{\circ}$  C. liegt. Es ist daher auch die Ansicht von P. Duffy als richtig zu betrachten, dafs nämlich das Stearin durch eine bestimmte Temperatur in eine andere isomere Modifikation übergehe, die sich durch einen höheren Schmelzpunkt ( $71,6^{\circ}$ ) auszeichnet und die entsteht, wenn das Stearin längere Zeit, bis etwa  $60^{\circ}$  C., erhitzt wird. Diese Modifikation geht aber durch Erhitzung über  $71,6^{\circ}$  C. in die bei  $55^{\circ}$  C. schmelzende über.\*

Welche Modifikationen mit so verschiedenen Schmelzpunkten entstehen sollten, ist jedoch nicht dargelegt, ist auch schwer zu erklären, da das Tristearin ein normaler Ester ist und bei der Verseifung in Glycerin und dieselbe Stearinsäure zerfällt, welche zur Darstellung desselben gedient hat.

Die Merkwürdigkeit, dafs ein scheinbar chemisch reiner Körper, wie das Tristearin, zwei Schmelzpunkte besitzt, war mit der Annahme der Bildung verschiedener Modifikationen ganz sicher auch nicht erklärt; aber man konnte sie nunmehr wenigstens ganz beruhigt im Buche der Wissenschaft buchen.

Herr Professor Dr. Pfeiffer hat mir gesprächsweise seine Bedenken hinsichtlich der Berechtigung dieser Annahme von Duffy-Heintz mitgeteilt und gemeint, dafs die Erscheinung eines doppelten Schmelzpunktes des Tristearins — und auch des Tripalmitins<sup>1)</sup> — sich wohl noch anders deuten lasse als durch die Hypothese von der Bildung verschiedener Modifikationen, nämlich durch die Umbildung gemischter Triglyceride in Mischungen einfacher normaler Glyceride. Er hat mich dadurch veranlaßt, zu untersuchen, ob in den tierischen Fetten überhaupt einfache normale Glyceride oder gemischte vorkommen.

Das Ergebnis der Untersuchung, die unter Leitung des Herrn Professors Dr. Pfeiffer im Hygienischen Institut zu Rostock ausgeführt wurde, teile ich in nachstehendem mit. Es bestätigt die Richtigkeit der Bedenken und thut das Vorkommen von gemischten Triglyceriden im Tierfett, wenigstens für Hammel- und Rindertalg, dar.

1) Vergl. später S. 14.

## II.

Als Ausgangsmaterial zur Darstellung reinen Tristearins benutzte ich teils Hammel-, teils Rindertalg, welche zunächst durch Auspressen mit einer gewöhnlichen Fruchtresse unter Beobachtung der von Soxhlet für die Herstellung von Fleischsaft angegebenen Regeln — dünne Prefskuchen und Zwischenlagerung von Drahtnetzen zwischen die einzelnen Prefsportionen — von der Hauptmasse der bei gewöhnlicher Temperatur flüssigen Glyceride befreit wurden. Dieses Auspressen geht recht gut von statten, wenn man zuerst die Presse sehr langsam anzieht, andernfalls preßt man den Talg in feinen Schnüren durch die Poren der Prefstücher hindurch. Die ausgeprefsten flüssigen Glyceride erstarrten bei geringer Temperaturniedrigung zu einer butterartigen Masse, der Prefsrückstand — fest und weiß — wurde in Form dünner, harter Scheiben erhalten, die bei  $51^{\circ}$  C. schmolzen, während der ursprüngliche Hammeltalg bei  $48^{\circ}$  C., der Rindertalg bei  $42^{\circ}$  C. schmolz.<sup>1)</sup>

Der in Stücke zerbrochene Prefsrückstand wurde alsdann mit 95% Alkohol gekocht, die erkaltete alkoholische Lösung, aus der große Mengen Fett sich krystallinisch abgeschieden hatten, abfiltriert und der Destillation unterworfen. Ich erhielt aus derselben noch große Quantitäten leicht schmelzbaren Fettes. Nach zweimaliger Wiederholung dieses Verfahrens blieben im erkalteten Alkohol nur noch geringe Portionen Fett gelöst. Der krystallinische Filtrerrückstand besaß einen Schmelzpunkt von  $51,5^{\circ}$  C. Durch öfter wiederholtes Umkrystallisieren desselben aus siedendem Alkohol gelang es nicht, ein höher schmelzendes Fett zu isolieren. Leicht gelang das hingegen bei Verwendung

1) Die Schmelzpunktbestimmung wurde in einem möglichst engen Kapillarrohr vorgenommen, das an das Quecksilbergefäß des Thermometers angebunden wurde. Das Thermometer mit der Kapillare tauchte entweder in Wasser oder Schwefelsäure, die in einem weiten Reagenzglas verwahrt wurden. Letzteres tauchte in ein mit viel Wasser gefülltes Becherglas oder Rundkölbchen ein.

von Ather in größerer Menge als Lösungsmittel, namentlich wenn die auskrystallisierten Fette durch Absaugen auf einer Filterplatte rasch vom Äther befreit wurden. Bei der ersten Ätherkrystallisation erhielt ich eine schuppige Krystallmasse vom Schmelzpunkt  $55^{\circ}$  C. Das in Ather gelöst verbliebene und daraus durch Verdampfen des Äthers erhaltliche Fett war vom Schmelzpunkt  $32^{\circ}$  C. Das bei  $55^{\circ}$  schmelzende Fett, nach Leffmann-Bean verseift, lieferte nach Zerlegung der Seife mit verdünnter Salzsäure Fettsäuren, welche bei  $54^{\circ}$  C., nach Umkrystallisieren aus Alkohol bei  $63,5^{\circ}$  C. schmolzen, also ein Gemisch verschiedener, jedenfalls mindestens zweier Fettsäuren waren. Wiederholtes Umkrystallisieren des bei  $55^{\circ}$  schmelzenden Fettes aus Äther brachte zunächst kein höher schmelzendes Produkt. Wurde das Fett aber aus viel Äther bei Zimmertemperatur umkrystallisiert, so resultierte anfangs ein Fett vom Schmelzpunkt  $58,5^{\circ}$  C. (der Äther enthielt ein solches vom Schmelzpunkt  $42^{\circ}$ ) und schliesslich ein solches vom Schmelzpunkt  $62,5^{\circ}$  (Schmelzpunkt des in Äther gelösten Teiles  $52^{\circ}$ ), das bei noch so häufigem Umkrystallisieren immer wieder diesen Schmelzpunkt  $62,5^{\circ}$  C. zeigte. Nunmehr zeigte auch der in Ather gelöste Anteil konstant diesen Schmelzpunkt, offenbar lag ein einheitlicher Körper, nicht mehr ein Gemisch von Triglyceriden, vor. Eine Probe des in schönen glänzenden Blättchen krystallisierenden Fettkörpers besaß die Verseifungszahl (Köttsdorfer) 195,65.<sup>1)</sup> Reines Tristearin hat als Verseifungszahl 188,8. Sonach kann mein bei  $62,5^{\circ}$  C. schmelzender Fettkörper kein reines Tristearin gewesen sein. Nahm man an, daß er ein gemischter Glycerinester der Palmitin- und Stearinsäure war, so konnte er entweder 1 Molekül Palmitinsäure auf 2 Moleküle Stearinsäure oder 2 Moleküle Palmitinsäure auf 1 Molekül Stearinsäure enthalten, entweder ein Distearopalmitin oder ein Dipalmitostearin sein. Ersteres erfordert eine Verseifungszahl von 194,9, letzteres eine solche von 201,4.

1) 0,222 g verbrauchten bei der Verseifung 1,55 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 43,4 mg KOH; 0,4275 g 2,99 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 83,72 mg KOH. Die Verseifungszahl ist demnach 195,5 und 195,8, im Mittel 195,65.

Stellt man diese Zahlen in einer Reihe zusammen, so sieht man sofort, daß mein Fettkörper nur ein Distearopalmitin sein konnte. Denn es beträgt die Verseifungszahl für

Tristearin	Distearopalmitin	Dipalmitostearin
188,8	194,9	201,4

das von mir hergestellte Präparat

195,65.

Ölsäure enthielt das Präparat nicht, wie die (v. Hüblsche) Jodadditionsbestimmung ergab. Würde es ein Gemisch von Tristearin und Tripalmitin gewesen sein, so müßte sich beim Umkrystallisieren aus Äther das Mischungsverhältnis haben ändern lassen, was, wie oben mitgeteilt, aber nicht der Fall war.

Die aus dem Präparat isolierten Fettsäuren schmolzen bei 64°. Dieser Schmelzpunkt ist nach Heintz<sup>1)</sup> möglich für ein Gemisch von Palmitinsäure und Stearinsäure im Verhältnis von 70—80 Teilen letzterer und 20—30 Teilen ersterer. Distearopalmitin enthält die beiden Fettsäuren gemischt im Verhältnis von 67,7 Teilen Stearinsäure auf 32,3 Teile Palmitinsäure; also auch der Schmelzpunkt der Fettsäuren von 64° paßt gut auf ein Distearopalmitin.

Auch aus dem Rindstalg gelang es neben den noch zu beschreibenden Körpern dieses Distearopalmitin herzustellen, nicht aber Tristearin. Ich glaube daher, daß im Hammel- und Rindertalg, oder — um mich vorsichtiger auszudrücken — in den von mir untersuchten Proben Tristearin nicht vorhanden war.

Ich sage: »von mir untersuchten Proben Tristearin nicht vorhanden war,« denn es könnte recht wohl gelegentlich auch Tristearin im Hammeltalg gefunden werden, namentlich wenn andere Methoden der Darstellung des Tristearins, z. B. ein anderes Lösungsmittel statt Alkohol und Äther, zur Anwendung kommen würden oder aber der Talg vorher stark erwärmt würde. Ich habe nämlich folgende Beobachtung gemacht: Als das bei 62,5° C. schmelzende, nunmehr als Distearopalmitin bezeichnete Fett aus Äther ohne Veränderung nicht mehr umzukrystallisieren war, versuchte

1) Vergl. a. a. O., S. 12, Tabelle.



ich auf Rat von Prof. Pfeiffer nacheinander aus Chloroform, Benzol und schliesslich aus Amylalkohol, jeweils bei Siedehitze, umzukrystallisieren. Die Krystallisationen aus Benzol und Chloroform schmolzen wieder bei  $62,5^{\circ}\text{C.}$ , die aus Amylalkohol aber bei  $66,8^{\circ}$ . Dieser letztere Schmelzpunkt blieb nun konstant bei jeder wiederholten Krystallisation aus Amylalkohol. Von dem anhängenden Amylalkohol durch Waschen mit Alkohol und Äther befreit, bildete das so erhaltene Fett prachttvoll glänzende Schuppen, ähnlich denen der reinen Stearinsäure, die daraus durch Verseifung des Fettes und Zerlegung der Seife auch sofort in vollkommener Reinheit (Schmelzpunkt  $69,2^{\circ}$ ) gewonnen wurde. Die Verseifungszahl des Fettes war  $191,0^1$ ). Reines Tristearin erfordert die Verseifungszahl  $188,8$ . Die Übereinstimmung beider Werte ist genügend groß und ich halte mich daher für berechtigt, das beschriebene Fett für wirklich reines Tristearin anzusprechen. Dieses Tristearin kann aber offenbar nur so entstanden gedacht werden, dass sich bei der Siedehitze des Amylalkohols ( $138^{\circ}$ ) das Distearopalmitin umgelagert hat in Tristearin und Tripalmitin. Selbstverständlich könnte eine solche Umlagerung auch vor sich gehen bei stärkerer Erhitzung des Distearopalmitins für sich ohne Lösungsmittel und damit würde die Beobachtung eines doppelten Schmelzpunktes von Duffy-Heintz eine sehr einfache Erklärung finden. Zuerst würde das Distearopalmitin (oder vielleicht ein Dipalmitostearin) als solches schmelzen, dann sich umlagern unter Bildung des schwerer schmelzbaren Tristearins, das bei dieser Temperatur ( $55^{\circ}$ ) noch auskrystallisieren könnte, um neuerdings bei höherer Temperatur ( $71,6^{\circ}$ ) wieder zu schmelzen. Die höhere Schmelztemperatur von Duffy-Heintz kann sehr wohl die Endtemperatur des Schmelzens sein, die man bei Fettgemischen immer höher findet als die Anfangstemperatur.

Diese Erklärung involviert allerdings einen Zweifel an der Behauptung dieser Autoren, dass sie reines Tristearin in Händen gehabt haben.

1)  $0,9589\text{ g}$  verbrauchten bei der Verseifung  $6,53\text{ ccm}$   $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge =  $182,84\text{ mg KOH}$ ;  $0,9588\text{ g}$   $6,56\text{ ccm}$   $\frac{1}{2}$  Normal-KOH =  $183,68\text{ mg KOH}$ . Die Verseifungszahl ist demnach  $190,6$  und  $191,5$ , im Mittel  $191,0$ .

Aber diesen Zweifel lassen auch die Analysenangaben von Heintz selbst zu. Er fand 100 Teile seines synthetischen Tristearins aus 95,50 Teilen Stearinsäure bestehend, während es nach der Berechnung aus 95,73 Teilen Stearinsäure bestehen sollte.<sup>1)</sup> Der Gehalt des Distearopalmitins mit 95,59 Teilen Stearinsäure in 100 Teilen kommt an den von Heintz für sein reines Tristearin ermittelten (95,50) jedenfalls noch näher heran als an den für das reine Tristearin berechneten.

An meinem reinen Tristearin konnte ich nie einen doppelten Schmelzpunkt beobachten. Versuche, solches auf anderem als dem von Berthelot empfohlenen Wege synthetisch darzustellen, mißlangen und leider war die Menge des gewonnenen Distearopalmitins schließlichs auch so zusammengeschmolzen, dafs ich darauf verzichten mußte, die Frage der Richtigkeit des doppelten Schmelzpunktes des Tristearins endgültig zu lösen. Dieselbe wird jedoch nach Mitteilung des Herrn Professors Dr. Pfeiffer jetzt im Hygienischen Institut zu lösen versucht.

Nachdem mir gelungen war, ein erstes gemischtes Glycerid der Stearin- und Palmitinsäure darzustellen, wuchs natürlich meine Hoffnung, noch mehrere derselben zu gewinnen und in der That gelang es mir nach einander ein Dipalmitostearin, ein Dipalmitolein und ein Stearopalmitolein nebst reinem Tripalmitin zu isolieren. Verwendet wurden hierzu die Anteile des Hammeltalgs, welche bei der Reinigung des Distearopalmitins jeweils in Äther gelöst geblieben waren und welche, nunmehr wieder vereinigt, so lange wieder aus Äther umkrystallisiert wurden, bis Körper mit konstantem Schmelzpunkt resultierten, bei deren Umkrystallisation aus Äther der im Äther zurückbleibende Anteil den gleichen Schmelzpunkt wie die krystallinische Ausscheidung aufwies.

Das Dipalmitostearin, ebenfalls in seidenglänzenden Schüppchen krystallisierend, schmolz bei 55°. Es besafs die Verseifungszahl 200,2<sup>2)</sup> und addierte zum Beweis der Abwesenheit von

1) Vergl. a. a. O., S. 51.

2) 0,2108 g verbrauchten zur Verseifung 1,51 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 42,28 mg KOH; 0,2872 g verbrauchten 2,05 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 57,40 mg KOH. Die Verseifungszahl ist hiernach 200,6 und 199,9, im Mittel 200,2 g.

Ölsäure kein Jod. Theoretisch berechnet sich die Verseifungszahl des Dipalmitostearins zu 201,4. Die Übereinstimmung des berechneten und gefundenen Wertes ist eine genügend gute.

Zur Darstellung der niedriger schmelzenden, ölsäurehaltigen gemischten Glyceride wurden, um zu verhüten, dafs beim Ausschmelzen der tierischen Fettgewebe, hauptsächlich Rinderfett, Umlagerungen stattfänden, zuerst ätherische Extrakte der Fette aus dem lufttrockenen Fettgewebe dargestellt, aus denen dann nach Entfernung der schwerer schmelzenden Anteile durch Krystallisieren bei Zimmertemperatur die leichter löslichen und schmelzbaren ölsäurehaltigen Glyceride bei starker Abkühlung auskrystallisierten. Sie wurden sehr bald mit konstantem Schmelzpunkt erhalten. Es waren ihrer zwei, ein Dipalmitoolein und ein Stearopalmitoolein. Ersteres nicht mehr so schön krystallisierend zu erhalten wie das Distearopalmitin und Dipalmitostearin, schmolz bei  $48^{\circ}$ , besafs eine Verseifungszahl<sup>1)</sup> von 202,7 und addierte 30,18 % Jod<sup>2)</sup>, entsprechend einem Ölsäure-Gehalt von 33,5 %. Der Vergleich der gefundenen und für Dipalmitoolein berechneten Werte ergibt gute Übereinstimmung.

	berechnet	gefunden
Verseifungszahl . . .	201,9	202,7
Jodaddition in % . . .	30,53	30,18
Ölsäuregehalt in % . . .	33,89	33,50.

Das fast talgartige Stearopalmitoolein schmolz bereits bei  $42^{\circ}$ , addierte 29,31 % Jod<sup>3)</sup> und zeigte eine Verseifungszahl von 195,0<sup>4)</sup>.

1) 0,1558 g verbrauchten zur Verseifung 1,13 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 31,64 mg KOH; 0,2228 g verbrauchten 1,61 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 45,08 mg KOH. Die Verseifungszahl ist demnach 203,1 und 202,3, im Mittel 202,7 g.

2) 0,5994 g addierten 182,4 mg Jod = 30,43 %, 0,5203 g addierten 155,8 mg Jod = 29,94 %. Mittel: 30,18 %.

3) 0,5722 g und 0,5703 g addierten je 168,74 mg Jod = 29,14 und 29,59, im Mittel 29,31 %.

4) 0,2545 g verbrauchten zur Verseifung 1,78 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 49,84 mg KOH; 0,2302 g verbrauchten 1,61 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 45,08 mg KOH. Die Verseifungszahl ist hiernach 194,3 und 195,8, im Mittel 195,0.

Nachstehend die Gegenüberstellung der gefundenen und für Stearopalmitoolein berechneten Werte:

	berechnet	gefunden
Verseifungszahl . . .	195,3	195,0
Jodaddition in % . . .	29,53	29,31
Ölsäuregehalt in % . . .	32,78	32,53.

Interessant ist, daß das Dipalmitoolein einen höheren Schmelzpunkt (48°) besitzt als das Stearopalmitoolein (42°). Es erinnert dies an die von Heintz<sup>1)</sup> ermittelte Thatsache, daß Gemische von Fettsäuren stets niedrigere Schmelzpunkte besitzen als ihre Komponenten. Vermutlich gilt diese Eigentümlichkeit auch für Mischungen von Triglyceriden und für gemischte Triglyceride.

Ich wende mich schliesslich noch zur Beschreibung eines ebenfalls durch Umkrystallisieren aus Tierfett erhaltenen reinen Tripalmitins. Ich erhielt dasselbe zuerst aus Palmöl, später aber auch aus Hammeltalg und Rindertalg, bin mir aber nicht sicher, ob dasselbe nicht erst durch Umlagerung aus einem oder zwei gemischten Triglyceriden entstanden ist. Bei dem vielfachen Umkrystallisieren aus Alkohol und Äther mit wiederholter Verjagung des Überschusses des Lösungsmittels auf dem Wasserbade kann es sehr wohl erst entstanden sein. Es krystallisierte in rundlichen Körnchen (in letzterer Form namentlich das aus Palmöl gewonnene), schmolz bei 52° und besaß eine Verseifungszahl<sup>2)</sup> von 207,6; Jod addierte es nicht. Für reines Tripalmitin berechnet sich die Verseifungszahl zu 208,4.

Bei der Verseifung und Zerlegung der gebildeten Seife lieferte das Tripalmitin eine Säure, die bei 62° schmolz und auch beim Umkrystallisieren aus Alkohol diesen Schmelzpunkt behielt. In den Lehrbüchern<sup>3)</sup> wird dem Tripalmitin ebenfalls ein doppelter

1) Vergl. a. a. O., S. 7 u. ff.

2) 0,2517 g verbrauchten zur Verseifung 1,87 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 52,36 KOH; 0,3406 g verbrauchten 2,52 ccm  $\frac{1}{2}$  Normal-Kalilauge = 70,56 mg KOH. Die Verseifungszahl ist somit 208,0 und 207,2, im Mittel 207,6.

3) Vergl. Benedict, S. 44.

Schmelzpunkt zugesprochen, nämlich  $50,5^{\circ}$  C. und  $66,5^{\circ}$  C. Bezüglich dieses doppelten Schmelzpunktes des Tripalmitins gilt natürlich das Gleiche, was ich bezüglich desjenigen des Tristearins gesagt habe.

### III.

Fasse ich das Ergebnis der obigen Untersuchungen zusammen, so kann ich wohl behaupten, daß es mir gelungen ist, den Nachweis zu erbringen, daß in tierischen Fetten gemischte Triglyceride vorkommen, daß es hingegen nicht wahrscheinlich erscheint, daß reines Tristearin in der Regel in denselben vorhanden ist, daß letzteres vielmehr, wo es aus tierischen Fetten gewonnen wird, ein Kunstprodukt ist, entstanden durch Umlagerung gemischter Triglyceride. Hinsichtlich des Vorkommens von reinem Tripalmitin muß ich die Entscheidung noch offen lassen.

Daß die von mir erörterten gemischten Triglyceride auch wirklich solche sind, ist durch die von mir mitgeteilten Verseifungs- bzw. Jodadditionszahlen wohl über allen Zweifel gestellt. Wären die beschriebenen Körper nur Mischungen gewesen, so müsste durch das immer wiederholte Umkrystallisieren aus den verschiedensten Lösungsmitteln und mit den verschiedensten Mengen derselben sicher eine Entmischung derselben möglich gewesen sein und hätte dann ihr Schmelzpunkt auch nicht konstant bleiben können.

Man könnte darüber im Zweifel sein, ob meine gemischten Triglyceride nicht erst recht Kunstprodukte seien. Wären sie das aber, so wäre meine Arbeit erst recht nicht überflüssig, indem sie darzuthun vermöchte, wie leicht die Neutralfette Umbildungen fähig seien. Man müßte dann aber auch für den lebenden Körper diese Fähigkeit der Umbildung zugeben.

Schließlich möchte ich das Resultat obiger Untersuchungen noch in einer Übersichtstabelle wiedergeben:

Tabelle der im tierischen Fette möglichen, von mir darin gefundenen bzw. aus denselben dargestellten Triglyceride der Stearin-, Palmitin- und Ölsäure.

	Formel	Molekular- gewicht	Schmelz- punkt	Verseifungszahl		Ölsäuregehalt	
				be- rechnet	ge- funden	be- rechnet	ge- funden
Tristearin	$C_3 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \end{matrix}$	890	66,8°	188,8	191	—	—
Distearo- palmitin	$C_2 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \end{matrix}$	862	62,5°	194,9	195,6	—	—
Dipalmito- stearin	$C_2 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \end{matrix}$	834	55°	201,4	200,2	—	—
Tripalmitin	$C_3 H_5 \begin{matrix} C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \end{matrix}$	806	52°	208,4	207,6	—	—
Distearo- olein	$C_3 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \end{matrix}$	838	unbekannt	189,2	unbekannt	31,76	unbekannt
Dipalmito- olein	$C_3 H_5 \begin{matrix} C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \end{matrix}$	832	48°	201,9	202,7	33,89	33,50
Dioleo- stearin	$C_2 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \end{matrix}$	886	unbekannt	189,6	unbekannt	63,66	unbekannt
Dioleo- palmitin	$C_2 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \end{matrix}$	858	unbekannt	195,8	unbekannt	65,73	unbekannt
Stearo- palmito- olein	$C_2 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{16} H_{31} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \end{matrix}$	860	42°	195,3	195,0	32,78	32,53
Triolein	$C_3 H_5 \begin{matrix} C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \\ C_{18} H_{35} O_2 \end{matrix}$	884	unbekannt	190,0	unbekannt	95,70	unbekannt

# Beiträge zur Kenntnis der quantitativen Zersetzung des Milchzuckers durch den *Bacillus acidi lactici*.

Von

**Dr. Paul Haacke**

aus Schwerin (Meckl.)

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Rostock.)

Nachdem durch die Untersuchungen von Burchard<sup>1)</sup> über den Ablauf und die Größe der durch den *Micrococcus ureae liquefaciens* bewirkten Harnstoffzersetzung dargethan ist, welche außerordentlichen Stoffzersetzen in der Bakterienzelle stattfinden können, erschien es wünschenswert, zu erfahren, welcher Kraftwechsel diesen Stoffzersetzen entspricht.

Ich habe es auf Veranlassung des Herrn Professors Pfeiffer unternommen wollen, Versuche nach dieser Richtung hin auszuführen. Der *Micrococcus ureae liquefaciens* erschien für diese Versuche nicht recht geeignet; denn, wenn auch durch die Untersuchungen von Rubner die Verbrennungs- und Lösungswärme des Harnstoffs genau bekannt ist, so schienen doch die Werte für das bei der Spaltung des Harnstoffs entstehende Ammoniumkarbonat nicht genau genug ermittelt zu sein. Sie genau zu ermitteln, war mir bei dem Mangel eines Kalorimeters nicht möglich, ganz abgesehen davon, dafs es durchaus nicht sicher feststeht, ob überhaupt bei der Zersetzung des Harnstoffs nur Ammoniumkarbonat und nicht auch Karbamat gebildet wird.

Hingegen erschien es verhältnismäfsig leicht, die Frage nach dem Kraftwechsel in den Bakterienzellen durch Untersuchungen

1) Burchard, Archiv f. Hygiene, 1899, Bd. 36, S. 264.

über die Zersetzung des Milchzuckers durch Milchsäurebakterien zu lösen, da die in Betracht kommenden kalorischen Werte des Milchzuckers und der Milchsäure genau bekannt sind und angenommen werden durfte, dafs im wesentlichen aus einem Molekül Milchzucker vier Moleküle Milchsäure gebildet werden.

Leider hat sich jedoch im Verlauf der Untersuchungen herausgestellt, dafs der von mir zu den Versuchen benutzte Milchsäurebildner lange nicht so viel Säure aus dem Milchzucker abspaltete, als erwartet werden konnte. Ja, es erschien mir sogar aus einigen Versuchsergebnissen hervorzugehen, dafs der betreffenden Mikroorganismus die gebildete Milchsäure weiter zerstörte, und ich mußte mich deshalb entschliessen, auf die Lösung der oben erwähnten Frage zu verzichten, um so mehr, als sich ergab, dafs neben Milchsäure ganz erhebliche Mengen von Kohlensäure, Essigsäure und Alkohol gebildet wurden, und eine genaue quantitative Bestimmung dieser Stoffwechselprodukte zu grofse Schwierigkeiten verursachte.

Ich habe mich daher darauf beschränkt, nur die quantitative Zersetzung des Milchzuckers zu verfolgen, hoffe aber durch meine Untersuchungen einen weiteren Beitrag zur Kenntnis der quantitativen Stoffzerlegung in der Bakterienzelle zu geben.

Was die bisherigen Kenntnisse über die Zersetzung des Milchzuckers, bezw. der Zuckerarten überhaupt, durch Milchsäurebakterien anlangt, so beziehen sich dieselben wesentlich auf die qualitative Feststellung der Bildung von Milchsäure allgemein und der verschiedenen stereoisomeren Formen derselben im einzelnen.

Als Erster hat jedenfalls Pasteur<sup>1)</sup> die Beobachtung gemacht, dafs die Milchsäuregärung der Milch durch Mikroorganismen hervorgerufen wird. Seitdem ist es der fortschreitenden Wissenschaft im Laufe der Jahre gelungen, eine grofse Anzahl von Bakterien aufzufinden, die aus Milchzucker, Traubenzucker

1) Pasteur, *Annal. de Chimie et de Physique*, (3), 52. — *Compt. rend. de l'Académie des sciences*, 52.



und anderen Zuckerarten Milchsäure bilden. Hueppe<sup>1)</sup> bezeichnete den von ihm nachgewiesenen und genauer studierten *Bacillus acidi lactici* als den speziellen bzw. Haupt-Erreger der Milchsäuregärung. Lange Zeit hat diese Ansicht Hueppes ohne Widerspruch bestanden, bis später Milchsäurebakterien aufgefunden wurden, welche dem Hueppeschen *Bacillus* den Rang streitig machten. Aber nicht nur bei solchen echten Milchsäurebakterien, sondern auch bei den verschiedensten anderen Spaltpilzen wurde später die Eigenschaft entdeckt, neben anderen Stoffwechselprodukten Milchsäure zu produzieren.

Hieraus ging dann zunächst auch eine Einteilung der Milchsäurebakterien in spezifische und fakultative hervor, bis Weigmann<sup>2)</sup> im Jahre 1899 eine neue Einteilung derselben nach dem Wachstum auf künstlichen Nährböden und dem physiologischen Verhalten (Produktion von Gasen etc.) gab. Sein Schüler Mac Donnell<sup>3)</sup> untersuchte, nachdem schon von verschiedenen Seiten die Vermutung aufgestellt war, daß die verschiedenen als Milchsäurebakterien beschriebenen Bakterien nur Varietäten einiger weniger Arten seien<sup>4)</sup>, eingehend möglichst viele Milchsäurebakterien auf ihre nähere Verwandtschaft. Er kam zu dem Resultate, daß man nur zwei Bakterienarten als Ausgangsformen für die übrigen anzunehmen brauche. Er fand bei seinen Versuchen, daß die Stäbchenbakterien je nach der Kultur auf verschiedenen Nährböden in ihrer äußeren Gestalt stark variierten. Er nahm deshalb keinen Anstand, ovale Coccen in die Klasse des Bacteriums zu stellen, da eine strenge Scheidung oft sehr schwer sei.<sup>5)</sup> Außerdem teilte er die Varietäten (Rassen) nach dem Geschmack ein, den sie beim Wachstum in der Milch derselben erteilten, eine Einteilung, die offenbar mehr den spezifischen Molkereinteressen als denen der Wissenschaft dient. Jedenfalls scheint

1) Hueppe, Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. 2.

2) Weigmann, Versuch einer Einteilung der Milchsäurebakterien des Molkereigewerbes. Centralbl. f. Bakter. u. Parasitenkunde, 1899, II. Abteil., Bd. V, S. 861 u. ff.

3) Mac Donnell, Über Milchsäurebakterien. Dissertation, Kiel, 1899.

4) Vgl. Esten, XII, *Bacillus acidi lact.*, Stans agricultur. Exp. Station.

5) Vgl. Weigmann, (a. a. O.), S. 860; Mac Donnell, S. 30.

mir damit nicht bewiesen zu sein, daß es nicht noch mehr Arten von Milchsäurebakterien gibt, zumal von verschiedenen Forschern festgestellt worden ist, daß verschiedene Bakterienarten verschiedene Milchsäure bilden. Man müßte nach Mac Donnell schon an eine Pleomorphie der Milchsäurebakterien denken, die Flügge<sup>1)</sup> ganz entschieden leugnet.

Auf die Untersuchung der Art der gebildeten Milchsäure, auf welche seit Schardingers Entdeckung in neueren Arbeiten stets Rücksicht genommen ist, scheint Mac Donnell nicht eingegangen zu sein. Purdie und Walter<sup>2)</sup> folgern ja allerdings aus der Thatsache, daß inaktive Milchsäure ein Gemisch von Rechts- und Linksmilchsäure ist, daß eine sonst inaktive Säure produzierender Bacillus unter gewissen Bedingungen nur eine Art Säure (dann optisch aktive) produzieren könne. Es ist dies eine Ansicht, die Kozai<sup>3)</sup> durch seine Versuche zu erhärten sucht, der aber Günther und Thierfelder<sup>4)</sup> sich nicht anschließen können.

Auf die Frage über die Bildung verschiedener Milchsäuren einzugehen, hat für den vorliegenden Zweck keine Bedeutung.

Eine Feststellung der Quantität der von Milchsäurebakterien gebildeten Milchsäure ist nur von Wenigen versucht worden. Aderhold<sup>5)</sup> gibt an, daß bei seinen Versuchen *Bacterium coli* 0,241—0,576% Säure, *Bacterium Güntheri* 0,546—1,287% (auf Milchsäure berechnet) gebildet habe. Conrad<sup>6)</sup> fand, daß durch sein *Bacterium brassicae acidae* pro 100 ccm Kulturflüssigkeit eine 4 ccm  $\frac{1}{1}$ N-Natronlauge entsprechende Menge Säure gebildet wurde (= 0,36% Milchsäure). Aus seinen Angaben hebe ich nachstehende tabellarische Zusammenstellung über die Milchsäureproduktion des von ihm geprüften Milchsäurebildners (*Bact. brass. acid.*) hervor.

1) Vgl. Flügge, Die Mikroorganismen, 1896, Bd. II, S. 80.

2) Purdie und Walter, Chem. Centralblatt, 1892, II, S. 352.

3) Kozai, Zeitschrift f. Hygiene, 1899, Bd. 31, S. 337.

4) Günther und Thierfelder, Hygien. Rundschau, X, Heft 16.

5) Aderhold, Über Einsäuern von Früchten etc., Centralbl. f. Bakt. etc., II, Bd. V, S. 511.

6) Conrad, Sauerkrautgärung. Archiv f. Hygiene, Bd. 29, S. 72.

Zeit	Milchsäure	
	aërob bei 22°	aërob bei 37°
Nach 12 Stunden	0,045 g	0,090 g
Am 1. Tage	0,099 „	0,216 „
„ 3. „	0,225 „	0,477 „
„ 6. „	0,405 „	0,585 „
„ 9. „	0,522 „	0,621 „
„ 12. „	0,576 „	0,639 „
„ 17. „	0,630 „	0,639 „
„ 22. „	0,648 „	0,639 „

Lehmann und Neumann<sup>1)</sup> führen an, daß *Bacillus acidilactici* Hueppe in 5 Tagen in 100 ccm 2% Traubenzuckerbouillon eine 4,6 ccm Normalalkali entsprechende Menge Säure erzeugt. (= 0,41% Milchsäure).

Diese Angaben beziehen sich meist auf die Menge Säure, die am Ende einer bestimmten Versuchsperiode festgestellt wurde; selten ist die Zunahme der Säure (Conrad), nie die Abnahme des säureliefernden Zuckers, sowie die Zahl der hieran beteiligten Bakterien berücksichtigt worden.

Soweit die Angaben aus der mir zugänglich gewesenenen Litteratur über die früheren Versuche zur Ermittlung der Milchsäureproduktion der Milchsäurebildner.

Zur Beschreibung meiner eigenen Versuche übergehend, gebe ich zunächst eine Schilderung der zu den Versuchen verwendeten Bakterienart.

Dieselbe wurde aus Rostocker Marktmilch, in der sie sich regelmäßig und, wie es scheint, vorherrschend findet, mit Hilfe einer durch Lackmus gefärbten Peptonmolkengelatine isoliert. Das Bakterium stellte ein Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden dar. Seine Länge war je nach dem Kulturmedium bis 3  $\mu$ , seine Dicke 0,3—0,5  $\mu$ , Eigenbewegung fehlte ihm.

Auf Gelatineplatten bildete es anfangs kleine runde glattrandige Kolonien ohne Zeichnung, die sich allmählich gleich-

1) Lehmann und Neumann, Kurzes Lehrbuch der Bakteriologie, 1900, Bd. II.

mäßig vergrößerten und nach dreiwöchigem Wachstum über 1 mm im Durchmesser haltende Kugeln darstellten. Die oberflächlichen Kolonien bildeten allmählich ziemlich hohe Kegel. Die Farbe der Kolonien war weiß bis schwach gelblich, ihre Oberfläche saftig glänzend. In Strichkulturen bildete der Bacillus schmale, wellige, schleimige Rasen. Im Gelatinestich fand reichliches Wachstum längs des ganzen Impfstiches statt, an der Oberfläche bildete sich ein Nagelkopf. In Traubenzuckergelatine erfolgte gleiches Wachstum, jedoch unter lebhafter Gasbildung. Eine Verflüssigung der Gelatine wurde niemals beobachtet.

Auf gewöhnlichem Peptonagar war das Wachstum ähnlich und ebenfalls sehr lebhaft, namentlich an der Oberfläche, die vom Rasen oft ganz überzogen wurde. Auf Zuckeragar wuchs der Bacillus unter reichlicher Gasentwicklung.

Kartoffel erwies sich als ein ganz besonders gutes Nährsubstrat. Hier war schon nach 6 Stunden bei 17,5° C. deutlich Wachstum zu unterscheiden. Die anfangs fast weiße Auflageung nahm nach einiger Zeit bräunliche Farbe an und zeigte ein schleimiges, feuchtes Aussehen. Die Oberfläche der Kultur war oft durch Gasblasen kraterförmig zerrissen.

In Traubenzuckerbouillon erfolgte ebenfalls rasches Wachstum. Schon nach 6 Stunden war eine leichte Trübung bemerkbar; nach weiteren 6 Stunden fand sich ein reichlicher Bodensatz. Beim Umschütteln entwichen zahlreiche kleine Gasblasen.

In Milch fand nach drei Tagen bei 37° C. regelmäßige Coagulation statt unter Säuerung, Gasbildung und Abscheidung eines trüben Serums. Die Gasbildung war am lebhaftesten vor der Coagulation. Der Geschmack der Milch war schwach sauer, die Säuremenge betrug 0,46%, auf Milchsäure berechnet (= 5,09 ccm  $\frac{1}{1}$  N-Natronlauge). Die etwa durch das Casein gebundene Säuremenge ist hierbei nicht mit in Rechnung gebracht<sup>1)</sup>. Die Milchsäure war inaktive Milchsäure.

1) Timpe (Archiv f. Hygiene, 18, 1) und Kabrhel (Zeitschrift f. Hygiene u. Infekt.-Krankh., 19, 392) haben gefunden, daß in Milch stets mehr Milchsäure nachzuweisen ist als in anderen Zuckerlösungen, da ein Teil der Milchsäure durch Casein chemisch gebunden wird.

Als besondere Eigentümlichkeiten des Stoffwechsels meines Milchsäurebacillus habe ich noch zu erwähnen: die Schwefelwasserstoffbildung in Bouillonkulturen bei 37°, sowie die Bildung von Essigsäure, Alkohol und Kohlensäure neben der Milchsäure. Sporenbildung konnte nicht beobachtet werden.

Die Färbung des Bacillus ging sehr leicht, auch nach Gram, vor sich.

Aus vorliegenden Angaben über das morphologische und biologische Verhalten meines Milchsäurebacillus erhellt, daß der Bacillus mit dem Bacillus acidi lactici Hueppe identisch ist.<sup>1)</sup> Er unterscheidet sich von jenem allerdings durch Häutchenbildung in Bouillon, Fehlen der Indolbildung, sowie den Mangel an Sporen. Doch sind die ersteren Abweichungen nicht von solcher Bedeutung, um aus ihnen auf eine neue Art Milchsäurebacillen schließen zu können, und was die letztere Eigenschaft betrifft, so sind die Angaben über das Sporenbildungsvermögen des Hueppeschen Bacillus in der Litteratur so widersprechend, daß es höchst zweifelhaft ist, ob der Sporenbefund Hueppes zu Recht besteht.

### Versuchsordnung.

Die Versuche wurden in folgender Weise angestellt: ein 500 ccm fassender, mit doppelt durchbohrtem Stopfen verschlossener Erlenmeyer-Kolben wurde mit einem langen, schräg abwärts gebogenen Ausflusrohr und einem kurzen, geraden, weiten Einfüllrohr montiert. Beide Röhren wurden mit Wattepfropfen verschlossen, sodann wurde der Kolben mit 200 ccm 1proz. Peptonmolke beschickt und zweimal je eine Stunde im Dampftopf bei 100° sterilisiert. Nach dem Erkalten wurde der Kolbeninhalt mit einer möglichst frischen Bouillonkultur des Bacillus acidi lactici geimpft, die mittels einer Kapillare durch das Einfüllrohr eingebracht wurde. Nach kräftigem Umschütteln wurde eine Probe der Flüssigkeit von etwa 25 ccm

1) Weigmann (a. a. O.) schreibt dem Bacillus acid. lact. Hueppe Rechtsmilchsäure zu.

ausgeblasen, die Ausflusrröhre sofort wieder sterilisiert und verschlossen. Der Kolben wurde im Brutschrank bei 37° C. gehalten, und in Intervallen von je drei Tagen je eine Probe in gleicher Weise ausgeblasen.

Von der Probe wurden sofort Verdünnungen in der gleich zu beschreibenden Weise angefertigt, und mit kleinen Mengen letzterer Gelatineplatten beschickt. Meist wurden drei Verdünnungen hergestellt, die Höhe der Verdünnung schwankte zwischen 0,05 und 1,0 ccm der Originalprobe bezw. der ersten Verdünnung auf je 100 ccm sterilen Wassers. Nach jeder Verdünnung wurde gründlich durchgeschüttelt, mit steriler Pipette die Aussaatprobe entnommen (0,05—1,0 ccm) und direkt in die Petrische Schale übergeführt, in der dann durch Hin- und Herbewegen die Mischung mit der verflüssigten Traubenzucker-Gelatine bewerkstelligt wurde.

Die Schalen blieben bei Zimmertemperatur (18—20°) so lange stehen, bis auch die kleinsten Kolonien gut zu erkennen waren. Dann wurden sie in der üblichen Weise ausgezählt. Die Auszählung wurde an mehreren Tagen wiederholt, um Gewähr zu erhalten, daß kleinere Kolonien anfangs nicht doch übersehen worden waren.

Bei Berechnung der Resultate der Zählung wurde auf die Dichte der Platten Rücksicht genommen. War etwa Platte I nicht zählbar, so dienten Platte II und III zur Ermittlung der Keimzahl. Andererseits wäre es ein Fehler gewesen, Platte III zu verwenden, wenn die ersten beiden brauchbar waren. Als Beispiel möge eine Zählung aus Versuch IX dienen. Aussaat je 1 ccm.

Verdünnung:

1,0 ccm Originalkultur	+ 100 ccm Wasser =	I. Verdünnung.
1,0 » der I. Verdünnung	+ 100 » » =	II. »
1,0 » » II. »	+ 100 » » =	III. »

Platte I, gezählt 992 Kolonien:

1,0 ccm der I. Verdünnung	enthielt	992 Keime
folglich 101,0 » » I. »		} 100 192 » .
oder 1,0 » » Originalkultur		

Platte II, gezählt 10 Kolonien:

	1,0 ccm der II. Verdünnung	enthielt	10 Keime
also	101,0	» » II. » »	} 1010 »
oder	1,0	» » I. » »	
folglich	101,0	» » I. » »	} 102 010 »
oder	1,0	» » Originalkultur »	

Platte III, gezählt 1 Kolonie:

1,0 ccm der III. Verdünnung enthielt somit 1 Keim.

Da sich nun Verdünnung I zu Verdünnung II etwa wie 1 : 100 verhält, so müßte 1,0 ccm der Verdünnung III 0,1 Keim enthalten, oder es entfiere erst auf die zehnte Platte ein Keim. Es ist also klar, daß Platte III bei der Zählung nicht berücksichtigt werden darf. Der Durchschnitt ist also nur aus Platte I und Platte II zu berechnen:

$$\begin{array}{r} \text{Platte I} = 100\ 192 \text{ Keime } 1 \text{ ccm Originalkultur} \\ \text{» II} = 102\ 010 \text{ » 1 » »} \end{array}$$

Mittel: 101 101 Keime für 1 ccm der Originalkultur.

Die Bestimmung des Milchzuckergehaltes der ausgeblasenen Probe wurde nach dem Soxhlet'schen Verfahren ausgeführt:

50 ccm Fehling'scher Lösung wurden mit 5 event. 10 ccm (je nach der Konzentration) der filtrierten Kulturflüssigkeit und mit etwa 100 ccm Wasser 6 Minuten im Sieden erhalten. Das ausgeschiedene Kupferoxydul wurde in der Allihn'schen Röhre gesammelt, als Oxyd gewogen und nach den Weinschen Tabellen auf Milchzucker umgerechnet.

Die Säurebestimmung wurde in den Versuchen I und II so ausgeführt, daß 5 ccm der Kulturflüssigkeit direkt nach Zusatz von Lackmüstinktur mit  $\frac{1}{10}$  N-Natronlauge titriert wurden. Dann wurde mit Schwefelsäure angesäuert, ausgeäthert und die ätherische Lösung auf dem Wasserbade abgedampft. Der mit Wasser aufgenommene Rückstand wurde abermals titriert und als Milchsäure in Rechnung gebracht.

Teilweise wurde bei den übrigen Versuchen auch folgendes Verfahren eingeschlagen: 5 ccm der gut umgeschüttelten Kulturflüssigkeit wurden mit verdünnter Schwefelsäure versetzt; der

gebildete Gips wurde abfiltriert, worauf ausgeäthert wurde. Der nach dem Verdunsten des Äthers bleibende Rückstand wurde in Wasser aufgenommen und titriert.

Eine andere Methode kam daneben zur Anwendung: 5 ccm der umgeschüttelten Kulturflüssigkeit wurden mit Ammoniumkarbonatlösung erhitzt, der kohlensaure Kalk wurde abfiltriert, das milchsaure Ammoniak mit Schwefelsäure zersetzt, die freie Milchsäure ausgeäthert, der Äther verdunstet und der Rückstand wie oben titriert.

Den chemischen Nachweis der Milchsäure habe ich zum Schlufs des Versuchs in folgender Weise<sup>1)</sup> geführt:

Das in der Kulturflüssigkeit suspendierte Gemenge von kohlensaurem und schwer löslichem milchsauren Kalk wurde abfiltriert und mit Ammoniumkarbonat gekocht, um die Milchsäure als Ammoniumverbindung zu erhalten. Die Lösung derselben wurde mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und mit Äther extrahiert. Dann wurde die ätherische Lösung verdampft, der Rückstand mit Wasser aufgenommen, etwa vorhandene Schwefelsäure (stets nur ganz geringe Spuren) durch Bleiessig als schwefelsaures Blei entfernt, mit mehr Bleiessig versetzt und so lange alkoholisches Ammoniak hinzugefügt, als noch eine Fällung von basischem milchsauren Blei entstand. Das Salz wurde mit Schwefelwasserstoff zerlegt, und die Lösung der Milchsäure polarisiert.

Obwohl Kruse<sup>2)</sup> für den *Bacillus acidi lactici* Hueppe als Nebenprodukte des Stoffwechsels nur Kohlensäure und Alkohol angibt, so war es doch, wie schon erwähnt, kaum zweifelhaft, dafs noch andere Körper als jene durch die Lebensthätigkeit des Bakteriums erzeugt würden, besonders da schon Luboldt<sup>3)</sup> als Umsetzungsprodukte des Milchzuckers bei der Milchsäuregärung Milchsäure, Alkohol, Kohlensäure und Essigsäure angibt und Konrad bei dem *Bacterium brassic. acid.* verschiedene Gase und Säuren nachgewiesen hat.

1) Palm, Zeitschrift f. analyt. Chemie 22, S. 223; 26, S. 34.

2) Kruse bei Flügge, Die Mikroorganismen, Bd. II, S. 356.

3) Luboldt, Über die Gärung des Milchzuckers. Journal f. prakt. Chemie, 1859, Bd. 67, S. 282.



Ich habe den Nachweis etwaiger Nebenprodukte in den Kulturen meines Milchsäurebildners nach der bei Conrad angegebenen Methode<sup>1)</sup> ausgeführt:

Nach Abschluß der Milchsäuregärung wurde die Kulturflüssigkeit der Destillation unterworfen, und das Destillat auf flüchtige Stoffe untersucht. In Betracht konnten kommen: Alkohol, Aldehyd und Aceton.

Zur Prüfung auf Alkohol wurde im Destillat die Jodoformreaktion mit Erfolg angewandt.

Ein anderer Teil des Destillates wurde zum Nachweis von Aldehyd mit saurem schwefligsauren Natron behandelt: Aldehyd war nicht nachweisbar.

Zur Ermittlung von Aceton<sup>2)</sup> wurde ein Teil des Destillates mit Sublimatlösung versetzt, der mit alkoholischer Kalilauge alkalische Reaktion erteilt war. Nach kräftigem Umschütteln wurde filtriert. Das Filtrat wurde mit Schwefelammonium überschichtet, Schwarzfärbung blieb aus: Aceton war nicht vorhanden.

Der Rückstand der Kulturflüssigkeit wurde auf den dritten Teil eingedampft, mit Schwefelsäure angesäuert und mit Wasserdampf 6 bis 8 Stunden destilliert. Trotz der langen Dauer der Destillation gelang es nicht, die flüchtigen Säuren vollkommen überzutreiben (vgl. Conrad). Das Destillat wurde mit Barytwasser neutralisiert, die Lösung der Barytsalze fast bis zur Trockne verdampft und die Salzmasse mit konzentrierter Phosphorsäure versetzt. Die sich abscheidende wässerige Schicht hätte die Säuren der Ameisensäurereihe bis zur Buttersäure enthalten müssen.

Ameisensäure nachzuweisen, wurde mit Silbernitrat und Quecksilberchlorid vergeblich versucht.

Essigsäure wurde durch die Bildung von Essigsäureäthylester erkannt.

Der Destillationsrückstand wurde mit Äther ausgeschüttelt; er enthielt reine Milchsäure, die in das Zinksalz übergeführt wurde, dessen Lösung die Polarisationsebene nicht drehte.

1) Conrad, Archiv f. Hygiene, Bd. 29, S. 72 u. ff.

2) Hoppe-Seyler, Handbuch d. physiol. Chemie, 6. Aufl., 1893.

Als Stoffwechselprodukte wurden bei meinen Versuchen also Milchsäure, Essigsäure und Alkohol festgestellt. Die Natur der reichlich gebildeten Gase konnte mangels gasanalytischer Apparate im einzelnen nicht ermittelt werden. Jedoch wurde das Vorhandensein von viel Kohlensäure unter denselben konstatiert.

Berechnet wurden Milchzucker und Milchsäure auf 100 ccm Kulturflüssigkeit. Die Prozentzahlen dürfen den absoluten wohl gleich geachtet werden, da eine Verdunstung der Kulturflüssigkeit während des Versuches so gut wie ausgeschlossen erschien.

Obwohl mir die Thatsache bekannt ist, daß freie Milchsäure das Wachstum der Milchsäure produzierenden Bakterien empfindlich schädigt und schließlicg gänzlich hemmt, eine Thatsache, der man in der Industrie durch Zusatz eines Neutralisierungsmittels zu den Kulturmedien Rechnung trägt, so erschien es doch nicht uninteressant, die Milchzuckerzersetzung auch für diese Fälle kennen zu lernen, in welchen die gebildete Milchsäure in der Kulturflüssigkeit frei verblieb. Die beiden ersten Versuche wurden deshalb ohne Zusatz einer säurebindenden Substanz zur Kulturflüssigkeit ausgeführt.

### I. Versuch.

200 ccm 1proz. Peptonmolke ohne Neutralisierungsmittel, mit einer frischen Traubenzuckerbouillonkultur von *Bacillus acidi lactici* Huppe beschickt.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme d. Milchzuckers in %	Säure in %		Keime pro 1 ccm
			flüchtige (als Essigsäure berechnet)	nichtflücht. (als Milchsäure berechnet)	
Nach d. Beschickung	3,554	—	—	—	20 025
„ 72 Stunden	3,238	0,270	0,072	0,061	46 918 452 913
„ 144 „	3,284	—	0,100	0,074	51 346 295
„ 216 „	3,134	0,150	0,067	0,038	10 110 100
„ 288 „	3,120	0,014	0,037	0,148	10 010

## II. Versuch.

wurde in derselben Weise wie Versuch I ausgeführt.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme d. Milchzuckers in %	Säure in %		Keime pro 1 ccm
			flüchtige (als Essigsäure berechnet)	nichtflücht. (als Milchsäure berechnet)	
Nach d. Beschickung	3,538	—	—	—	—
„ 72 Stunden	3,180	0,358	0,06	0,061	209 963 755
„ 144 „	3,180	0	?	?	148 903 755
„ 216 „	3,150	0,030	0,073	0,112	10 020 010
„ 288 „	3,120	0,030	0,108	0,018	steril

Wie zu erwarten war, setzte die auftretende Säure der Vermehrung der Bakterien ein baldiges Ziel. Obwohl noch eine große Menge Milchzucker vorhanden war, vermochten die Bakterien nicht denselben aufzuzehren.

In beiden Versuchen fand die stärkste Vermehrung der Bakterien innerhalb dreier Tage statt. Die Zahl der Keime nahm dann wieder ab, bis nach 12 Tagen die Abnahme so bedeutend war, daß die Platten steril oder fast steril blieben.

Die Zersetzung des Milchzuckers erhellt aus folgender Tabelle:

Versuch	Milchzuckerzersetzung in %			
	nach 72h	144 h	216 h	288 h
I	8,9	7,6 (?)	11,8	12,2
II	10,1	10,1	10,9	11,8

Offenbar wurden die Bakterien in ihrer Lebensthätigkeit durch die von ihnen produzierte Säure geschädigt, ja vielleicht zum Teil sogar getötet. Ich schliesse auf letzteres daraus, daß die Platten zuletzt steril waren. Wären die Bakterien nur in ihrer Entwicklung gehemmt gewesen, so hätten sie sich auf dem frischen Nährboden rasch wieder vermehren müssen. Eine Rechtfertigung dieses Schlusses, daß sie getötet wurden, erblicke ich in den

Erfahrungen beim Versuch V, bei welchem die Säure durch im Überschufs vorhandenes Calciumkarbonat jeweils sofort gebunden wurde. Hier blieb die Kulturflüssigkeit, nachdem mit dem Verschwinden des Milchzuckers und der Abnahme der Keime der Versuch abgebrochen war, vom 10. August bis zum 30. Oktober stehen. Beim Anfertigen einer Platte mit 0,1 cem der Kulturflüssigkeit zeigten sich sehr zahlreiche Kolonien. Die Bakterien hatten hier wegen Mangels an Nahrung einen gewissen Ruhezustand erreicht, um aber bei Darbietung eines guten Nährbodens sich sofort wieder rasch zu vermehren.

Es lag der Gedanke nicht fern, dafs bei den Bakterien während dieses Ruhestadiums Sporulation aufgetreten sei. Ich konnte jedoch keine Sporen nachweisen. Würde mein *Bacillus* solche bilden, so hätte er dies doch in den Fällen sicher thun müssen, wo er, wie z. B. bei Versuch XI, offenbar zuerst die günstigsten Lebensbedingungen hatte, aber allmählich die Erschöpfung des Nährmaterials drohte. Aber auch in diesem Falle fand ich nichts, was als Sporen hätte angesprochen werden können. Ebenso wenig aber auch, als ich die Versuche Hueppes wiederholte. Hueppe sagt über seinen Sporenbefund<sup>1)</sup>:

„. . . habe ich mich von der Sporenbildung überzeugt. In der Milch und in der Gelatine hatte ich wohl schon Formen beobachtet, welche Sporen zu sein schienen, konnte mich aber nicht bestimmt dafür aussprechen. Sicher gelang mir dies in den verschiedensten Zuckerlösungen. Hier beobachtete ich endständig an den kleinen Zellen das Auftreten eines kugeligen, glänzenden, stark lichtbrechenden Körperchens.“

In eine sterile Traubenzuckerlösung brachte ich eine möglichst grofse Menge von Bakterien und kultivierte 14 Tage bei gewöhnlicher Temperatur. Bei der mikroskopischen Untersuchung ergab sich, dafs keine Sporen gebildet waren, wohl aber eine starke Involution der Bakterien stattgefunden hatte, welche so tiefgreifend war, dafs selbst Aussaat in Traubenzuckergelatine, also Zufuhr guter Nährstoffe, nicht mehr regenerierend wirkte.

1) Hueppe, *Mitteil. aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt*, 2, S. 339—340.

Ich bestätige damit übrigens den Befund Mac Donnells, der fand, daß Milchsäurebakterien nicht in reinen Milchzuckerlösungen wachsen, auch für Traubenzuckerlösungen.

Die Beobachtung von der Abnahme der Keime in den Kulturen nach einer gewissen Zeit bei gleichzeitigem Unvermögen derselben, selbst auf guten Nährböden (Gelatineplatten) wieder zu wachsen und Kolonien zu bilden, stimmt außerordentlich gut mit den Beobachtungen Burchards überein, der ähnliche Ruhezustände bei dem *Micrococcus ureae liquefaciens* fand.

Bei den folgenden Versuchen III-VIII wurde zu den Kulturflüssigkeiten gefälltes Calciumkarbonat zur Bindung der gebildeten Milchsäure hinzugefügt. Damit waren ähnliche Bedingungen geschaffen, wie sie in der Industrie zur Herstellung von technischer Milchsäure dienen.

### III. Versuch.

200 ccm 1 proz. Peptonmolke mit reichlichem Calciumkarbonatzusatz, mit einer frischen Traubenzuckerbonillonkultur von *Bacillus acid. lact.* Hueppe beschiekt.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 ccm Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschiekung	3,402	—	—	10 010
› 72 Stunden	2,162	1,240	0,018	300 600 300
› 144 ›	0,860	1,302	0,130	?
› 216 ›	0,560	0,300	0,203	?
› 288 ›	Spuren	0,560	0,180	918 278 910
› 360 ›	—	—	0,198	725 302 520

### IV. Versuch.

Anordnung dieselbe wie beim III. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure in g pro 100 ccm Kul- turflüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschiekung	3,402	—	—	10 010
› 72 Stunden	2,404	0,998	0,056	40 080 040
› 144 ›	2,060	0,364	0,168	?
› 216 ›	1,320	0,740	0,320	?
› 288 ›	0,440	0,880	0,260	2 082 080 520
› 360 ›	Spuren	0,440	0,279	493 906 630

Beide Versuche zeigen sehr deutlich den günstigen Einfluss, der ausgeübt wird, wenn die gebildete Säure sofort gebunden wird. Die Abnahme des Milchzuckers, die sich bei den beiden ersten Versuchen in sehr bescheidenen Grenzen hielt, geht hier rapide vor sich. Während dort der Milchzuckergehalt der Kulturflüssigkeit insgesamt sich nur um 0,43 resp. 0,42% verminderte, ist hier bei Versuch IV fast die ganze Menge des Milchzuckers nach 360 Stunden, bei Versuch III schon nach 288 Stunden aufgezehrt.

Dasselbe Ergebnis lieferten die zur Kontrolle dieser Versuche angestellten folgenden Versuche (V—VIII), deren Anordnung vollständig die gleiche war wie die der Versuche III und IV; nur kamen bei Versuch VII und VIII 500 ccm Peptonmolke zur Verwendung.

## V. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 ccm Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschickung	3,120	—	—	80 040
„ 72 Stunden	1,418	1,702	0,130	?
„ 144 „	0,768	0,650	0,315	939 129 330
„ 216 „	0,172	0,596	0,556	540 810 270

## VI. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 ccm Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschickung	3,194	—	—	200 100
„ 72 Stunden	1,388	1,806	0,112	2 649 203 440
„ 144 „	0,761	0,627	0,185	1 389 934 620
„ 216 „	0,112	0,649	1,008	1 121 120 280

## VII. Versuch.

500 ccm 1 proz. Peptonmolke.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 ccm Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschickung	3,164	—	—	200 100
„ 72 Stunden	1,694	1,470	0,018	2 283 280 280
„ 144 „	0,976	0,718	0,083	1 681 680 420
„ 216 „	0,753	0,223	0,407	945 552 540
„ 288 „	0,162	0,591	0,065	189 274 590
„ 360 „	—	0,162	0,243	350 700 350

## VIII. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 ccm Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschickung	3,314	—	—	1 001
„ 72 Stunden	2,892	0,422	0,018	51 005
„ 144 „	0,858	2,034	0,074	9 231 905
„ 216 „	0,805	0,053	0,066	2 274 823
„ 288 „	0,449	0,356	0,074	5 151 505

Die Versuchsergebnisse aus dieser Reihe (III—VIII) sind nachstehend auch noch in graphischer Darstellung wiedergegeben.

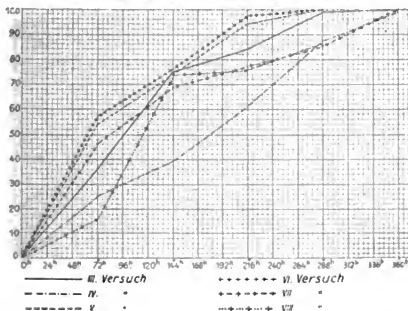
Diagramm I zeigt die Zersetzung des Milchzuckers in Prozenten, Diagramm II die Bildung der Milchsäure in Centigrammen, berechnet für je 100 ccm Kulturflüssigkeit. Diagramm III endlich zeigt die Zu- und Abnahme der im Kubikcentimeter Peptonmolke gezählten Keime.

Wie man sieht, weichen die Kurven der Diagramme von einander im allgemeinen mehr oder weniger ab; es verhalten sich aber auch die Kurven der einzelnen Versuche auf dem gleichen Diagramm verschieden.

Was die Milchzuckerzersetzung anlangt, so dauert dieselbe allgemein an, bis der vorhandene Milchzucker zersetzt ist. Die Schnelligkeit des Anstiegs der Zersetzung war jedoch verschieden, am größten bei den Versuchen V, VI und VII, im Verlauf derer

schon in den ersten drei Tagen etwa die Hälfte des Milchzuckers zerstört war. Bei Versuch IV war die Zersetzung durchaus verlangsamt; am Ende des dritten Versuchstages waren erst 25%, am Ende des sechsten Versuchstages erst 40% des vorhandenen

Diagramm I.  
Zersetzung des Milchzuckers in Prozenten.



Milchzuckers zerlegt. In diesem Versuch erfolgte die Zersetzung aber außerordentlich gleichmäßig:

am 3. Tage zerlegt:	25%	+ 14
» 6. » »	39%	+ 15
» 9. » »	54%	+ 31
» 12. » »	85%	+ 15
» 15. » »	100%	

Verzögert war zu Anfang (bis zum dritten Tage) auch die Zersetzung des Milchzuckers in Versuch VIII (15%); jedoch wuchs dieselbe innerhalb der nächsten drei Tage bereits auf 73%.

Es liegt nahe, diese Unterschiede in der Milchzuckerzersetzung auf die Größe der Bakterienaussaat und Vermehrung zurückzuführen. Im Versuch VIII ist in der That die Bakterienaussaat geringer gewesen als in irgend einem anderen Versuch. Nach drei Tagen waren die ausgesäten Bakterien zwar um das 50fache vermehrt, aber immerhin erst in der Hälfte der Menge vorhanden,



34 Beiträge zur Kenntnis d. quantitativen Zersetzung des Milchzuckers etc.

welche bei den meisten übrigen Versuchen schon gleich von vornherein vorhanden war. Am sechsten Tage allerdings war die Vermehrung auf das 10000fache gediehen. Eine solch rapide

Diagramm II.

Gebildete Milchsäure in Centigrammen pro 100 cem Kulturflüssigkeit.

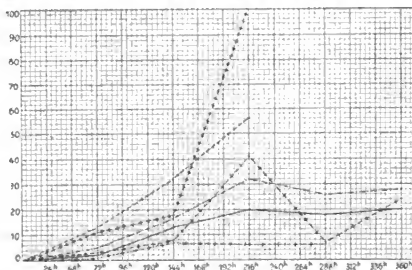
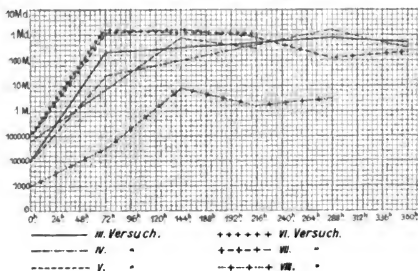


Diagramm III.

Vermehrung des Bac. acid. lact. Anzahl der Keime im Kubikcentimeter der Kulturflüssigkeit.



Vermehrung haben die Bakterien in den Versuchen VI und VII bereits in drei Tagen erfahren, während sie im Versuch IV erst am zwölften Tage erreicht war. Daher auch die verlangsamte Zersetzung des Milchzuckers in diesem Versuch.

Bemerkenswert ist, daß die Bakterienvermehrung nicht fortwährend anhält, sondern relativ früh ihr Maximum erreicht; alsdann bleibt entweder die Bakterienzahl einige Zeit gleich oder sinkt sofort wieder ab, bis schliesslich die schon erwähnte Erscheinung auftritt, daß auf den Zählplatten keine oder nur wenige Kolonien mehr zur Entwicklung kommen.

Die Ursache für dieses Verhalten der Bakterien könnte entweder die sein, daß mit der drohenden Erschöpfung des Nährbodens die Vermehrung aufhört; dann müßten aber immerhin noch zahlreiche Kolonien auf den Zählplatten zur Entwicklung gekommen sein; oder aber die Bakterien gehen infolge des Mangels an Nährmaterial oder durch Anhäufung der Stoffwechselprodukte zu Grunde, was, wie oben Seite 16 hervorgehoben ist, nicht der Fall war. Oder endlich, sie treten in ein Ruhestadium ein, ähnlich wie manche tierische Parasiten oder die Samen der Pflanz, aus dem sie nur durch bestimmte Reize aufgeweckt werden. In diesem Falle müssen sie aber jedenfalls Reservestoffe aufspeichern (Fette, Kohlehydrate oder Eiweißstoffe). Läßt man letztere Annahme gelten, so sind alle Schlüsse aus dem Ergebnisse der Auszählung der Plattenkulturen höchst wahrscheinlich falsch. Man zählt dann die noch nicht in das Ruhestadium eingetretenen, jedenfalls aber nicht alle in der Kultur vorhandenen Individuen. Es eröffnet sich hier noch ein weites Feld für die Forschung.

Auffällig stark weichen die Kurven für die Milchsäurebildung unter sich und von den oben behandelten Kurven für die Milchsückerzersetzung und die Bakterienvermehrung ab. In den Versuchen III, IV und VIII bleibt die Milchsäureproduktion am sechsten, bezw. neunten Tage stehen, ja es geht sogar die Milchsäuremenge wieder zurück. Der starke Rückgang der Milchsäureproduktion am zwölften Tage des Versuches VII kann vielleicht durch einen Analysenfehler bedingt sein. Hingegen steigt die Milchsäuremenge in den Versuchen V und VI konstant an, im Versuch VI sogar vom sechsten Tage an überraschend schnell.

Von vornherein sollte man erwarten, daß die Milchsäuremengen den zersetzten Milchsückermengen parallel gehen würden;

das ist aber fast bei keinem Versuche nachzuweisen gewesen. Der Bakterienvermehrung geht die Milchsäureproduktion auch nur im Versuch VIII parallel; bei allen anderen Versuchen läßt sich gar keine Übereinstimmung im Gang der Milchezuckerzersetzung und Milchsäurebildung auffinden. Schon dieser Umstand spricht meines Erachtens dafür, daß die Milchsäurebildung der Bakterien kein einfacher molekularer Spaltungsvorgang ist, etwa wie der der Spaltung der Zuckerarten in Alkohol und Kohlensäure durch die Zellthätigkeit der Hefe.

Bei den sämtlichen vorstehenden Versuchen III—VIII ist außerdem auffällig, daß die Menge der gebildeten Milchsäure so außerordentlich gering ist im Verhältnis zum zerstörten Milchezucker. Rechnet man, welche Mengen Milchsäure hätten gebildet werden können, wenn aller Milchezucker in Milchsäure zerlegt worden wäre, so erhält man folgende Werte, die nachstehend übersichtlich geordnet nach den sechs Versuchen mitgeteilt sind:

Versuch	Verhältnis der gefundenen zu der erwarteten Milchsäure in %		
	nach 72 h	144 h	216 h
III	1,5	5,0	7,0
IV	5,6	12,0	15,0
V	8,0	13,0	18,0
VI	6,0	8,0	33,0
VII	1,2	4,0	17,0
VIII	4,5	3,0	2,0

Nur in einem Falle ist  $\frac{1}{3}$  der theoretischen Milchsäuremenge gebildet, in den meisten Fällen nur  $\frac{1}{7}$  bis  $\frac{1}{6}$ .

Bei der Bestimmung des Keimgehaltes im Verlaufe der Versuche III—VIII ist mir wiederholt aufgefallen, daß die Auszählungen der verschiedenen Kontrollplatten weniger gut übereinstimmende Resultate lieferten als die bei den Versuchen I und II. Ich glaube nicht irre zu gehen, wenn ich annehme, daß dies dadurch bedingt war, daß der verhältnismäßig schwere, rasch sedimentierende kohlensaure Kalk einen Teil der Bakterien mechanisch niederrifs, während die Probe zur Aussaat aus dem

allerdings gut umgeschüttelten Kölbchen mit der ausgeblasenen Portion entnommen wurde.

Ich habe daher bei dem nächsten Versuche statt des gefällten Calciumkarbonats Marmorstückchen verwendet. Die Befürchtung, daß Marmor als krystallinisches Calciumkarbonat vielleicht zu hart sei, um die abgespaltene Milchsäure schnell genug zu binden, und so etwa nachteilig auf die Vermehrung und Lebensthätigkeit der Bakterien einwirken könnte, erwies sich als unbegründet. Von den nach Beendigung des Versuches herausgenommenen Stücken Marmor ließen sich schon mit den Fingern leicht größere Krümmel abreiben; die ganzen Stücke waren so mürbe geworden, daß ich sie leicht zerbrechen konnte.

Der Versuch IX verlief im übrigen ebenso wie die vorhergehenden, nur waren die Resultate der Auszählungen thatsächlich besser übereinstimmend. Ich lasse das Versuchsergebnis nachstehend folgen.

#### IX. Versuch.

500 ccm 1proz. Peptonmolke mit Marmorstückchen, geimpft mit einer frischen Bouillonkultur von *Bacillus acid. lact.* Hueppe.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsaure pro 100 ccm Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 ccm
Nach d. Beschiekung	3,194	—	—	—
„ 72 Stunden	3,090	0,104	0,009	101 101
„ 144 „	2,832	0,258	0,019	17 586 524
„ 216 „	1,076	1,756	0,093	539 173 855
„ 288 „	0,359	0,717	0,056	89 049 630
„ 360 „	Spuren	0,359	0,009	28 501 594

Eine kleine Abweichung zeigt das Resultat dieses Versuches allerdings darin, daß sowohl Milchzuckerzersetzung wie Bakterienvermehrung anfänglich mehr verzögert waren. Ich halte es für möglich, daß diese Verzögerung durch die etwas schwerere Angreifbarkeit des Marmors, bezw. die durch ihn gebotene kleinere Angriffsfläche bedingt war. Es kann hierdurch möglicherweise anfänglich doch eine gewisse hemmende Säuerung im Nährboden zustande gekommen sein.

Ich habe deshalb zu den folgenden beiden Versuchen (X und XI) Austernschalen verwendet. Die Austernschalen waren in der Weise präpariert, daß die zertrümmerten Schalen in einem Gefäß mit Wasser drei Stunden bei zwei Atmosphären Druck im Autoclaven zur Entfernung der organischen Substanz erhitzt wurden. Eine Analyse der Austernschalen ergab 0,38% Magnesiumoxyd, Spuren von Eisen und Phosphorsäure; der Rest war kohlen-saurer Kalk.

## X. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 cem Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 cem
Nach d. Beschickung	3,194	—	—	9 191
, 72 Stunden	Spuren	fast 3,194	0,112	unzählbar
, 144    ,	—	—	0,028	unzählbar

Da der Versuch X wider alles Erwarten nach 72 Stunden schon beendet war, wurde zur Kontrolle ein zweiter Versuch angestellt.

## XI. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milch- zuckers in %	Milchsäure pro 100 cem Kultur- flüssigkeit	Keime pro 1 cem
Nach d. Beschickung	3,328	—	—	101
, 24 Stunden	2,268	1,060	0,019	601 859
, 48    ,	Spuren	2,268	0,130	2 638 928

Das Resultat dieser beiden Versuche war ungemein überraschend. Während in früheren Versuchen der Milchzucker frühestens nach 216 Stunden verschwunden war, waren beim Versuch XI schon nach 48 Stunden nur noch Spuren Zucker nachzuweisen.

Da die Versuchsbedingungen bis auf das Neutralisierungsmittel die gleichen geblieben waren, so konnte der Grund zu dieser auffälligen Erscheinung nur in ihm gesucht werden.

Dem geringen Eisengehalt kann die so energische Wirkung nicht zugeschrieben werden, da Bakterien im allgemeinen auf Eisengehalt des Nährbodens keinen Anspruch erheben.

Da der Gehalt an Phosphorsäure in den Austernschalen ein nur sehr geringer ist, Molke andererseits Phosphate in größerer Menge enthält, so ist der Ausfall der beiden letzten Versuche vielleicht der Magnesia zuzuschreiben, eine Vermutung, die mit den bisherigen Erfahrungen über die Wirkung des Magnesiagehaltes des Bodens auf höhere Pflanzen auch ganz gut im Einklang stehen würde.

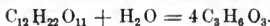
Ich habe deshalb einen Versuch in der gewohnten Weise angestellt, statt der Austernschalen aber Marmor genommen und soviel Magnesiumkarbonat hinzugefügt, als einem Gehalt von 0,38 % Magnesiumoxyd der Austernschalen entsprach.

Meine Hoffnung, hierdurch die gewünschte Aufklärung zu erhalten, wurde getäuscht. Die drei Tage im Brutschrank bei 37° gehaltene Molke hatte nicht die geringste Abnahme in ihrem Milchzuckergehalt erfahren; in einem zweiten Versuche, der fünf Tage währte und bei dem wieder Austernschalen verwendet wurden, konnte nur eine Abnahme von 0,29 % Milchzucker festgestellt werden.

Welcher Umstand die Erscheinung der rapiden Zerlegung des ganzen Milchzuckers bei den Versuchen X und XI veranlaßt hat, ist einstweilen unklar. In einem aber stimmen auch diese Versuche mit den vorhergehenden überein: in der verhältnismäßig sehr geringen Milchsäurebildung:

Versuch	Verhältnis der gefundenen zur erwarteten Milchsäure in %		
	nach 24 h	48 h	72 h
X	—	—	3,6
XI	1,7	5,4	—

Der Theorie nach soll bei der Milchsäuregärung ein Molekül Milchzucker in vier Moleküle Milchsäure zerfallen:



Dafs die Umsetzung nicht glatt im Sinne dieser Gleichung verläuft, war schon lange bekannt. Man weifs ja auch, dafs Rohrzucker bei der Alkoholgärung nicht glatt in Alkohol und Kohlensäure zerfällt, vielmehr ein, wenn auch sehr geringer Teil des Zuckers zur Ernährung der betreffenden Hefeart verbraucht wird. Die Menge des erzeugten Glycerins und der Bernstein-säure, die als Nebenprodukte entstehen, pflegt aber 3,6 % resp. 0,7 %<sup>1)</sup> nicht zu überschreiten.

Es wäre also auch nicht besonders auffällig gewesen, wenn bei der Zersetzung des Milchzuckers durch den *Bacillus acidi lactici* Hueppe Nebenprodukte in nur geringer Menge aufgetreten wären. Nun aber ergab die Untersuchung auf Nebenprodukte, die mit dem Rest der Kulturflüssigkeit des Versuches IX nach Beendigung der Gärung angestellt war, einen auffallend hohen Prozentsatz von Alkohol<sup>2)</sup>, nämlich 0,9%. Weiter war oben festgestellt, dafs sich sowohl im Gelatinestich wie in Bouillonkulturen Gasbläschen entwickelten, die Hueppe als aus Kohlensäure bestehend erkannte. Meine schon mitgeteilten Untersuchungen haben ebenso wie die früherer Untersucher Essigsäure als Nebenprodukt ergeben. Sodann machte sich bei einzelnen meiner Versuche (III, IV, VII, VIII und X) nach 216 resp. 288 Stunden eine Verringerung der zuerst gebildeten Milchsäure bemerkbar.

Diese Erfahrungen liefsen die Vermutung zu, dafs der *Bacillus acidi lactici* Hueppe aufser einem Abbau des Milchzucker-moleküls in Milchsäure noch eine Zerlegung der Milchsäure in Alkohol und Kohlensäure bewirke, im Sinne der chemischen Gleichung:



und dafs die Essigsäure vielleicht durch Oxydation des Alkohols gebildet würde, analog dem Vorgang bei der Essigbildung.

Oder es war auch denkbar, dafs durch die Anhäufung von Kohlensäure Sauerstoffmangel in den Kulturflüssigkeiten eintrat,

1) Flüggé, Die Mikroorganismen, 1896, Bd. I, S. 226.

2) Scholl, Die Milch, Wiesbaden 1891, bestreitet zwar, dafs der *Bacillus acidi lactici* Hueppe Alkohol produziere, doch findet in den Lehrbüchern, z. B. Flüggé, stets die Produktion von Alkohol Erwähnung.

der die Bakterien zwang, Essigsäure als abnormes Produkt zu bilden.<sup>1)</sup>

Eine Durchlüftung des Versuchskolbens konnte hier vielleicht Klarheit schaffen.

Der Versuch wurde in folgender Weise ausgeführt: Ein Kolben mit 400 ccm 1proz. Peptonmolke mit Marmorstückchen, beschickt mit einer frischen Traubenzuckerbouillonkultur des *Bacillus acidi lactici*, wurde im Brutschrank bei 37° einer Durchlüftung unterzogen.

Zu diesem Zwecke wurde der Kolben mit einer Saugpumpe verbunden; zwischen ihm und der Pumpe waren eingeschaltet: eine Wulfsche Flasche (um etwa zurücksteigendes Wasser aufzufangen), zwei mit je 200 ccm von etwa  $\frac{1}{10}$  N-Barytwasser gefüllte Pettenkofer'sche Barytröhren und wieder eine Wulfsche Flasche zur Kondensation des aus dem Versuchskolben weggeführten Wasserdampfes. Anderseits stand der Kolben (rückwärts) in Verbindung mit einem sterilisierten Filter aus Baumwolle und mit einer mit Wasser beschickten Waschflasche, um den Durchlüftungsstrom mit Wasserdampf zu sättigen, die sich ebenfalls im Brutschrank befand. An diese schlossen sich zwei Absorptionstürme, in denen sich mit Wasser befeuchteter Bimsstein befand, sowie einer, der mit Natronlauge getränkte Bimssteinstücke enthielt, und endlich eine Waschflasche mit Natronlauge, um die Kohlensäure der Luft zu absorbieren.

Die Saugpumpe wurde nur soweit in Thätigkeit gesetzt, daß die Luft langsam in kleinen Blasen durch die Barytröhren trat. Alle 24 Stunden wurde der Inhalt der Barytröhren in Stöpselflaschen abgefüllt und durch frisches Barytwasser ersetzt. Von dem Inhalt der Stöpselflaschen wurden nach dem Absitzen des Baryumkarbonats je 25 ccm entnommen und mit  $\frac{1}{10}$  N-Oxalsäurelösung titriert. Die Vermehrung der Bakterien, die Abnahme des Milchzuckers und die Menge der Milchsäure wurde wie bei allen anderen Versuchen jeden dritten Tag festgestellt.

1) Barthel, Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenkunde, Abt. II, Bd. VI, S. 417, kommt zu dem Resultat, daß sich die Menge der Essigsäure bei Durchlüftung wie 3 : 2 (bei Nichtdurchlüftung) verhalte.



Nach Beendigung des Versuches wurde eine quantitative Bestimmung des Gesamtcalciums des Kolbeninhalts vorgenommen und damit die Menge der erhaltenen Kohlensäure verglichen.

Das Ergebnis dieses Durchlüftungsversuches sei in nachstehender Tabelle aufgeführt.

## XII. Versuch.

Zeit	Milchzucker in %	Abnahme des Milchzuckers in %	Milchsäure in %	Keime pro 1 ccm	Kohlensäure in g	Kohlensäure in je 3 Tagen
Nach d. Beschickg.	3,328	—	—	20 020	—	
› 24 Stunden	—	—	—	—	0,6635	} 2,0493
› 48 ›	—	—	—	—	0,4026	
› 72 ›	1,342	1,986	0,074	170 340 170	0,9832	
› 96 ›	—	—	—	—	0,3452	} 0,7812
› 120 ›	—	—	—	—	0,1623	
› 144 ›	0,976	0,366	0,056	17 547 530	0,2737	
› 168 ›	—	—	—	—	0,2129	} 0,6188
› 192 ›	—	—	—	—	0,2572	
› 216 ›	0,909	0,067	0,037	15 045 030	0,1487	
› 240 ›	—	—	—	—	0,2275	} 0,3764
› 264 ›	—	—	—	—	0,0638	
› 288 ›	0,857	0,052	0,018	5 045 040	0,0851	
› 312 ›	—	—	—	—	0,0251	} 0,0609
› 336 ›	—	—	—	—	0,0286	
› 360 ›	—	—	—	—	0,0072	
› 384 ›	0	0,857	0,052	?	0,0000	

Der Versuch wurde abgebrochen, als keine Kohlensäure mehr entwickelt wurde. Die Kulturflüssigkeit war fast ganz klar geworden. Sie wurde nach der auf Seite 13 angegebenen Methode behandelt; der Rückstand wurde nach dem Abdampfen eingeäschert, und das rückständige schwefelsaure Calcium mit Soda geschmolzen. Nach dem Auslaugen und Auswaschen der löslichen Salze wurde das Karbonat in verdünnter Salzsäure gelöst, das Calcium als Oxalat gefällt und als Oxyd gewogen: gefunden wurden 0,334 g Calciumoxyd.

Versuch XII ergab . . . . .	3,8866 g Kohlensäure
0,334 g Calciumoxyd entsprechen	0,2620 g ›
so dafs	3,6246 g Kohlensäure

aus zerlegtem Zucker oder anderen Nahrungsstoffen herkommen müssen.

Daneben wurde durch Destillation der mit Schwefelsäure angesäuerten Kulturflüssigkeit 0,162 % Essigsäure gefunden. Der Milchsäuregehalt betrug 0,052 %.

Hieraus ergibt sich folgendes:

Wegen des Zusatzes von Marmor muß alle gebildete Säure in Form von Calciumsalz vorhanden gewesen sein, da die Peptonmolke vorher eben schwach alkalisch war.

Gefunden wurden direkt . . . . .	0,334 g CaO
ferner 0,162 % Essigsäure, also für 320 ccm <sup>1)</sup> Molke 0,518 g, entsprechend	0,242 g CaO
und 0,052 % Milchsäure, also für 320 ccm Molke 0,166 g, entsprechend	<u>0,052 g CaO</u>

zusammen: 0,294 g CaO.

Durch Analyse gefunden . . . . .	0,334 g Calciumoxyd
berechnet . . . . .	<u>0,294 g</u> »

somit mehr gefunden als berechnet 0,040 g Calciumoxyd, welche wohl auf den ursprünglichen Kalkgehalt der Molke zurückgeführt werden müssen.

Durch die gefundenen 3,6246 g Kohlensäure, die nicht aus zersetztem Marmor herrühren können, wird aber der Verbleib des Milchzuckers lange nicht aufgeklärt. Nimmt man für die Berechnung der zu erwartenden Kohlensäure selbst die Endgleichung:



so würde die gefundene Kohlensäure immer erst 2,3477 g Milchzucker entsprechen.

Allerdings kommt noch die Produktion von Alkohol in Betracht, aber auch dessen Menge reicht nicht hin, den Verbleib des Zuckers völlig aufzuklären.

Den Anlaß zu diesem Versuche hatte die Erwägung gegeben, ob etwa die Milchsäure weiter gespalten würde, und jene, ob die Zunahme der Kohlensäure in der Kulturflüssigkeit hemmend auf die Milchsäurebildung wirke.

1) 320 ccm Kulturflüssigkeit waren bei Beendigung des Versuches noch vorhanden.

Was die erstere Frage anlangt, so gibt der Ausfall des Versuches XII wohl die klare Antwort, daß die Milchsäure durch die Bakterien weiter zerlegt wird. Würde nur einfach ihre Bildung gehemmt sein, so müßte der Gehalt der Flüssigkeit an Milchsäure zwar langsam ansteigen, aber jedenfalls an sich sehr gering sein. Gerade das Gegenteil findet aber statt. Nachdem zunächst eine gewisse Menge Milchsäure gebildet ist, nimmt deren Menge von Tag zu Tag ab und steigt erst wieder kurz vor Abschluß des Versuches an, zu einer Zeit, wo der Milchzucker zum größten Teil bereits zerlegt ist.

Hingegen läßt sich nicht darthun, daß die Gegenwart von Kohlensäure in der Kulturflüssigkeit auf die Bildung von Milchsäure von nachteiligem Einfluß ist. In dem Durchlüftungsversuche wurden in den ersten drei Tagen aus 1,986 g Milchzucker 0,074 g Milchsäure gebildet, während in der gleichen Zeit in den übrigen Versuchen ohne Abführung der Kohlensäure gebildet wurden:

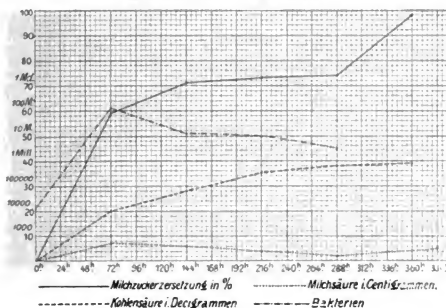
Versuch	Zerstörter Milchzucker	Gebildete Milchsäure	Auf 100 g Milch- zucker entfallen Milchsäure
III	1,240	0,018	1,45
IV	0,998	0,056	5,61
V	1,702	0,130	7,64
VI	1,806	0,112	6,20
VII	1,470	0,018	1,23
VIII	0,422	0,018	4,26
IX	0,104	0,009	8,65
X	3,194	0,112	3,51
XI	1,060	0,019	1,80
XII	1,986	0,074	3,73

Das Gesamtergebnis des XII. Versuches habe ich auf nachfolgender graphischer Darstellung wiedergegeben. Aus derselben wird ersichtlich, daß Milchzuckerzersetzung, Milchsäurebildung und Kohlensäureproduktion anfänglich mit einer rapiden Vermehrung der Milchsäurebakterien zusammengehen. Mit der Abnahme der Bakterien nimmt relativ alles wieder ab: Während

aber absolut die Menge der Kohlensäure und des zerstörten Milchzuckers noch wächst, nimmt die Milchsäure auch absolut an Menge ab.

Es könnte nun noch der Einwand erhoben werden, daß sämtliche Versuche bei zu hohen Temperaturen ausgeführt seien, bei welchen die Umsetzung des Milchzuckers aus thermochemischen Gründen leichter zu Essigsäure, Alkohol und Kohlensäure erfolgen könnte; aber auch diesen Einwand entkräftet der Befund

Diagramm des Versuches XII.



bei einem Versuche bei 17°, im Verlaufe dessen nach 12 Tagen auch nicht mehr Milchsäure (0,018%) gebildet war.

Ich glaube, daß zur Aufklärung der Widersprüche in den Versuchsergebnissen besondere Versuche nötig sind, die namentlich das Verhalten der Milchsäurebakterien in Kulturflüssigkeiten festzustellen bezwecken müßten, welche beliebig in ihrer Zusammensetzung modifiziert werden. Ich glaube dies um so mehr, als ja auch Burchard bei seinen Versuchen mit Zusatz von schwefelsaurem Kalk zum Harn ganz andere Resultate erzielte als bei den Versuchen ohne diesen Zusatz. Zweifellos stellen gewisse Zusätze zu den Kulturflüssigkeiten Reize für die Bakterien dar, unter deren Wirkung die Stoffzersetzung rascher, intensiver und andersartig werden kann.

Mir genügt zunächst das Ergebnis, daß der Milchzucker nicht bloß in Milchsäure, sondern in eine ganze Reihe von anderen Stoffen zerlegt wird, und daß bei Bindung der Milchsäure durch Kalk die Zersetzung des Milchzuckers eine ganz außerordentlich große ist.

Um über die Leistung der einzelnen Bakterienzelle einen Überblick zu gewinnen, füge ich folgende Tabelle bei:

Versuch	Anzahl der Keime pro Kubikcentimeter		Milchzuckerzersetzung in 72 Std. in mg
	bei Beginn	nach 72 Std.	
III	10 010	300 600 300	12,40
IV	10 010	40 080 040	9,98
VI	200 100	2 649 203 440	18,06
VII	200 100	2 283 280 825	14,70
VIII	1 001	51 005	4,22
XII	20 020	170 340 170	19,86

Daraus leitet sich folgende quantitative Stoffzersetzung der Milchsäurebakterien ab:

Versuch	Mittlere geometrische Keimzahl während 72 Std.	Milchzuckerzersetzung in 72 Stunden in mg	Zersetzung durch 1000 Keime in 72 Std. in mg	Zersetzung durch 1000 Keime pro Stunde in mg	Mittlere Teilungszeit eines Keimes in Stunden
III	1 734 650	12,40	0,0071	0,00010	4,9
IV	633 404	9,98	0,0158	0,00022	6,1
VI	23 028 400	18,06	0,0008	0,00001	5,3
VII	21 374 900	14,70	0,0007	0,00001	5,4
VIII	7 145	4,22	0,6029	0,00838	12,6
XII	1 846 675	19,86	0,0107	0,00015	5,8

Die mittlere Zersetzungsgröße für 1000 Keime schwankte nicht unerheblich, nämlich zwischen  $\frac{1}{100000}$  bis  $\frac{8}{1000}$  mg für die Stunde.

Als Mittel für die Teilungszeit eines Keimes ergeben sich 5,5 Stunden, wenn von Versuch VIII abgesehen wird, bei dem ganz abnorme Verhältnisse vorzuliegen scheinen.

Burchard beobachtete bei dem *Micrococcus ureae liquefaciens* die Erscheinung, daß, je schneller die Teilung eines

Keimes erfolgte, desto langsamer der Harnstoff zersetzt wurde. Ich kann die gleiche Erscheinung für den *Bacillus acidi lactici* Hueppe nachweisen.

Da es mir gelang, auf Traubenzucker-Gelatine rasch sehr üppige Kulturen des *Bacillus acidi lactici* zu erzielen, so habe ich versucht, das Gewicht meiner Bakterien festzustellen.

Den Versuch habe ich folgendermaßen angestellt: Die Kulturrasen wurden möglichst vorsichtig mit der Platinöse von der Gelatineplatte abgekratzt und in einem sterilen Wägegläschen gewogen. Eine gewogene Menge wurde dann durch Schütteln mit Glasperlen gut in Wasser verteilt; von dieser wässrigen Suspension der Bakterien wurden Verdünnungen hergestellt, Platten gegossen und ausgezählt. Die Berechnung ergab:

17 767 750 000 Bakterien für ein Gramm feuchter Bakterienmasse. <sup>1)</sup>

Der Rest der Bakterienmasse wurde bis zur Gewichtskonstanz getrocknet und ergab:

10,12 % Trockensubstanz,

89,88 % Wasser.

Wie oben aus der Tabelle ersichtlich, zersetzten 1000 Keime in der Stunde 0,00001 bis 0,00838 mg Milchzucker. Die stündliche Leistung eines Gramms feuchter Bakterienmasse bei der Zerlegung des Milchzuckers würde sich also auf 178 bis 14 889 g Milchzucker beziffern.

---

1) Nägeli, Die niederen Pilze, München 1877, S. 7, hat für einen ganz kleinen Coccus berechnet, daß im trockenen Zustand 30 Billionen Spaltpilze auf 1 g entfallen; bei einem durchschnittlichen Wassergehalt der Spaltpilzzellen von 80% würden etwa 6 Billionen Spaltpilze im feuchten Zustand auf 1 g kommen. Allerdings ist der *Bacillus acidi lactici* erheblich größer als die von Nägeli verwendete Coccenart.

## Die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung. II.

Von

Dr. **Max Schottelius**,

Professor der Hygiene.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Freiburg i. B.)

Im XXXIV. Band dieses Archivs wurde von mir über Versuche berichtet, welche den Zweck hatten, an steril gezüchteten Hühnchen die Frage der Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung ihrer Lösung näher zu rücken.

Über den weiteren Verlauf dieser Untersuchungen, welche in den Jahren 1899, 1900 und 1901 fortgeführt wurden, konnte ich auf der Naturforscher-Versammlung in Hamburg unter Vorführung der diesbezüglichen Präparate einige Mitteilungen machen. Diese Mitteilungen mußten sich aber, den Umständen entsprechend, darauf beschränken, in gedrängter Kürze die wesentlichsten Ergebnisse der Versuche zusammenzufassen, und es war mir in der That auch mehr darum zu thun, in Hamburg einer größeren Anzahl von Fachgenossen meine Präparate, welche in kleinerem Kreis bereits mehrfach demonstriert waren, vorzeigen zu können, als einen erschöpfenden Bericht über den Verlauf der Versuche und über die sich daraus ergebenden Schlusfolgerungen zu erstatten.

Die ausführlicheren Mitteilungen, auf welche ich damals hinwies, sind nun im folgenden enthalten:

Nachdem es uns im Jahre 1898 gelungen war, wenigstens bis zum 17. Lebenstage ein Hühnchen steril zu erhalten, wurde

für die Brutperiode des Jahres 1899 die Aufgabe gestellt: den Versuch bis zum spontanen Absterben der Tiere durchzuführen.

Vorausgeschickt wurden aber einige Versuche, aus denen ich feststellen wollte, wie lange überhaupt ein frisch ausgeschlüpftes Hühnchen ohne Nahrung lebt und welchen Gewichtsverlust es erleidet und zwar einmal ohne Zufuhr von Wasser und dann bei Wasseraufnahme. Das Experiment wurde in einem oben offenen, hohen, geräumigen Glasbehälter vorgenommen, dessen Boden mit grobem gewaschenen Kies bedeckt war.

Das Ergebnis dieser Versuche war, daß die Hühnchen verhältnismäßig sehr lange Zeit ohne jede Nahrung am Leben bleiben können, 10—12 Tage lang! Meistens gehen die Tiere allerdings schon nach 3—5 Tagen ein. Die Wasserzufuhr scheint dabei nur wenig Einfluß zu haben, sondern maßgebend ist vor allem die angeborene Lebenskraft. Ich schliesse das daraus, weil die äußeren Lebensbedingungen Wärme, Licht etc. stets die gleichen waren und weil das absolute Gewicht der ausgeschlüpften Hühnchen nicht proportional maßgebend ist für die Lebensdauer. Mitbestimmend wirken allerdings auch die äußeren Faktoren: wenn die hungernden Tiere warm und während des größeren Teils des Tages dunkel gehalten werden, so kann man dadurch die Lebensdauer verlängern, während anderseits unruhiges Hin- und Herlaufen und kühlere Aufsentemperatur die vorhandene Lebenskraft rascher erschöpft. Am ersten und am zweiten Tage liegen die Hühnchen ohnehin fast ständig langgestreckt am Boden und lernen erst allmählich den Kopf heben, sich aufrichten und die Glieder benutzen. Ebenso kann ein Hühnchen noch Tage lang beim Erlöschen des Lebens ruhig am Boden liegen, ohne sich zu bewegen, aber die Atmung geht noch weiter. Dadurch zieht sich die Lebensdauer lange hin — in einem Fall bis zum 12. Tage.

Der Gewichtsverlust ist der gleiche wie bei den steril gezüchteten Hühnchen: er beträgt bei Tieren von 40—45 g Anfangsgewicht 10—15 g, so daß ein Endgewicht von 30—35 g beobachtet wird. Daß die Wasseraufnahme bei dem Gewicht eine wesentliche Rolle spielt, habe ich nicht konstatieren können



und ich muß demnach meine früher ausgesprochene Vermutung, daß es sich bei der anfänglichen Gewichtszunahme steril gezüchteter Hühnchen um eine Wasserzunahme der Körpergewebe handle, wie bei hungernden Hunden, berichtigen und die Erklärung dieser Thatsache auf eine später zu besprechende Ursache zurückführen.

Im ganzen wird man die verschiedene Lebensdauer sonst gleich gehaltener Hühnchen auf die leider nicht meßbare Größe der individuellen angeborenen Lebensenergie zurückführen müssen; auch sind einzelne Rassen oder Stämme lebhafter, beweglicher veranlagt und konsumieren daher ihre Lebenskraft schneller als andere. Dabei stehen sich die ersteren im Ernstfall, d. h. wenn in der freien Natur die entsprechenden Bedingungen eintreten sollten, bezüglich der Erhaltung ihrer Existenz nicht schlechter als die trägeren, denn sie würden ohne Zweifel die fernliegende oder schwer auffindbare Nahrung eher finden und sich vor dem Hungertode sicherer retten können, als die langsameren; während letztere wiederum den Vorteil haben, daß die Bedingungen an Ort und Stelle sich ändern können, und daß ihnen, wenn auch erst später, so doch noch zeitig genug die Existenzmittel zur Erhaltung des Lebens geboten werden. So gleichen sich die individuellen und die Stammesunterschiede auch hier einander aus und ergänzen sich, wenn es sich um die Erhaltung der Art handelt.

Um den bei den Züchtungsversuchen im Jahre 1898 mehrfach hervorgetretenen Mangel an fertig bebrüteten Eiern zu vermeiden, war der Brutapparat auf das Doppelte vergrößert, so daß statt 80—100 Eier jetzt 180—200 Stück gleichzeitig angebrütet werden können. Diese Stückzahl ist nicht zu groß, wenn man bedenkt, daß die Eier immer serienweise zum Züchtungsversuch kommen und daß bei einem völligen Mißlingen einer Versuchsreihe — durch Infektion des Zuchtkäfigs — thunlichst bald eine neue Eier-Serie voll angebrütet zur Stelle sein muß, damit die wenigen Monate, in denen man diese Versuche anstellen kann, möglichst ausgenutzt werden. Dabei ist dann noch zu berücksichtigen, daß immer einige Tage verstreichen, bevor

der Verdacht einer Infektion des Zuchtkäfigs bakteriologisch sicher gestellt werden kann, und dafs dann die gründliche Desinfektion, Reinigung und Prüfung des Zuchtkäfigs wiederum einige Tage in Anspruch nimmt. Außerdem mufs man mit der Neubeschickung des Zuchtkäfigs mit voll bebrüteten Eiern natürlich auch darauf gerichtet sein, dafs das Experiment gelingt, und dafs die sterilen Hühnchen mehrere Wochen lang am Leben bleiben. Dadurch fällt dann die Benutzung mancher zum Versuch vorbereiteten Eierserien aus, und der Hühnerhof bevölkert sich gewaltig, während — wie die untenstehenden Tabellen zeigen — kaum ein Dutzend sterile Hühnchen dabei herausgekommen sind.

Rechnet man dazu noch die Verluste, welche durch unfruchtete Eier sich ergeben und die Abgänge, welche dabei entstehen, dafs durch die unvermeidliche mechanische Erschütterung beim Desinfizieren der Schale das Hühnchen im Ei abstirbt, so folgt daraus, dafs man ständig mehrere hundert Eier in der Brutperiode haben mufs, wenn man diese Versuche erfolgreich durchführen will.

Nun tritt aber nicht selten noch ein anderer übler Zufall beim Ausschlüpfen der Hühnchen im Zuchtkäfig ein, den die Natur beim Ausschlüpfen unter den Flügeln der Henne vermeidet. In letzterem Fall kommt es nur selten oder gar nicht vor, dafs ein voll ausgebrütetes lebendiges Hühnchen noch während der Geburt, d. h. während des Ausschlüpfens aus der Schale abstirbt. Aber im Zuchtkäfig ist die Luft trockener, als unter den Flügeln der Henne, und so kommt es, dafs nicht so selten die Federn des ausschlüpfenden Hühnchens, welches die Schale bereits angepickt und durchbrochen hat, an den Schalen festkleben und antrocknen, so dafs das Hühnchen nicht herauskann; dann können sich die Lungen nicht ausdehnen, das Hühnchen kann gar nicht, oder nur ungenügend atmen und erstickt nach kurzer Zeit, nach etwa 6—12 Stunden. — Helfen kann man dabei nur ganz selten, denn wenn man wirklich das Risiko übernimmt und den Zuchtkäfig noch einmal öffnet, so kann man ja versuchen, mit Pinzette und Schere die Eierschale

sehr vorsichtig zu lösen; dabei kommt es aber fast immer zu kleinen Blutungen, die das zappelnde Hühnchen noch weiter verkleben, und wenn man die Schale energisch zerbricht, so reißt mit den angeklebten Federn die Haut ein, dann ist das Hühnchen verletzt und zum Experiment untauglich. — Bei diesem Vorgang wird vorausgesetzt, daß das Anpicken an dem nach oben liegenden Teile des Eies stattfand; wenn dies aber nach unten zu geschehen ist, dann bleibt das ganze Vorkommnis unentdeckt, bis man beim Herausnehmen der nicht geschlüpften Eier den Schaden sieht. So beeinträchtigt auch dieser Umstand die Zahl der sterilen Tiere und vergrößert das Verlustkonto.

Das alles sind aber Hindernisse, welche sich überwinden lassen, und wenn man die Klippen einmal kennt, die man zu vermeiden hat, so lassen sich mit der nötigen Geduld auch diese Versuche erfolgreich durchführen.

Im Jahre 1899 gelang die sterile Züchtung im ganzen in drei Versuchsreihen: einmal vom 28. März bis 10. April, dann vom 16. April bis 15. Mai und endlich vom 25. Mai bis 19. Juni; in den ersten beiden Serien wurden je zwei, in der letzten ein Hühnchen steril durchgebracht und sämtliche Tiere wurden bis zum spontan eingetretenen Tode beobachtet. Die Lebensdauer der einzelnen Hühnchen schwankte von 11 bis zu 29 Tagen und der Gewichtsverlust betrug bis zu 36% des Körpergewichtes, während der Gewinn an Körpergewicht bei den Kontrolltieren bis zu 154% stieg.

Bezüglich der allgemeinen Anordnung der Versuche und der angewandten speciellen bakteriologischen Kautelen verweise ich auf meinen früheren Bericht im 34. Band d. Arch. Die dort angegebenen Vorsichtsmaßregeln wurden in den folgenden Jahren in verschärftem Maße angewendet, namentlich wurden die bakteriologischen Kontrollen der Dejektionen, der Nahrung, des Wassers und der Luft zu Beginn und am Schluss des Versuches, sowie mehrfach während der Versuche gründlich durchgeführt. Außerdem wurden nun auch die Schalen der steril ausgeschlüpften Hühnchen nicht nur gewogen, sondern in toto in Nährgelatine eingeschmolzen, um jederzeit den Nachweis der Keimfreiheit

erbringen zu können. Diese Schalen bewirkten auch nach Monaten keine Schwärzung der Gelatine — eine Erscheinung, auf welche ich mich weiter unten zu beziehen habe — und dürfen demnach nicht nur für bakterienfrei, sondern auch als sublimatfrei angesprochen werden.

Sämtliche steril gezüchteten Hühnchen wurden in diesem, sowie in den folgenden beiden Jahren bis zum spontan eingetretenen Tode beobachtet und erst dann in Gelatine eingelegt. Bei einigen habe ich mit dem Einschmelzen nach spontan eingetretenem Tode noch mehrere Tage gewartet, um eventuelle postmortale Veränderungen des Körpers beobachten zu können. Wie zu erwarten war, tritt nur ein allmähliches Eintrocknen und schliesslich eine Mumifikation ein, ohne dafs sich Zersetzungsvorgänge einstellen. Solche Hühnchen konnten natürlich nicht als Beweismaterial für Gewichtsverluste gegenüber den Kontrollhühnchen verwendet werden und deshalb haben wir dieses Experiment auch nicht öfters wiederholt, sondern haben die Tiere immer eingelegt, sobald der Tod sicher konstatiert werden konnte. Das ist ohne weiteres nicht immer durch den Augenschein leicht zu erkennen, denn die verendenden Hühnchen liegen zuweilen noch ein bis zwei Tage unbeweglich, wie tot da, und zeigen eine bis zum äufsersten Minimum reduzierte Atmung und Herzthätigkeit, welche von aufsen durch die Glaswände des Versuches nur mittels eines guten Feldstechers erkannt werden kann. Das Verhalten der steril gezüchteten Hühnchen während ihrer Lebenstage bietet mancherlei Interessantes. Wie ich in meiner ersten Mitteilung bereits bemerkt hatte, war ich anfangs der Meinung, man müsse — etwa durch eine Glaswand von den sterilen Hühnchen getrennt — eine Henne mit einigen gleichalterigen Hühnchen einstellen, damit die mutterlosen Tiere durch Imitationstrieb das Aufsuchen und Fressen der Nahrung und des Wassers lernen könnten. Das ist aber durchaus nicht notwendig, sondern nachdem das ausgeschlüpfte Hühnchen sich, meist am zweiten Tage, auf die Füfse stellen kann, taumelt es noch einige Zeit unsicher hin und her, fällt wieder nieder und ruht stundenlang aus; dann aber steht und läuft es sicher

auf den Beinen und beginnt sofort mit dem Schnabel am Boden zu picken und von dort kleinkörnige Gegenstände aufzunehmen. Das Bodenmaterial besteht — wie früher beschrieben — aus gewaschenem kleinkörnigen Kies, gemischt mit der für junge Hühnchen geeigneten Nahrung: gequollene Hirsekörner, gehacktes hartgekochtes Eiweiß und zerstoßene Eierschalen. Man kann nun beobachten und auch durch die Untersuchung der Dejektionen feststellen, daß die Tierchen sehr bald die verschiedenen Körner zu unterscheiden wissen, nur wenige Steinchen aufnehmen und sich an die Nahrungsmittel halten. Ebenso finden sie das Wasser und vermeiden es, hineinzufallen. In den allerersten Tagen kommt es wohl einmal vor, daß ein Hühnchen mit den noch ungeschickten Beinbewegungen über den Rand des Wasserbehälters stolpert und in das flache, etwa 1 cm hoch mit Wasser gefüllte Becken hineinfällt; aber sofort erhebt es sich und stolpert oder wälzt sich wieder über den Rand aufs Trockene. Die instinktive Selbständigkeit dieser Tiere ist eine ganz eminente!

Eine andere, ebenfalls sehr interessante Erscheinung drückt sich darin aus, daß die steril gehaltenen Hühnchen ständig Hunger haben und eigentlich fortwährend fressen — und verdauen bzw. Dejektionen absetzen. Das findet bei den sterilen Hühnchen in ungleich höherem Maße statt als bei den normal ernährten Tieren. Auch bei letzteren ist ja — wie man sich auf jedem Hühnerhofe überzeugen kann — der Darmkanal von einer beneidenswerten Leistungsfähigkeit! Aber diese steril gezüchteten Tierchen übertreffen in der Fresslust und in der Ausscheidung des Darminhaltes die normal genährten Kontrolltiere um das Vielfache.

Die steril gehaltenen sind auch viel unruhiger; sie jagen eben fortwährend nach Nahrung umher. Wenn eines ein Stückchen Eierschale oder sonst ein Körnchen ergriffen hat, welches es nicht gleich hinunterschlucken kann, so suchen die andern es ihm mit allen Mitteln abzujagen; dann schlingt es das erste mit Mühe hinunter und alle fallen aufs neue über die auf dem Boden verstreute sterile Nahrung her.

Und trotz dieses fortwährenden Fressens und trotz des Verdauens durch die Körpersäfte wachsen die Tiere nicht, sondern nehmen ständig ab an Körpergewicht und an Kräften!

Als Ergebnis der Versuche aus dem Jahre 1899 haben wir also fünf steril gezüchtete und spontan verendete Hühnchen zu verzeichnen, von denen dasjenige, welches am längsten lebte, ein Alter von 29 Tagen — vom 16. April bis 15. Mai — erreichte. Dieses Hühnchen wog beim Ausschlüpfen 51 g und tot 36 g, hatte also 15 g oder über 29% seines Körpergewichtes während der 29 Lebenstage eingebüßt. Das entsprechende Kontrollhühnchen hatte inzwischen um 77 g oder um etwa 154% seines Körpergewichtes zugenommen. Die übrigen Versuchstiere dieses Jahrganges verhielten sich bezüglich ihres Gewichtsverlustes bzw. der Gewichtszunahme etwa proportional der Lebensdauer und dem Anfangsgewicht — wie aus der unten stehenden Tabelle ersichtlich ist —, nur das Hühnchen Nr. 5 zeigte bei einer Lebensdauer von 25 Tagen einen noch größeren Gewichtsverlust als das oben erwähnte 29 Tage alte Tier, nämlich 18 g oder 36% seines Körpergewichtes; während das entsprechende Kontrollhühnchen um 100% seines Körpergewichtes zugenommen hatte.

Im Jahre 1900 erzielten wir keine besonders guten Resultate, weil ich von meiner Studienreise nach Bombay erst Anfang Mai zurückkehrte und die Brutperiode daher nicht vollständig ausgenutzt werden konnte. Außerdem hatten wir noch ein besonderes Mißgeschick insofern, als bei einem der Versuche, bei welchem, wie gewöhnlich, sechs bis zum 19. Tage im Brutapparat vorgebrütete Eier in den Zuchtkäfig eingelegt waren — alle sechs Hühnchen zum Ausschlüpfen kamen und nach einigen Tagen munter im Käfig umhersprangen. Da ich den  $\frac{1}{3}$  Quadratmeter Bodenfläche umfassenden Zuchtkäfig für zu klein hielt, um gleichzeitig sechs Hühnchen die nötige Bewegungsfreiheit zu bieten (bei allen übrigen Versuchen waren durchschnittlich zwei, höchstens drei Hühnchen von sechs Eiern ausgeschlüpft), so entschloß ich mich am sechsten Tage, den Trupp zu teilen und drei Stück in einen inzwischen konstruirten und natürlich gründlichst sterili-

Extra-Käfig einzusperren. Bei dieser Prozedur mußte der große Glasverschlag mehrere Male geöffnet und betreten werden, Nahrung und Wasser mußten für die abgetrennten Hühnchen frisch sterilisiert und kontrolliert werden, dann wieder die Kontrolle der Dejektionen, abgestoßenen Federn etc. vorgenommen werden, — kurzum, eines Tages zeigten sich sämtliche Kontrollproben durch einen schleimbildenden Schimmelpilz verunreinigt und alle sechs Hühnchen waren für unseren Versuch verloren.

Immerhin hatten wir auch im Jahre 1900 drei steril gezüchtete Hühnchen bis zum spontanen Tod durchgebracht, von denen das älteste 30 Tage lang lebte und während dieser Zeit 17 g oder etwa 32% seines Körpergewichtes einbüßte, während das Kontrollhühnchen 62 g oder 117% gewonnen hatte.

Die für das Jahr 1900 gestellte Aufgabe war eigentlich die gewesen, daß nunmehr nach jeweiliger Feststellung der Sterilität der Versuchstiere mit der Verfütterung bestimmter Bakterienarten begonnen werden sollte, aber wegen der üblen Zwischenfälle und Ablauf der Brutperiode mußte die Inangriffnahme dieser Aufgabe auf das Jahr 1901 verschoben werden<sup>1)</sup>.

Im Frühjahr dieses Jahres sollten nunmehr also die Versuche beginnen zur Entscheidung der Frage: ob die Verfütterung von Darmbakterien an steril gezüchtete Hühnchen einen Einfluß auf deren Ernährung ausübt, bzw. deren Lebensdauer verlängert oder nicht.

Zu diesem Zwecke wurde der sterile Zuchtkäfig, in welchem die sterilisierten Eier zum Ausschlüpfen gelangen, durch eine vertikal gerichtete bewegliche Glastafel in zwei Hälften geteilt, und zwar so, daß durch Einschieben der Glastafel zwischen zwei etwa 3 cm hohe Schienen der Zuchtkäfig in zwei vollständig getrennte Räume zerfällt. Der bakteriensichere Abschluß der beiden Räume untereinander macht gewisse Schwierigkeiten, da

---

1) Im September 1900 hatte ich die Freude, die bisher gewonnenen Präparate, welche früher schon der naturforschenden Gesellschaft in Freiburg vorgelegt waren, einer Anzahl von Professoren der Hygiene vorzeigen zu können, welche auf dem Wege zu den Versammlungen in Trier und Aachen das hygienische Institut in Freiburg besuchten.

die Hühnchen jedes Packungsmaterial, an welches sie gelangen können, anpicken und herauszupfen. Baumwolle oder Asbest läßt sich daher nicht verwenden. Wir haben uns schließlichs so geholfen, daß die auf Boden, Rückwand und Decke aufgelöteten Blechschienen, zwischen denen die Glastafel später eingeschoben werden soll, an ihrem freien Rand umgebogen und federnd gegen einander gedrückt wurden. Den Raum unterhalb des federnden Randes (welcher seiner Zeit der Glastafel fest anliegt) kann man dann mit Asbestwolle verstopfen, ohne daß die Hühnchen daran kommen können. Die vordere Wand des Zuchtkäfigs muß natürlich ebenfalls vorher zweigeteilt werden: ihre beiden, in Metallrahmen aufrecht stehenden Hälften sind in der Mittellinie des Käfigs um die Dicke der Glaswand voneinander entfernt; der so entstehende Schlitz wird also durch die eingesetzte Glastafel ausgefüllt, welche später — ganz hineingeschoben — die Trennungswand bilden soll. Die ganze Einrichtung funktioniert ähnlich wie der lichtdichte Abschluss der photographischen Doppelkassetten während der Exposition der Platte. Und wenn dort der Schiebdeckel wieder vor die Platte eingeschoben ist, so entsteht für unsern Fall durch das Einschieben der Glastafel die Zweiteilung des Zuchtkäfigs.

Ich verfolgte bei dieser Anordnung den Zweck, die steril ausgeschlüpften Hühnchen zunächst gemeinsam längere Zeit steril zu züchten. Am 12. bis 15. Tage, wenn die Tiere sichtbar abmatten, mager und schwach werden, dann wollte ich die trennende Glaswand einschieben und nun die oder das Hühnchen der einen Seite mit Bakterien versorgen, das der andern Seite aber sollte als Kontrolle spontan verenden. Zu diesem Zwecke mußten natürlich schon vorher beide Abteilungen, jede für sich, mit den entsprechenden Ventilationsöffnungen versehen sein, in jeder Abteilung mußte ein eigener Wasserbehälter aufgestellt und ein Futterplatz eingerichtet werden, sowie auch für Anbringung des Thermometers gesorgt sein.

Die Prüfung dieser Einrichtungen, welche ja schon im Verlauf des Winters vorbereitet waren, konnte natürlich nur durch den praktischen Versuch geschehen und bis die anfänglichen



Mifserfolge uns die Aubringung der einzelnen Verbesserungen des Apparates gelehrt hatte, war wiederum die Hälfte der Brutzeit verstrichen, so dafs erst der am 3. Mai begonnene Versuch für die Beantwortung der aufgestellten Frage verwertet werden konnte.

Am 3. Mai 1901 schlüpfen vier sterile Hühnchen aus und verhielten sich in den nächsten Tagen so, wie das schon vielfach beobachtet wurde. Von diesen vier Hühnchen waren allerdings zwei besonders schwach, so dafs wir uns entschlossen, schon nach 8 Tagen die trennende Glaswand einzuschieben, indem wir dafür sorgten, dafs in jede der beiden Abteilungen ein starkes und ein schwaches Hühnchen eingesperrt wurde.

Um zunächst einen prinzipiellen brauchbaren Versuch vorzuschicken, hatte ich die frisch déponierte Dejektion eines im Freien lebenden ausgewachsenen Huhnes in etwa 20 g Nährbouillon aufgeschwemmt und gafs nun diese trübe Flüssigkeit über den Boden der einen Käfighälfte aus, so dafs der Kies und die dazwischen liegenden Hirsekörner und auch der gröfsere Vorratshaufen der sterilen Nahrung, welcher in der hinteren Ecke des Käfigs aufgeschüttet ist, mit den frisch aufgeschwemmten Darmbakterien des Huhnes infiziert wurde; die letzten Tropfen der Aufschwemmung wurden dann noch dem Wasser zugefügt und nun der Versuch sich selbst überlassen. Die Hühnchen frafsen in beiden Abteilungen des Zuchtkäfigs wie vorher und zeigten auch am folgenden Tage, den 12. Mai, keinerlei bemerkenswerte Verschiedenheiten oder Änderungen in ihrem Verhalten, nur das schwache Hühnchen in der sterilen Abteilung war sehr matt und lag schon stundenweise auf dem Boden. Am 13. Mai war dieses Tier tot, wurde nachmittags in Gelatine eingeschmolzen und bei dieser Gelegenheit — da der Glaskasten ohnehin geöffnet werden mufste — konnten auch Kontrollproben aus der sterilen Abteilung zur bakteriologischen Untersuchung entnommen werden: Wasser, Kies, Hirse.

Glücklicherweise bestanden die Proben die Prüfung; bis hierher war also keine Infektion der sterilen Seite des Käfigs von der mit Darmbakterien infizierten eingetreten. — Übrigens

kam das schwache Hühnchen der mit Darmbakterien versorgten Seite auch nicht recht voran; es lebte zwar noch 5 Tage länger als das am 13. eingegangene, dann verendete es aber auch trotz der Darmbakterien. Da es ja infiziert war, wurde es in Alkohol eingelegt, zeigt übrigens keine bemerkenswerten Befunde bezüglich seines Gewichtes oder sonstigen Verhaltens. Dagegen trat der Unterschied in der Entwicklung zwischen den beiden kräftigen Hühnchen — dem sterilen und dem mit Darmbakterien — immer deutlicher hervor. Das letztere wuchs und gedieh zusehends, die Federn wurden glatt und blank, die Bewegungen kräftiger, ruhiger und sicherer, während das sterile Tier fortwährend Nahrung verschlang und auffallenderweise immer an der mittleren Glaswand hin- und herjagte, wie um zu dem anderen Hühnchen zu kommen. Am 20. Mai, dem 16. Lebenstage, wurde das Tier sichtlich matt und ging am 21. Mai zu Grunde; es zeigte einen Gewichtsverlust von 10 g oder etwa  $23\frac{1}{2}\%$  seines Körpergewichtes und war übrigens steril.

Das mit Darmbakterien gefütterte Hühnchen bekam nun wieder den ganzen Käfig eingeräumt, wurde noch bis zum 25. Mai beobachtet und dann ins Freie zu den anderen Kontrollhühnern gesetzt, woselbst es sich zu einem kräftigen Tiere inzwischen entwickelt hat. Das Anfangs-Gewicht dieses Tieres hatte 46 g betragen, sein Gewicht am Ende des Versuchs, ehe es ins Freie gebracht wurde, betrug 52 g. Das Hühnchen hatte also immerhin in den 14 Tagen seiner Bakterien-Ernährung um soviel gewonnen, dafs es den Verlust der achttägigen sterilen Fütterung gedeckt und noch um 6 g Körpergewicht zugenommen hatte.

Die beiden auf Tabelle II zu den am 13. und am 21. Mai eingegangenen sterilen Hühnchen vermerkten Kontrollhühnchen sind nicht diese beiden vorstehend beschriebenen im Zuchtkäfig mit Darmbakterien behandelten Tiere, sondern das sind die stets bei den Versuchen gleichzeitig frei gezüchteten Kontrollhühnchen.

Auf den Tabellen konnten die beiden ersten Darmbakterien-Hühnchen, und damit auch deren Kontrollhühnchen nicht eingetragen werden, da erstere nicht in die Rubrik »sterile«

gehören. — Der berichtete Versuch wurde am 25. Mai abgebrochen und das Hühnchen ins Freie gebracht, weil ich nicht eines einzigen, ohnehin bereits ausgenutzten Tieres wegen den ganzen Apparat besetzt lassen wollte.

Zu Ende Mai hatten wir nämlich wieder das Ausschlüpfen einer Serie angebrüteter Eier zu erwarten und mußten die verbleibenden sechs Tage benutzen, um den Glasverschlag und den Zuchtkäfig zu reinigen, zu desinfizieren, die frischen sterilen Materialien hinazubringen und Alles auf Keimfreiheit bakteriologisch zu prüfen.

Das war am 30. Mai fertig, die neuen Eier wurden sterilisiert, acht Stück in den Zuchtkäfig eingelegt und am 31. Mai schlüpften wiederum vier Hühnchen aus. Von den übrigen vier Eiern kamen zwei überhaupt nicht zum Schlüpfen — die Hühnchen waren durch die Manipulationen beim Desinfizieren der Eier abgestorben, bezw. so geschädigt, daß sie nicht mehr schlüpfen konnten — und die anderen beiden Hühnchen blieben im Ausschlüpfen stecken: eines lag, wie wir später sahen, mit dem Kopf nach unten und das andere konnte sich nicht von der Schale befreien. In der Natur hilft in solchen Fällen die Henne nach; aus den oben angeführten Gründen ist aber für unsere Versuche die Anwendung künstlicher Hilfsmittel nicht zu empfehlen.

Schon im zeitigen Frühjahr d. Js. hatte ich Herrn Dr. Ragner, zweiten Assistenten am Hygienischen Institut, beauftragt, die bereits früher von Dr. O. Korn angestellten bakteriologischen Untersuchungen normaler Hühnerdejektionen weiter fortzusetzen und zu spezifizieren. Die Arbeit ist inzwischen im Centralblatt für Bakteriologie veröffentlicht und hat ergeben, daß unter den bei jungen Hühnchen zuerst auftretenden Darmbakterien am massenhaftesten ein zur Gruppe des *Bacter. coli* gehöriger Spaltpilz auftritt, welcher auch in Dejektionen ausgewachsener Hühner niemals fehlt und hier im selben Verhältnis und unter gleichen Bedingungen vorkommt wie der *Bacillus coli comm.* des Menschen. Ja, dieser *bacillus coli gallinarum* ist dem *bacillus coli hominis* so ähnlich, daß unter entsprechend geänderten Züchtungsbedingungen gewifs eine absolute Identität beider Rassen zu

erzielen wäre. Frische, drei Tage alte Reinkulturen unseres bacillus coli gallinarum wurden stets vorrätig gehalten, und als die am 31. Mai ausgeschlüpften Hühnchen am 6. Juni noch bei guten Kräften waren — ich wollte nämlich nicht zum zweiten Male bis zur äußersten Kraftgrenze warten — wurde die Trennungswand eingeschoben, so daß je zwei der Hühnchen in jeder der beiden Abteilungen sich befanden. Gleichzeitig wurde dann die Bouillon-Aufschwemmung einer dreitägigen Agarkultur des bacillus coli gallinarum wiederum über die ganze Bodenfläche der einen Käfig-Abteilung ausgegossen, nachdem vorher noch einmal Kontrollproben von Wasser, Kies und Kot entnommen waren, welche die bestehende Keimfreiheit des Käfigs ergaben. So war der Versuch eingeleitet.

Am 7. und 8. Juni waren keinerlei Unterschiede oder Veränderungen der vier Hühnchen zu bemerken. Am 9. wurde eines der beiden sterilen Hühnchen sichtlich schwach und ging am 11. ein. Da inzwischen auch das andere sterile Hühnchen sich gelegt hatte und voraussichtlich bald verenden würde, so wurde der Glaskasten des einen toten Hühnchens wegen nicht geöffnet, sondern erst am 12. nachmittags, als auch bei dem zweiten sterilen Hühnchen der Tod eingetreten war, wurden beide gleichzeitig in Gelatine eingeschmolzen und blieben — wie die vorliegenden Präparate zeigen — steril.

Das zu dem am 11. Juni abgestorbenen Tiere gehörige Kontrollhühnchen wurde übrigens bereits ebenfalls am 11. getötet und nach Bestimmung des Gewichts in Alkohol eingelegt.

Die beiden mit *Bacterium coli gallinarum* gefütterten Hühnchen befanden sich inzwischen wohl und munter und wuchsen nach weiteren acht Tagen zusehends. Leider wurden diese beiden Hühnchen später infolge eines Mißverständnisses ins Freie gesetzt, wie bei dem vorhergehenden Versuch mit aufgeschwemmter Hühnerdejektion. Richtig wäre es natürlich gewesen, die Tiere bakteriologisch daraufhin zu prüfen, ob nur das *Bacter. coli gallinarum* im Darm vorhanden war und zur weiteren Kontrolle die beiden Hühnchen dann in Alkohol einzulegen.

Aber es sollte noch eine weitere Serie bebrüteter Eier Ende Juni zum Ausschlüpfen kommen; der Apparat mußte also wieder frisch desinfiziert und vorbereitet werden und dabei ist dann das Malheur passiert, daß die beiden Coli-Hühnchen, welche nun völlig den im Freien aufgewachsenen gleichkamen, herausgenommen und in den Hühnerhof eingesetzt wurden.

Zudem mißlang dann noch der letzte Züchtungsversuch vollständig: drei Hühnchen waren am 30. Juni ausgeschlüpft, aber die bakteriologische Kontrolle, welche beim Ausspritzen der Bact. coli-Kultur am 5. Juli vorgenommen wurde, ergab, daß ein Schimmelpilz und die gelbe Sarcine sich angesiedelt hatten, so daß die weitere Fortsetzung des Versuchs zwecklos war und damit für dieses Jahr die Versuchsreihe überhaupt abgeschlossen werden mußte.

(Siehe Tabelle I und II.)

Ein Rückblick auf die mitgeteilten Beobachtungen zeigt nun zunächst, daß trotz mancher Verbesserungen in der Anordnung der Versuche gegenüber den früheren Züchtungen noch immer technische Schwierigkeiten zu überwinden sind, um ein unanfechtbar reines Versuchs-Ergebnis zu liefern.

Tabelle I.  
Steril gezüchtete Hühnchen.

Nr.	Jahr	Monat	Tag	Tod am	Tage alt	Anf. Gew.	End-Gew.	Verlust
1	1899	März	28	8. April	11	46	31	15
2	1899	„	28	10. April	13	45	31	14
3	1899	April	16	7. Mai	21	48	38	10
4	1899	„	16	15. Mai	29	51	36	15
5	1899	Mai	25	19. Juni	25	50	32	18
6	1900	Mai	18	30. Mai	12	46	31	15
7	1900	„	18	30. Mai	12	45	32	13
8	1900	„	18	17. Juni	30	53	36	17
9	1901	Mai	3	13. Mai	10	46	36	10
10	1901	„	3	21. Mai	18	43	33	10
11	1901	„	31	11. Juni	10	40	32	8
12	1901	„	31	12. Juni	11	42	32	10

Tabelle II.  
Normal ernährte Kontroll-Hühnchen.

Nr.	Jahr	Monat	Tag	Getötet	Tage alt	Anf- Gew.	End- Gew.	Ge- winn
1	1899	März	28	8. April	11	47 <sup>g</sup>	54 <sup>g</sup>	7 <sup>g</sup>
2	1899	,	28	10. April	13	46	56	10
3	1899	April	16	7. Mai	21	49	118	69
4	1899	,	16	15. Mai	29	51	128	77
5	1899	Mai	25	19. Juni	25	49	98	49
6	1900	Mai	18	30. Mai	12	47	54	7
7	1900	,	18	30. Mai	12	46	54	8
8	1900	,	18	17. Juni	30	53	115	62
9	1901	Mai	3	13. Mai	10	48	54	6
10	1901	,	3	21. Mai	18	45	56	11
11	1901	,	31	11. Juni	10	39	43	4
12	1901	,	31	12. Juni	11	45	53	8

So lehrt ein Blick auf die tabellarische Übersicht der sterilen Hühnchen (Tafel I), daß sehr erhebliche Schwankungen im Gewichtsverlust bestehen, welche weder zu dem Anfangsgewicht der Hühnchen, noch zu der Lebensdauer in einer einigermaßen gesetzmäßigen Proportion stehen. Es wurde schon eingangs darauf hingewiesen, daß hier die angeborene »Lebensenergie« — ein leider unmeßbarer Faktor — gewiß eine wesentliche Rolle spielt, aber fast ist es noch bedauerlicher, daß ein viel platterer Faktor für das Endgewicht der Hühnchen sehr maßgebend ist: der nämlich, ob das Tier mit vollem oder mit leerem Kropf verendet. Stopft sich das Hühnchen vor dem Eingehen den Kropf noch einmal tüchtig voll, so kann es um 5 und mehr Gramm schwerer werden als ein gleiches Tier, das die Kraft verloren hatte, sein stets vorhandenes Hungergefühl kurz vor dem Tode noch einmal durch Füllung des Kropfes scheinbar zu befriedigen. Man könnte ja vielleicht vor dem Einlegen in Gelatine den Kropf aufschneiden und entleeren — eine immerhin mißliche Operation, wenn es sich um die Sorge handelt, das Tier möglichst schnell steril zu konservieren — jedenfalls ist das bis jetzt noch nicht geschehen, und so sehen wir in unseren Präparaten manche Tiere mit mehr oder weniger schlankem Hals

und andere mit dick gefülltem Kropf, und in den Tabellen figuriert der unverdaute Inhalt des Kroppes als Gewichtsgröße des Tierkörpers.

Darin liegt also noch ein Beobachtungsfehler, welcher überwunden werden muß.

Eine weitere Ungenauigkeit ergibt sich daraus, daß die im Freien normal ernährten Kontrollhühnchen sich nicht ganz so in ihrer Entwicklung verhalten wie die Hühnchen, welche durch eine Henne natürlich ausgebrütet sind und in den ersten Wochen durch die Henne beschützt werden. In letzterem Falle finden die Hühnchen nämlich auch während des Tages stundenlang Ruhe und gleichmäßige feuchte Lebenswärme unter den schützenden Flügeln der Henne, sparen dadurch an Kraft- und Wärmeverlust und werden für die Verwertung neuer Nahrungsaufnahmen besser vorbereitet. Die künstlich ausgebrüteten Hühnchen dagegen sind auch bei sorgsamster Pflege viel unruhiger, laufen und springen eigentlich fortwährend im ganzen Hühnerhof umher und entwickeln sich daher nicht so schnell, bezw. sie nehmen an Gewicht nicht so rasch zu, wie die Hühnchen unter der Henne. Fremde Hühnchen, die künstlich ausgebrütet sind, nimmt übrigens eine Henne nicht leicht an, sondern hackt im Gegenteil auf dieselben ein und verjagt sie von dem eigenen Schwarm. Nun trifft dieser Faktor zwar beide für unsere Versuche in Frage kommenden Gruppen: sowohl die steril gezüchteten als auch die normal ernährten Hühnchen und trübt daher nicht das relative Versuchsergebnis; immerhin entsprechen aber die auf der Kontroll-Tabelle (Tafel II) als Gewinn eingeschriebenen Zahlen nicht völlig den natürlichen Werten, sondern sind **geringer** als diese.

Um bei ferneren Versuchen bessere Brutergebnisse zu erzielen, würde ich es auch empfehlen, mindestens neben dem künstlichen Brutapparat mehrere Puterhennen mit Hühnereiern unterlegen zu lassen. Ein solches Tier ist ein äußerst sicher funktionierender Brutapparat und brütet 30 Hühnereier gleichzeitig aus. Der künstliche Brutapparat erfordert eine ständige, sehr mühevollere Kontrolle, bei dem täglich notwendigen Umlegen

der Eier treten stets Verluste ein und bei einem Versagen des Apparates steht unter Umständen die ganze 200 Eier betragende Einlage auf dem Spiele.

Schließlich würde ich empfehlen, statt der bei den letzten Versuchen beschriebenen verschiebbaren Trennungswand, welche den Brutkäfig in eine sterile und in eine für Bakterienfütterung bestimmte Hälfte teilt, lieber zwei Brutkäfige einzustellen und in jedem die sterilen Eier getrennt ausbrüten zu lassen. Die bakteriensichere Abtrennung der beiden Hälften ist sehr mißlich; wir wären gewifs schon in diesem Jahre weiter gekommen mit den Versuchen über Bakterienfütterung, wenn wir nicht diese häufigen Reparaturen an dem Verschlufs der Trennungswand gehabt hätten.

Aus allen diesen Mißständen und noch bestehenden Ungenauigkeiten kann man Einwände herleiten und die Beseitigung der Fehlerquellen fordern, aber man kann an der Richtigkeit des Prinzips nicht mehr zweifeln: dafs für die Ernährung der Tiere — speziell der warmblütigen Wirbeltiere — die Thätigkeit der Darmbakterien notwendig ist.

Dafür sprechen nicht nur allgemein wissenschaftliche Überlegungen, sondern vor allem die vorliegenden Ergebnisse der Züchtungsversuche steriler Hühnchen und damit stimmen auch alle bisher erzielten Versuchsergebnisse anderer Untersucher<sup>1)</sup>

1) Levin, welcher Gelegenheit hatte, die Natthorstsche Expedition im Sommer 1898 zu begleiten, hat die Behauptung aufgestellt — *Annales de l'Institut Pasteur* Bd. XIII —, dafs in den arktischen Zonen der Darminhalt der meisten warmblütigen Tiere absolut bakterienfrei sei. Dem gegenüber mufs doch daran erinnert werden, dafs sowohl die Vögel, als auch die Säugetiere der Polargegenden nur zeitweise in den Eisregionen sich aufhalten, übrigens aber Wandertiere sind und ihrer Nahrung nachziehen. Diese besteht — soweit die Tiere nicht untereinander sich auffressen — aus höheren Wassertieren: Fischen, Crustaceen etc., welche ihrerseits wiederum auf die in den wärmeren Meeresströmungen heimischen Lebewesen angewiesen sind, letztere sind aber — wie aus zahlreichen Untersuchungen, namentlich aus denen von Nordenskiöld und Nansen hervorgeht — durchaus nicht bakterienfrei, sondern enthalten niedere Organismen der verschiedensten Art in grosser Menge.

Wenn schon aus diesen Gründen der Darminhalt der arktischen Tiere nicht bakterienfrei sein kann, so stimmen damit auch die positiven Befunde



überein, selbst die von Nuttall-Thierfelder, wie ich das in meiner früheren Mitteilung nachgewiesen habe.

Neuerdings hat M<sup>me</sup> O. Metschnikoff<sup>1)</sup> die mühevolle Züchtung steril aus dem Ei entwickelter Froschlarven bis zum 63. Tage erfolgreich durchgeführt. Das Resultat war, daß die steril mit Brot ernährten Larven am Ende des Versuchs ein Gewicht von durchschnittlich 25 mg und eine Länge von 15,5 mm erreicht hatten, während die nicht steril, übrigens aber ganz gleich gehaltenen Kontrolllarven ein Durchschnittsgewicht von 142 mg und eine Länge von 26,5 mm aufwiesen.

Daraus zieht M<sup>me</sup> O. Metschnikoff unter Hinweis auf eine weitere Fortführung der Experimente mit Recht den Schluss, daß die Bakterien für das Leben und für das Wachstum der Froschlarven notwendig sind. Die Ergebnisse meiner Versuche über die sterile Züchtung von Hühnchen haben gezeigt, daß das gleiche Gesetz auch für die Entwicklung der Hühner gültig ist. Gewisse Zweifel an die Beweiskraft meiner früheren Versuche, welche M<sup>me</sup> O. Metschnikoff darin erblickt, daß die Desinfizierung der bebrüteten Eier mit Sublimat einen Einfluss auf die Widerstandskraft bzw. auf die Lebenskraft der ausgeschlüpften Hühnchen haben könne, können wohl damit beseitigt werden, daß die Wirkung des Sublimats nach der Tiefe hin örtlich eine sehr begrenzte ist und es ist auch nicht anzunehmen, daß bei einem intensiven Abwaschen der Oberfläche eines Eies die Sublimatwirkung mehrere Millimeter in die Tiefe dringt, ohne wahrnehmbare Veränderungen zu hinterlassen. Außerdem äußert sich das Vorhandensein minimalster Mengen Sublimats an den in Nährgelatine eingelegten sterilen bebrüteten Eiern und Eierschalen stets in Form des Auftretens einer dunklen schwarzbraunen Zone in der Gelatine um das Ei — wohl infolge von

aller übrigen Beobachter überein, so namentlich diejenigen von H. Chauveau, welcher als Teilnehmer der Expedition des Fürsten von Monaco im Jahre 1900 speciell die Levinschen Angaben kontrolliert hat und dabei zu entgegengesetzten Resultaten wie Levin, d. h. ausnahmslos zum Nachweis von Bakterien im Darminhalt von Robben, Füchsen und von zahlreichen arktischen Vogelarten gekommen ist.

1) Annales de l'Institut Pasteur, Bd. XV, p. 631.

Reduktion des Quecksilbers. Solche Kontrolleier und Schalen, welche regelmässig eingelegt wurden, sind aus der ersten Zeit unserer Experimente noch in grösserer Anzahl vorhanden. Später wurde aber jede Spur von Sublimat an den Eiern durch mehrmaliges Abreiben, Abbürsten und Abspülen mit Kochsalzlösung und Abtrocknen mit steriler Watte vollständig ausgeschlossen. In den letzten Jahren haben wir ausserdem die mit Sublimat desinfizierten Eier mit Schwefelleber behandelt und dadurch auf chemischem Wege das Sublimat zerstört.

Übrigens hätte sich eine Sublimatwirkung natürlich auch bei den Kontrollhühnchen äussern müssen, deren Eier ganz gleich behandelt wurden wie die der steril gezüchteten. Da diese Tiere aber im ganzen gut gediehen sind, wenigstens an Gewicht normalerweise zugenommen haben, so hat entweder eine nachteilige Wirkung des Sublimats auf die Eier nicht stattgefunden oder, wenn sie stattgefunden hat, so muss sie sich auf die sterilen und auf die Kontrollhühnchen gleicherweise geäußert haben und kann also die Schlussfolgerungen, welche sich aus dem relativen Verhalten der Versuchstiere ergeben, nicht beeinträchtigen.

Gewiss darf man nicht generalisieren und aus den speciellen Ernährungsbedürfnissen einer Species die gleichen Bedingungen für eine andere Art erschliessen wollen, aber darin geht M<sup>me</sup> O. Metschnikoff doch wohl etwas zu weit, wenn sie die verschiedenen Versuchsergebnisse der Nuttall-Thierfelderschen Versuche an Meerschweinchen und meiner Versuche an Hühnchen aus den verschiedenen bakteriellen Bedürfnissen der beiden verschiedenen Tierspecies erklären will; dazu sind doch die Ernährungsbedingungen der warmblütigen Wirbeltiere einander zu ähnlich als dass man derartige prinzipielle Verschiedenheiten zwischen der Ernährung von Hühnern und der von Meerschweinchen voraussetzen könnte. Andererseits möchte ich auch nicht in der Generalisierung so weit gehen, und die Ernährung der »Mites« mit denen der höheren »Wirbeltiere« vergleichen. Es sind wohl die Saugmilben, speciell die Zecken gemeint, von denen M<sup>me</sup> Metschnikoff berichtet, dass ihnen die niederen Organismen nicht nur nicht schädlich sind, sondern im Gegenteil

zur Nahrung dienen. Letzteres kommt auch bei den höheren Wirbeltieren und beim Menschen vor, sehen wir doch, daß z. B. mit dem Traubenmost dem menschlichen Magen sehr beträchtliche Mengen von Hefepilzen zugeführt werden, die doch gewiß vom Körper verdaut werden und ihm zur Nahrung dienen, wie eine lebendige Auster verdaut und zur Nahrung wird. Alle die ungeheuren Massen von Spaltpilzen, welche der warmblütige tierische Körper eben infolge seiner hohen Temperatur — diesem mächtigen Schutzmittel im Kampf gegen niedere Organismen — abtötet, sie unterliegen doch der Zersetzung durch die Verdauungssäfte und es ist kein Grund dagegen anzuführen, daß das peptonisierte Mykoprotein nicht aufgenommen und im Körper weiter verarbeitet werden sollte.

Welche Bedeutung diese Verarbeitung hat, das läßt sich zur Zeit wohl noch nicht erkennen. Wenn wirklich so viel verschiedene »Stoffe« in den Körpersäften und Geweben kreisen, wie sie mit Namen genannt werden, so werden sich dieselben wohl aus Bezugsquellen ersetzen müssen, unter denen der Darminhalt noch am ehesten in Betracht kommen dürfte. — Übrigens stehen die Ergebnisse meiner Versuche nicht im Gegensatz zu den von Nuttall und Thierfelder veröffentlichten Mitteilungen über die sterile Ernährung von Meerschweinchen, und ich verdanke — wie aus der Anordnung meiner Versuche ersichtlich ist — den Nuttall-Thierfelderschen Experimenten eigentlich die Anregung zu meinen Versuchen. Nur in der Deutung der Versuchsergebnisse hatte ich eine andere Meinung zu vertreten und um dazu eine positive Unterlage zu haben, entschloß ich mich zu dem Versuche, mit Hühnereiern zu arbeiten.

Es scheint mir nach meinen jetzigen Erfahrungen die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß die Nuttall-Thierfelderschen Versuche mit gutem Erfolge wieder aufgenommen und weiter fortgesetzt werden können. Zu einer Verwertung für die Ernährungstheorie bzw. für die Bedeutung der Darmbakterien können diese Versuche aber erst dann herangezogen werden, wenn bei den Meerschweinchen an Stelle der Milchernährung die normale Pflanzennahrung dieser Tiere getreten ist.

Die Milch, welche bei den Hühnchen durch das Hühner-eiweiß im Ei ersetzt wird, bildet einen für das Junge bestimmten Teil des mütterlichen Organismus, und das junge Tier steht überhaupt noch nicht auf dem Boden einer eigenen Ernährung, so lange es auf die Funktion des mütterlichen Körpers angewiesen ist, gerade so wenig, wie man beim Hühnchen im Ei von einer selbständigen Ernährung sprechen kann, so lange noch das mütterliche Hühnereiweiß resorbiert wird.

Dann erst kommt die Bedeutung der Darmbakterien für die Ernährung in Frage, wenn das Individuum, mag es nun ein Huhn oder ein Meerschweinchen oder sonst ein Tier oder der Mensch sein, unabhängig vom mütterlichen Organismus sich zu erhalten hat. Alle diese so bedeutungsvollen Versuche würden natürlich damit erst einen voll befriedigenden Abschluss erreichen, wenn es gelänge, das Gesetz von der Notwendigkeit der Darmbakterien für die Ernährung auch durch den Versuch am Säugtier zu bestätigen.

Zur Ausführung solcher Versuche am Meerschweinchen müßten aber bedeutende äußere Mittel bereit gestellt werden, über welche das hiesige hygienische Institut zur Zeit jedenfalls nicht verfügt, so werden also vorerst die Versuche mit steril gezüchteten Hühnchen den Ausgangspunkt für die weiteren Untersuchungen in dieser Frage bilden müssen.

Zunächst wird es darauf ankommen, den Versuch mit dem *Bacillus coli gallinarum* mehrmals rein durchzuführen; derart, daß Hühnchen in einem thunlichst vorgeschrittenen Wachstumsstadium vorliegen, und ausschließlich den *Bacillus coli gallinarum* enthalten. Der Grad der Entwicklung dieser Hühnchen sollte dann nicht nur mit dem der steril gezüchteten Tiere verglichen werden, sondern namentlich auch mit dem der im Freien aufgewachsenen Kontrollhühnchen. In dieser Weise müssen jedenfalls die wichtigsten der konstant im Hühnerdarm vorkommenden Spaltpilzarten einzeln und kombiniert auf ihre Wirkung geprüft werden. Dazu muß sich die histologische und die chemische Untersuchung der steril gezüchteten und der mit Bakterien gefütterten Tiere gesellen. Sodann bietet gerade das Huhn Ge-

legenheit, eine Reihe pathogener Spaltpilze zu studieren, welche vom Darm aus wirken, so dafs vielleicht auch in Bezug auf die Pathologie des Darmrohres aus solchen Versuchen Aufschlüsse erwartet werden können.

Ob und in welcher Weise dann die Ergebnisse dieser Untersuchungen für die menschliche Pathologie praktisch verwertet werden können, das wird wohl einer ferneren Zukunft vorbehalten bleiben. Ausgeschlossen scheint es aber keineswegs, dafs die bessere Kenntniss der normalen biologischen Vorgänge im Innern des Darmrohres dazu führen wird, dafs nicht nur die Physiologie der Ernährung daraus Nutzen zieht, sondern dafs auch die Pathologie des Darmrohres mit besserem Erfolg als bisher die Gründe für die Entstehung mancher Darmkrankheiten wird aufklären können.

Unsere »Pest« in Deutschland ist bekanntlich nicht die Bubonenpest, sondern es ist der Typhus. Nachdem alle bisher angewandten Mittel zur Bekämpfung dieser Krankheit es nicht haben verhindern können, dafs Jahr aus Jahr ein schwere Typhusepidemien zum Ausbruch kommen, da sollte man keinen Weg unbenutzt lassen, der zur Aufklärung des dunklen Zusammenhanges der Typhusbacillen mit dem *Bacillus coli* führen kann. Der Weg von der physiologischen Wirkung des *Bacillus coli gallinarum* im Hühnerdarm bis zur erfolgreichen Bekämpfung des Typhusbacillus im menschlichen Darmrohr mag wohl ein weiter sein, es ist aber der einzige, von dem aus die physiologischen und die pathologischen Vorgänge des tractus intestinalis verständlich sind und daher wird dieser Weg — mag es früher oder mag es später sein — besritten werden müssen, und er wird zum Ziele führen.

So viel steht schon jetzt fest, dafs sowohl für das Leben der Pflanzen als auch für die Ernährung der Wirbeltiere und für den Menschen die Thätigkeit der Darmbakterien notwendig ist.

**Ueber die  
Konstanz der Sporenkeimung bei den Bacillen und ihre  
Verwendung als Merkmal zur Artunterscheidung.**

Von

**Dr. Georg Caspari,**

Zahnarzt aus Rummelsburg in Pommern.

(Aus dem hygienischen Institut in Würzburg.)

(Mit Tafel I.)

Die Zahl der in den letzten 25 Jahren neugefundenen Bakterienarten ist so bedeutend angewachsen, daß ihre systematische Einteilung die größten Schwierigkeiten bereitet, nicht zum wenigsten wegen der großen Variabilität der morphologischen und biologischen Charaktere.

Lehmann und Neumann<sup>1)</sup> haben in ihrer Bearbeitung der Bakteriologie wohl zuerst systematisch darauf hingewiesen, und sind für ihre Anschauung mit umfangreicherem Material hervorgetreten. Farbstoffbildung, Verflüssigung der Gelatine und andere chemische Leistungen werden dort als ebenso variabel bezeichnet wie die Pathogenität, ja auch die morphologischen Qualitäten, auf die eine Systematik sich in erster Linie stützen muß: Größe, Form und Anordnung der Zellen, Begeißelung und Sporenbildung erscheinen als schwankend in ziemlich erheblichem Umfange. Sind auch die Beobachtungen, welche die Autoren für jede einzelne dieser Angaben anführen, nicht immer

---

1) Lehmann und Neumann, *Bakteriologie und bakteriologische Diagnostik*. München, Verlag von J. F. Lehmann, 1. Aufl., 1896.

zahlreich, so genügen sie in ihrer Gesamtheit, um den gewünschten Eindruck hervorzubringen, daß die Schwierigkeit der Systematik der Bakterien in erster Linie in deren Variabilität liege.

Von den bakteriologischen Merkmalen, die zur Aufstellung einer Systematik der Bakterien geeignet erscheinen, ist die Art der Sporenceimung und deren Konstanz bisher ziemlich wenig geprüft worden. Wohl haben Cohn<sup>1)</sup> und insbesondere Prazmowski<sup>2)</sup> darüber wichtige Angaben gemacht, doch hat erst in neuester Zeit Burchard, unter Leitung von Prof. Migula in Karlsruhe, der Sporenceimung besondere Aufmerksamkeit geschenkt mit dem Resultate, daß der Vorgang der Sporenceimung bei jeder Art eine sehr konstante Eigenschaft sei, während sich die verschiedenen Arten durch sehr verschiedene Sporenceimung unterscheiden. Einzelne andere Autoren haben kleinere Arbeiten publiziert, die nicht mit Burchard übereinstimmen, und auf die ich später zu sprechen komme.

Professor Dr. K. B. Lehmann, der mit Dr. Hirai an einigen Arten die Konstanz der Sporenceimung studierte, kam zu Resultaten, die die Angaben Burchards als höchst auffallend erscheinen ließen, so daß derselbe wünschte, die Frage möge durch möglichst sorgfältige und kritische Untersuchung von neuem bearbeitet werden. Ich unterzog mich dieser Aufgabe um so lieber, als gerade die Gruppe der sporentragenden Bacillen eine Menge theoretisch und praktisch wichtiger Arten einschließt.

Die Sporen sind als die Dauerzustände der Bakterien erkannt worden, welche von letzteren gebildet werden, sobald der Nährboden für die Existenz derselben ungeeignet geworden ist. Hierfür spricht auch besonders die wohl von keiner Seite

1) Cohn, Untersuchungen über Bakterien. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, I. Heft 2, 1872. — Untersuchungen über Bakterien. IV. Beiträge zur Biologie der Bacillen, Beiträge zur Biologie der Pflanzen, II, 1876, Heft 2.

2) Prazmowski, Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Leipzig, 1880. — Zur Entwicklungsgeschichte und Fermentwirkung einiger Bakterienarten. Botanische Zeitung, 1877.

bestrittene Erfahrung, daß eine Auskeimung von Sporen auf demselben Nährboden nicht vor sich geht. Für das Auskeimen von Sporen sind als Bedingung erkannt worden: 1. unverbrauchter und für die bestimmte Bakterienart geeigneter Nährboden, 2. Feuchtigkeit und Wärme, 3. für viele Arten Sauerstoff. Die Keimung der Sporen leitet sich bei allen bisher beobachteten Arten in der gleichen Weise ein: die reife, vorher stark lichtbrechende und deutlich konturierte Spore beginnt, unter zur Auskeimung geeignete Bedingungen gebracht, im günstigsten Falle nach ca. ein bis zwei Stunden anzuschwellen, mit dieser Anschwellung ihren starken Lichtglanz zu verlieren, ihre Kontur runder und unbestimmter zu gestalten und allmählich an einer gewissen Stelle das Keimstäbchen hervortreten zu lassen. Je nach der Art nun, wie dieses Stäbchen die Membran verläßt, lassen sich drei verschiedene Modi, welche jedoch nicht ohne Übergänge sind, unterscheiden.

1. Keimung des Stäbchens unter Verquellen der Membran: Die Spore streckt sich in die Länge, die Kontur wird undeutlicher, der Lichtglanz erlischt, und diese Veränderungen gehen so lange langsam vorwärts, bis die Spore in Gestalt und Aussehen vollkommen einem Stäbchen gleicht, welches sich nach einiger Zeit teilt.

In keinem Stadium kann man auch nur die geringste Abhebung einer Sporenmembran beobachten. Man muß dann annehmen, daß sich entweder die Sporenmembran einfach zur Membran des jungen Stäbchens entwickelt oder, was wahrscheinlicher ist, »sie verschleimt und entzieht sich so der direkten Beobachtung« (Migula).<sup>1)</sup> Als Typus kann die von Klein bei seinem *Bacillus leptosporus* beschriebene Keimung gelten. Auch Burchard<sup>2)</sup> beobachtete während der Keimung seines *Bacillus leptodermis* nie eine abgestreifte Sporenmembran. Er erklärt das »durch die infolge ihrer (der Sporenmembran) sehr zarten

1) Migula, System der Bakterien. Jena, 1897.

2) Burchard, Beiträge zur Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien. Arbeiten aus dem hygien. Institut Karlsruhe.



Struktur bewirkte, fast momentane Verquellung nach der Abstoßung; oder aber die alte Sporenhaut streckt sich direkt zur neuen Bakterienmembran, was allerdings weniger wahrscheinlich ist.

2. Polare Keimung: Die Sporenmembran zeigt eine deutliche Abhebung während der Keimung und zwar so, daß das Stäbchen durch einen polaren Riß in der Sporenhaut ausschlüpft. Hierher gehören der Milzbrandbacillus und seine nächsten Verwandten.

3. Äquatoriale Keimung: Das Stäbchen schlüpft durch einen äquatorialen Riß der Sporenhaut hervor. *Bacillus subtilis* und seine Verwandten.

Als Unterarten dieser Typen sind zunächst:

a) die schräge Auskeimung zu erwähnen, bei der das Stäbchen weder rein polar, noch rein äquatorial aus der Membran hervorbricht,

b) die hufeisenförmige Auskeimung, bei der zwar ein äquatorialer Einriß der Membran erfolgt, das keimende Stäbchen sich jedoch in der Längsrichtung der Spore bildet, somit im Moment der Keimung sich mit dem gewölbten Rücken hufeisenförmig aus der Membran hervordrängt, indes die Stäbchenenden von der Membran umschlossen bleiben.

Diese Haupttypen der Sporenkeimung sind durch Übergänge miteinander verbunden, doch hat nach Migula und Burchard jede Art ihre besondere Form der Sporenkeimung, die sie von allen anderen Arten unterscheidet.

Inwieweit diese Konstanz besteht und inwieweit somit die Sporenkeimung zur Artunterscheidung der Bakterien zu verwenden, soll durch die folgenden Untersuchungen festgestellt werden.

Diese Untersuchungen wurden im hygienischen Institut der Universität Würzburg unter Leitung von Herrn Prof. Lehmann gemacht.

## I. Teil. Untersuchungen.

Als ich diese Arbeit begann, bestanden zunächst die Hauptschwierigkeiten in der Beherrschung der Temperaturverhältnisse. Zur Erwärmung des Mikroskops benutzte ich den bekannten Zeifsschen Wärmekasten. Ich habe bei unserem Apparat durch eine gröfsere Reihe Untersuchungen konstatiert, dafs zwischen der am Regulator eingezeichneten Scala und der im Apparat durch ein Thermometer angezeigten Wärme, je nach dem Gasdruck, eine Differenz von  $3-4^{\circ}$  vorhanden ist. Weiterhin war zu beachten, dafs zur Erhaltung konstanter Temperaturen eine genügende Vor- und Durchwärmung des Mikroskops unbedingt notwendig ist. Es hat sich gezeigt, dafs hierfür eine Zeit von mindestens 60 Minuten, besser 90 Minuten, erforderlich ist. Unter Berücksichtigung dieser Beobachtungen ist es mir gelungen, meine Untersuchungen bei konstanten Temperaturen vorzunehmen. Ich habe als beste Keimungstemperatur für die von mir beobachteten Arten  $32-34^{\circ}$  erkannt, und soweit im folgenden nicht anders hervorgehoben, meine Beobachtungen bei dieser Temperatur vorgenommen. Ich will schon an dieser Stelle bemerken, dafs gerade bei den Keimungsbeobachtungen, um gleiche Resultate zu erhalten, konstante Temperaturen zu den Hauptvorbedingungen gehören, dafs schwankende Temperaturen nicht unwesentlich, besonders auf die Zeitverhältnisse einzuwirken vermögen.

Als Nährböden wurden in erster Linie Agar, dann Gelatine und Bouillon in der gewöhnlichen Zusammensetzung benutzt. Der gewöhnliche Agar hat vor der Gelatine und der Bouillon den Vorzug, dafs man die Sporen auf dem Deckglase wegen der Festigkeit des Agar nicht so fest anzukleben braucht, was für den Keimungsverlauf nicht ohne Einflufs zu sein scheint; dafs weiterhin die sogenannte Molekularbewegung, welche fast regelmäfsig bei den Beobachtungen in Bouillon von Anfang an die genaue Untersuchung stört, wesentlich vermindert wird. Ein weiterer Nachteil der Bouillon ist die gelbliche Färbung des Gesichtsfeldes, welche oft feinere Lichtbrechungsunterschiede zu

erkennen verhindert. Auch die Gelatine verlangt festeres Ankleben des Materials.

Im Verlaufe meiner Untersuchungen bin ich nun so verfahren, daß ich zunächst die Reihe der von Burchard als neue Arten beschriebenen Bakterien nachuntersuchte. Ich bezog dieselben von Kral aus Prag. Weiterhin untersuchte ich dann noch eine Reihe selbstgezüchteter Bakterien. Da es für diese Arbeit nicht von Interesse schien, dieselben näher zu bestimmen, habe ich dies unterlassen und mich begnügt, ihrer Herkunft eine indifferente Bezeichnung als Unterscheidungsmerkmal beizufügen.

Zur Methodik will ich erwähnen, daß ich zunächst bestrebt war, reines Sporenmateriale zu erhalten. Stäbchendetritusmassen im Gesichtsfelde können auf die Beobachtung im höchsten Grade störend einwirken. Anfangs bin ich so verfahren, daß ich nach Burchard das betreffende Material in sterilisiertem Wasser oder Bouillon aufschwemmte, ca.  $\frac{1}{2}$  Stunde auf  $70^{\circ}$  C. erwärmte, um auf diese Weise die noch vorhandenen lebenden Stäbchen abzutöten und ihren Detritus zum Verquellen zu bringen. Ich kam mit dieser Methode nur in seltenen Fällen zum Ziel. Einmal genügte die Temperatur nicht immer, um alle Detritusmassen zum Verquellen zu bringen. Dann lag auch die Gefahr nahe, daß durch das Erwärmen der Sporen in irgend welcher Richtung auf dieselben eingewirkt werde. Jedenfalls habe ich bemerkt, daß das so behandelte Material niemals so regelmäÙsig keimte wie auf andere Methode gewonnenes.

Somit griff ich zu dem mehr Zeit raubenden Mittel, welches auch von Burchard zuweilen angewandt worden ist: durch längeres Verweilen bei geeigneter Temperatur in demselben Nährboden die Stäbchen zum Sporenbilden zu zwingen und ihre Detritusmassen zum Schwinden zu bringen. Für die von mir gezüchteten Arten genügte in den meisten Fällen schon eine Temperatur von  $37^{\circ}$  und eine Zeitdauer von 2—3 Tagen, um vollkommen reines und für die Beobachtung geeignetes Sporenmateriale zu erhalten. In anderen Fällen war zuweilen eine Zeitdauer von mindestens 6—8 Wochen erforderlich, um einiger-

matischen reines Material zu erhalten. Bei einigen Burchardschen Arten, die schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden weitergezüchtet waren, kam ich aber auch auf diesem Wege nicht in den Besitz reinen Sporenmaterials. Ich versuchte deshalb mit Hilfe von Färbungsverfahren die vegetativen Elemente abzutöten und zu kennzeichnen, aber auch dieses Hilfsmittel lieferte mir die gelohnten Resultate nicht. Aus diesem Grunde mußte das nähere Studium dieser Burchardschen Arten unterbleiben.

Die Präparate wurden in der Weise angefertigt, daß mit einer geglähten Platinöse eine geringe Menge des vorbereiteten Materials auf einem sterilen Deckglas verrieben, das Material an der Luft getrocknet und mit dem Nährboden versehen wurde. Untersuchungen mit Gelatine und besonders Bouillon machen (im Gegensatz zu denen mit Agar) ein vorsichtiges Erwärmen und Antrocknen über der Flamme erforderlich.<sup>1)</sup>

Das so mit dem Nährboden versehene Präparat wird alsdann mit Paraffin oder Vaseline auf einem hohlgeschliffenen Objektträger befestigt.

#### Versuche.

In der nachfolgenden Beschreibung meiner Versuche will ich nun so vorgehen, daß ich, soweit es sich um Burchardsche Arten handelt, meinen Untersuchungen zum Vergleich die Keimungsbeobachtungen Burchards in kurzem Auszuge vorausschicke. Ich will an dieser Stelle erwähnen, daß ich aus meinen sehr zahlreichen Beobachtungen (ca. 25—30 von jeder Bakterienart) je einen als besonders gelungen zu bezeichnenden Versuch voranstelle und die anderen Versuche mit derselben Bakterienart, soweit sie nichts Neues bieten, nur kurz erwähne. Es sei auch nicht übergangen, daß eine nicht unbeträchtliche Anzahl von Versuchen aus bisher zum Teil unaufgeklärten Gründen trotz sorgfältiger und gleichmäßiger Anfertigung der Präparate scheiterte. Bei einem gewissen Prozentsatz dieser als mißglückt

1) Bei dem Antrocknen der Präparate über der Flamme muß man sehr vorsichtig verfahren, da meine so behandelten Präparate, wenn sie überhaupt keimten, große Variationen in der Auskeimungszeit zeigten.

zu bezeichnenden Versuche war teils das Präparat zu undeutlich, teils die zu untersuchenden Sporen zu klein, um überhaupt zu irgend welchen positiven Schlüssen Berechtigung zu geben, teils auch hatte ich besonders in der letzten Hälfte des Sommers mit ungünstigen und wechselnden Lichtverhältnissen zu kämpfen. Letztere Unannehmlichkeit wurde im Winter dadurch etwas gehoben, daß ich die ganzen Untersuchungen bei Glühlicht vornahm, welches wenigstens den Vorzug der gleichmäßigen Lichtstärke hatte.

Um möglichst objektive Urteile über das Gesehene zu fällen, habe ich außer der Burchardschen Arbeit alles Litteraturstudium während meiner Beobachtungen vermieden. Es genügt deshalb wohl die Bemerkung, daß ich nur das in meinen Zeichnungen wie auch in meinem Protokoll aufgenommen habe, was ich deutlich gesehen habe. Alles Undeutliche oder durch die Beobachtung nicht als sicher Erwiesene wird stets im nachfolgenden so bezeichnet werden. Nachdem dann meine Untersuchungen zu einem gewissen Abschlusse gelangt waren, begann ich meine Litteraturstudien, welche ich nicht verhehlen will, einige genauere Nachuntersuchungen notwendig machten. Es wurden untersucht:

a) Burchardsche Arten (von Kral bezogen):

1. *Bacterium perittomaticum*.
2. *Bacillus goniosporus*.
3. *Bacterium Petroselini*.
4. *Bacterium Filamentosum*. E. Klein.
5. *Bacterium angulans*.
6. *Bacillus loxosporus*.

b) Durch die Freundlichkeit des Herrn Kollegen Zierler erhalten:

7. *Bacillus gangraenosus pulpae*.

c) Selbstgezüchtete Arten:

8. *Bacillus* aus der Luft gezüchtet von Herrn Professor Lehmann.
9. *Heubacillus* 1.
10. *Heubacillus* 2.

Ich will gleich an dieser Stelle hervorheben, daß die von Kral bezogenen Burchardschen Bakterienarten im wesentlichen in ihren morphologischen und physiologischen Eigenschaften mit den von Burchard als charakteristisch angegebenen übereinstimmen, so daß ich diesen Faktor nicht mehr bei jeder einzelnen untersuchten Art zu erwähnen brauche. Der von Herrn Kollegen Zierler zur Verfügung gestellte *Bacillus gangraenosus pulpae* ist mit dem von Arkövy aus der gangränösen Zahnpulpa gezüchteten *Bacillus* sehr ähnlich. Der *Bacillus* aus der Luft wurde von Herrn Prof. Lehmann als zufälliger Befund einer anderen Kultur kultiviert, während *Heubacillus* 1 und 2 von mir aus Heuinfus nach bekannter Methode gezüchtet wurden. — Nach der Lehmann-Neumannschen Terminologie wären alle Burchardschen neuen Arten als »Bacillen« zu bezeichnen, ich habe eine Umtaufung unterlassen, weil ich mir nicht klar darüber war, inwieweit die von Burchard aufgestellten Arten als neu zu bezeichnen seien.

#### 1. *Bacterium perittomaticum* Burchard.

Burchard beobachtete, daß sich nach 45 Minuten die ersten Veränderungen an den neu eingelegten Sporen zeigten; nach 2 Stunden 40 Min. hatten alle ihren Glanz verloren und waren mit einer Ausnahme alle stark angeschwollen. Der Moment der Auskeimung ist sehr schwer zu beobachten, da die Sporen vor derselben stark anschwellen; sie verlieren dabei ihr starkes Lichtbrechungsvermögen so vollständig, daß die jungen hervortretenden Stäbchen sich fast gar nicht von dem in der Spore steckenden Teil unterscheiden lassen. Nach 4 Stunden 45 Min. liefs sich die erste Keimung deutlich konstatieren, indem sich die Sporenmembran abzuheben begann. Keimungsmodus ist polar.

#### Eigene Untersuchungen.

*Perittomaticum* 25. X. Präparat stammt aus der Originalkultur, wurde über der Flamme nicht fixiert, sondern nur an der Luft getrocknet. Präparat mit einem Agartropfen von 60° C. versehen. Deckglas mit Vaseline auf dem hohlgeschliffenen Objektträger befestigt.

9 Uhr 45 Min. Präparat unter das erwärmte Mikroskop gebracht und sogleich gezeichnet. Reines Sporenmateriel, von denen 9 Sporen im Gesichtsfeld fixiert werden. Die Sporen sind stark konturiert, scharf lichtbrechend, in ihrer Form länglichrund.

10 Uhr 5 Min. Der Sporenkontur zeigt sich in seiner ganzen Circumferenz verwischt, wodurch die Sporen selbst etwas angeschwollen erscheinen. Minimale Abschwächung des hellen Lichtglanzes.

2 Uhr 30 Min. Sporen 1, 3, 6, 7 keimen mehr weniger regelmäfsig polar aus. Die Auskeimung ist im ganzen streng polar, d. h. in der Längsachse der Spore. Auch alle mit diesem Präparat zugleich und nach der gleichen Methode für den Brutofen zur Nebenuntersuchung angefertigten Präparate (5) zeigen mehr weniger deutlich polare Auskeimung. Bei Spore Nr. 6 ist das Durchbruchloch des keimenden Stäbchens etwas verschoben, so dafs man diesen Modus nicht als streng polar zu bezeichnen braucht. Während des Zeichnens ist Nr. 7 schon geteilt. Ein Abheben der alten Sporenmembran ist nicht zu konstatieren. Der Moment, in dem das junge Stäbchen aus der stark verquollenen Keimspore hervorbricht, ist so kurz, dafs er kaum zu beobachten ist. Der ganze Akt macht den Eindruck, als ob das elastische Stäbchen, in der Membran eingeschlossen, gleichsam eingezwängt ist, und nach dem Durchbruch sich schnell bis zu einer gewissen Gröfse ausdehnt. Die Stäbchen sind unbeweglich.

8 Uhr 15 Min. abends. Sporen 2, 8, 9 ebenfalls polar ausgekeimt. Spore 4 unverändert.

Nächster Morgen. Spore 4 unverändert, keine Sporenbildung.

Mit Perittomaticum habe ich zur Kontrolle noch eine gröfsere Reihe weiterer Beobachtungen in Gelatine und Bouillon vorgenommen, welche im wesentlichen dasselbe zeigten:

1. Der Auskeimungsmodus war regelmäfsig polar, mit mehr weniger ausgesprochenen Schwenkung des auskeimenden Stäbchens. Die Sporenmembran war fast immer deutlich erkennbar, vielleicht in den flüssigeren Nährböden etwas mehr verquollen, und hing teils dem neu ausgeschlüpften Stäbchen noch an, teils gelang es demselben, die Membran frühzeitig abzustreifen. Die Stäbchen zeigten, falls nicht fixiert,

2. alle Eigenbewegung, welche an diejenige von subtilis erinnert. Die Auskeimungszeit, d. i. die Zeit bis zum Auskeimen der ersten Spore, schwankte zwischen 2 Stunden 45 Min. und 5 Stunden.

3. Einige Sporen keimten noch später, der gröfste Teil aber brauchte mindestens 12 Stunden. Auffallend war, dafs eine Reihe von gut ausgebildeten Sporen selbst nach 3 mal 24 Stunden noch keine Veränderung im Sinne einer Keimung zeigte; mithin die Annahme berechtigt scheint, dafs diese Sporen in demselben Nährboden überhaupt nicht auskeimen.

## 2. *Bacillus goniosporus* Burchard.

Burchard erwähnt, betr. der Auskeimung von *Goniosporus* nichts Besonderes. Die zu beobachtenden Sporen kamen um 8 Uhr 40 Min. unter das erwärmte Mikroskop, um 9 Uhr 30 Min. waren sie bereits blässer und begannen anzuschwellen, um 9 Uhr 45 Min. waren sie vollkommen trübe; erst um 11 Uhr 55 Min. ist die Anschwellung an allen Sporen sehr deutlich bemerkbar. Um 1 Uhr 50 Min. sind 4 von den 5 beobachteten Sporen polar ausgekeimt und die 5. Spore steht unmittelbar davor. Um 2 Uhr 5 Min. sind alle 5 Sporen ausgekeimt und 1 Spore hat bereits die alte Sporenhaut in Form eines schwach sichtbaren Käppchens etwas abzustreifen begonnen. Dieses soll wohl das Charakteristikum für diese Bakterienart sein; denn Burchard hebt extra hervor: die Sporenhaut sitzt den Stäbchen als helles, durchsichtiges Mützchen auf. Burchard scheint nur 3 Präparate und diese gleichzeitig angefertigt zu haben, und von diesen ist das näher Beschriebene anfangs bei 30° C., dann noch eine Stunde, vielleicht weil die Keimung nicht schnell genug vor sich ging, bei 33° C. gehalten worden. Trotzdem findet sich keine Anmerkung, ob überhaupt weitere Versuche mit *Goniosporus* gemacht wurden und wie ein Versuch bei konstanter Temperatur ausgefallen ist.

Meine eigenen Untersuchungen mit *Goniosporus* haben mir nun sehr widersprechende Resultate geliefert. Gerade mit *Goniosporus* habe ich sehr viel und auf allen Nährböden experimentiert, um die Keimung und die sich während derselben zeigenden Eigentümlichkeiten zu studieren.

### a) Versuche mit Agar.

*Goniosporus* 6. XI. Präparat stammt aus der Originalkultur. Material an der Luft getrocknet, mit Agar beschickt, bei 32–34° C. beobachtet. Gleichzeitig mit diesem Präparat 5 Präparate für den Brutofen.

11 Uhr. Präparat unter das erwärmte Mikroskop gebracht. Reines Sporenmateriel. Sporen länglich oval, stark lichtbrechend, scharf konturiert, sehr deutlich.

11 Uhr 25 Min. Spore a vollkommene Trübung und starke Anschwellung auf der ganzen Circumferenz der Spore. Es scheint jedoch nur die Membran verquollen zu sein, da die Spore ihre frühere länglich ovale Form behalten hat.

12 Uhr 40 Min. Sporen c, d, f, g, i erscheinen ebenfalls verquollen. Spore a bedeutet in die Länge gestreckt und deutlich mit einem Ring versehen.

12 Uhr 55 Min. Spore a hat sich noch mehr gestreckt.

1 Uhr 5 Min. Sporen c und f sind auf der ganzen Circumferenz stärker angeschwollen und erscheinen so noch mehr vergrößert.

1 Uhr 7 Min. Spore a deutlich polar ausgekeimt. Das Stäbchen sieht mit einer etwas breiten Kappe aus dem Schlitz der Membran hervor. Es



scheint also der polaren Keimung eine deutliche Längsstreckung vorauszugehen. (Präparate des Brutofens zeigen vorwiegend polare Keimung; jedoch auch einige schräg polare Keimungen.)

3 Uhr. Alle Sporen außer b und e mehr weniger deutlich polar ausgekeimt. Viele Stäbchen sind schon mehrfach geteilt. Einige sind beweglich. Am 7. XI. ist um

10 Uhr noch keine Sporenbildung zu beobachten. Die Eigenbewegung hat vollkommen aufgehört.

Am 8. XI. zeigen sich lang ausgewachsene Fäden mit undeutlicher Septierung ohne Trübung des protoplasmatischen Inhalts. Versuch abgebrochen.

#### b) Gelatine.

Am 9. XI. wurden Sporen von *Goniosporus* in Gelatine beobachtet, welche sich vor der Auskeimung allmählich vergrößerten, d. h. in die Länge streckten, und schließlich ohne eine Membran erkennen zu lassen, in das ausgekeimte junge Stäbchen übergingen, so daß der Moment der Keimung, d. h. ein Zerreißen der Membran nicht zu beobachten war. Dieser Auskeimungsmodus setzte mich sehr in Erstaunen, zumal im Agar eine deutliche Membran beobachtet worden war und auch Burchard eine solche gesehen hatte. Es wurden daher eine größere Reihe von Untersuchungen (ca. 25) mit *Goniosporus* in Gelatine vorgenommen, welche im wesentlichen zu gleichen Resultaten führten. Auch Beobachtungen im ganz frischen Agar zeigten an einigen Sporen die Sporenmembran vollkommen verquollen, so daß Bilder beobachtet wurden, welche denen der Gelatine-Beobachtung vollkommen glichen.

Am 16. XI. wurde ein Versuch mit Gelatine im Verein mit Herrn Prof. Lehmann angestellt und lückenlos kontrolliert.

Die vorher stark lichtbrechend gewesene Spore dehnte sich allmählich unter Undeutlichwerden ihres Inhalts. Eine Membran fällt in diesem Stadium nicht auf; vielmehr ist die erfolgte Keimung erst dann zu konstatieren, wenn das Stäbchen sich zur Teilung anschickt. Ein allein liegendes junges Stäbchen ist von einer auskeimenden, genügend vorgeschrittenen Spore nicht zu unterscheiden. Auch nach erfolgter Teilung des Stäbchens ist man nicht imstande, eine Sporenmembran deutlich zu erkennen, auch ist das jüngere Stäbchen nicht schmaler als das ältere. Ein Moment, in dem das junge Stäbchen aus der es einschließen-

den Membran herausschlüpft, konnte trotz lückenloser Beobachtung nicht konstatiert werden. Selbst die nochmalige Untersuchung des Präparats nach etwaigen, den ausgeschlüpften Stäbchen anhaftenden Membranen hatte kein positives Resultat; zum mindesten war es unmöglich, einwandsfreies Material zu finden; wo hingegen sich viele Stäbchen fanden, an denen auch nicht die Spur einer Membran vorhanden war. Es ist an diesen Stäbchen unmöglich, zu entscheiden, mit welcher Seite sie ausgeschlüpft sind. Man muß deshalb annehmen, daß die Sporenmembran vollkommen verquillt.

c) Agar.

Um dieses eigentümliche Verhalten der Membran eingehend zu studieren, habe ich eine weitere Reihe von Untersuchungen in einem Agar vorgenommen, der einen verschieden hohen Flüssigkeitsgehalt hatte. Auch hier konnte ich an einigen Sporenauskeimungen ein vollständiges Verquellen der Sporenmembran beobachten. Aber Goniosporus zeigte noch eine weitere Eigentümlichkeit, nämlich ein äußerst variables Auskeimen des jungen Stäbchens. Es kommt hier nur darauf an, eine größere Menge von Einzelindividuen zu beobachten. Aus der Versuchsreihe, die sich hierauf bezieht, will ich nur zwei Beobachtungen mitteilen.

Goniosporus 3. XII.

Material stammt aus der Originalkultur. Präparat an der Luft getrocknet, mit frisch angefertigtem Agar beschickt, bei 32 bis 34° C. beobachtet.

1 Uhr 15 Min. Es werden 21 Sporen im Gesichtsfelde fixiert und gezeichnet.

2 Uhr 25 Min. Einige Sporen zeigen Veränderungen im Sinne einer Keimung.

3 Uhr 15 Min. Von den 21 Sporen zeigen 10 deutliche Auskeimung. Spore Nr. 8 Differenzierung im Sinne einer Keimung. Spore Nr. 5 zeigt an dem dem keimenden Stäbchen abgewandten Sporenmembranende eine kleine Vorwölbung, als ob dort ein neues Stäbchen hervorbräche.

4 Uhr. Die Vorwölbung an Spore Nr. 5 hat sich noch etwas vergrößert und macht jetzt den Eindruck eines protoplasmatischen Fortsatzes. Im übrigen zeigten von den 10 ausgekeimten Sporen:

Streng polare Auskeimung Nr. 3, 4, 7, 9, 11, 13 . . . = ca. 60%

Schräg „ „ Nr. 1, 5, 10 . . . . . = „ 30%

unter Verschwinden der Membran, so daß die Art der Auskeimung nicht zu konstatieren Nr. 12 = ca. 10%.

Um 8 Uhr abends zeigte sich das Keimstäbchen aus Spore Nr. 8 geteilt, ohne während dieser Zeit eine Membran erkennen zu lassen. Weitere Auskeimungen waren im Präparat nicht zu konstatieren.

Goniosporus 4. XII. (Siehe Tafel, Fig. 1.)

Material aus der Originalkultur, an der Luft getrocknet, mit frischem Agar beschickt, bei 32—34° C. beobachtet. Es wurden, um einen gewissen Prozentsatz zu gewinnen, dieses Mal 56 Sporen beobachtet und gezeichnet.

Nach 2 Stunden 30 Min. keimten	
deutlich aus . . . . .	18 Sporen = ca. 32,15 %.
Veränderungen im Sinne einer	
Keimung zeigten . . . . .	19 Sporen = ca. 33,85 %.
Bei genügend langer Beobachtung	
wären also ausgekeimt . . . . .	37 Sporen = ca. 66 %.
Überhaupt keine Veränderung zeigten also nach	
2 Stunden 30 Min. . . . .	ca. 34 %.

Von den 18 ausgekeimten Sporen war die Keimung:

Streng polar bei Nr. 1, 2, 26, 28, 29, 40, 45, 46, 48 = 9 = ca. 50 %.
Schräg „ „ Nr. 4, 6, 8, 12, 34 . . . . . = 5 = ca. 28 %.
Ohne ein Membran erkennen zu lassen Nr. 21, 23, 41, 43 = 4 = ca. 22 %.

Bei meiner Beobachtung war es mir auffallend, daß gerade diejenigen Sporen, welche, ohne eine deutliche Membran zu erkennen zu geben, auskeimten, fast stets zuerst eine Veränderung im Sinne einer Keimung zeigten und auch im Präparat sich durch besondere Größe auszeichneten.

### 3. Bacterium Petroselini Burchard.

Burchard hat für die Keimung des Bacterium Petroselini ein Characteristicum angegeben, nämlich, daß die Sporenmembran, nachdem das keimende junge Stäbchen dieselbe nach Verlauf von ca. 1 Stunde 10 Min. ohne Besonderheiten polar durchbricht, deutlich 2 Schichtungen erkennen läßt. Er hat bei genauerer Durchsuehung gefunden, daß in der That 2 Sporenhäute vorhanden waren. Die äußere Haut ist, wie aus der Art der Lichtbrechung hervorgeht, die derbere, die innere die zartere. Meistens lagen die Häute sichelförmig bei einander, resp. untereinander.

Bei meinen Untersuchungen kam es mir darauf an, einmal nachzuschauen, ob es mir auch gelingen würde, 2 Sporenhäute bei der Keimmembran zu unterscheiden, dann aber besonders zu beobachten, wie sich diese beiden Membrane zu einander und zu den auskeimenden Stäbchen verhalten würden. Ich begnüge mich, aus der großen Reihe meiner Untersuchungen drei Beobachtungen mitzuteilen; da diese das, was ich teils allein, teils mit Herrn Prof. Lehmann gesehen habe, demonstrieren. Herr Prof.

Lehmann hat sich ganz besonders für diese Untersuchungen interessiert und war so liebenswürdig, mir für dieselben einen Zeif'schen Apochromat zur Verfügung zu stellen.

Bakt. Petroselini 18. XI. (Siehe Tafel, Fig. 2.)

Material aus der Originalkultur, an der Luft fixiert, mit Agar versehen, bei 32—34° C. beobachtet.

4 Uhr. Das Präparat wird unter das erwärmte Mikroskop gebracht. Es zeigt reines Sporenmateriale, von dem 11 Sporen im Gesichtsfelde liegen und sogleich gezeichnet werden. Sporen stark lichtbrechend, länglich, oval-cylindrisch, scharf konturiert.

5 Uhr 30 Min. Nr. 1, 2, 3, 8, 10, 11 haben sich bedeutend vergrößert. Diese Vergrößerung scheint nicht nur der Ausdruck einer Membranquellung zu sein, vielmehr scheint die ganze Spore gequollen und etwas mehr abgerundet. Der Glanz ist verloren, die Sporen erscheinen matt. Die Membran hebt sich deutlich ab und bildet eine hellere Zone um die gequollene Spore herum. Weiterhin strecken sich die Sporen wieder etwas mehr, bis plötzlich um

6 Uhr 15 Min. Spore Nr. 1 deutlich schräg polar auskeimt. Die Membran ist, wenn auch stark verquollen, deutlich sichtbar und centralwärts macht sich ein stärker lichtbrechender Ring an derselben bemerkbar. Das junge Stäbchen kommt spitz aus der Membran heraus.

6 Uhr 35. Spore Nr. 3 keimt deutlich polar aus. Es lassen sich an der Sporemembran zwei verschiedene Schichtungen unterscheiden. Spore und junges Stäbchen sind von einem feinen, hellen Hof umgeben. An der Keimmembran der Spore Nr. 1 zeigt sich die cirkuläre, verschieden lichtbrechende Schichtung derselben noch deutlicher.

7 Uhr 10 Min. Spore Nr. 3 hat die äußere Membran abgestreift und ist deutlich von einer zweiten, vielleicht etwas weniger stark lichtbrechenden Membran umgeben. Die erste Membran liegt sichelförmig neben dem auskeimenden Stäbchen; letzteres ist vorn zugespitzt und ein wenig gekrümmt. Spore Nr. 1 läßt jetzt ebenfalls deutlich zwei Membranen, eine äußere stärker lichtbrechende, und eine innere hellere erkennen. Nr. 2 ist gleichfalls deutlich polar ausgekeimt. Auch hier eine Schichtung der Keimmembran. Die äußere Membranschicht beginnt bereits sich abzustreifen.

7 Uhr 15 Min. Das Präparat wurde nochmals Herrn Prof. Lehmann zur Beurteilung übergeben. Derselbe konstatierte:

1. Schräg polares Auskeimen von Stäbchen Nr. 1, das nochmals gezeichnet wurde; deutlich polares Auskeimen von Stäbchen 2 und 3.

2. Die drei ausgekeimten Sporen lassen mit Sicherheit 2 verschiedene starke Membrane erkennen, von denen die äußere als derbere, Exine, die innere als weniger starke Intine unterschieden werden können.

3. Die Stäbchen sind unbeweglich.

Auch Sporen Nr. 8, 10 und 11 scheinen Keimung vorzubereiten; dieselbe konnte jedoch nicht mehr beobachtet werden.

Gleichzeitig mit dieser Untersuchung wurde eine andere Stelle des Präparats beobachtet und gezeichnet. Sie zeigt im wesentlichen das Gleiche.

4 Uhr. Sporen a, g stark lichtbrechend, von fast cylindrischer Form, scharf konturiert.

5 Uhr 30 Min. Sporen a, b, c, d, e stark verquollen, sowohl Membran als auch der protoplasmatische Inhalt weniger lichtbrechend. Die Form ist jetzt fast vollkommen oval.

6 Uhr 35 Min. Sporen a, b und d ausgekeimt. a und b deutlich zwei Membranen. a deutlich polare Auskeimung, b dagegen schräg polar.

6 Uhr 55 Min. Spore c ausgekeimt, deutlich polar, zwei Membranen, auch Spore d läßt zwei Membranen erkennen.

#### Bact. Petroselini 21. XI. (Siehe Tafel, Fig. 3.) Kontrollversuch.

Versuch unter Kontrolle von Herrn Prof. Lehmann angestellt. Material aus der Originalkultur, an der Luft getrocknet, mit Agar beschickt. 32 bis 34° C.

12 Uhr 55 Min. 13 Sporen werden im Gesichtsfelde fixiert und sogleich gezeichnet. Sporen fast cylindrisch, stark lichtbrechend, scharf konturiert.

2 Uhr 40 Min. Sporen 1, 5, 6, 7, 9, 11, 12, 13 haben sich bedeutend vergrößert, etwas abgerundet und ihren Glanz vollkommen verloren. Sporen 1, 5, 6 lassen die Membran deutlich vom protoplasmatischen Inhalt der Sporen unterscheiden.

4 Uhr 5 Min. Spore 1 keimt polar aus; jedoch ist die Spitze des Stäbchens schräg abgeknickt. Spore 5 streng polar keimt. Die Membran zeigt sich schärfer konturiert und läßt bei deutlicher Einstellung zwei verschiedene Lichtbrechungssphären innerhalb derselben unterscheiden. In diesem Fall konnte ich den ganzen Vorgang des Auskeimens beobachten, derselbe dauerte ca. 20 Minuten vom ersten Hervorbrechen des Stäbchens bis zu diesem Stadium und machte den Eindruck, als wenn das keimende Stäbchen die Membran mehr und mehr spannt, und dieselbe plötzlich sprengt. Nach ihrem Zerreißen zieht sich die Membran allmählich zusammen und wird so stärker lichtbrechend. Gleichzeitig sind auch Sporen 6 und 13, beide jedoch deutlich schräg polar, ausgekeimt. Auch Spore 13 läßt mit Sicherheit zwei verschiedene Lichtbrechungssphären innerhalb der Keimmembran unterscheiden.

5 Uhr 35 Min. Spore 11 keimt deutlich polar aus. Indessen haben Spore 1 und 13 ihre erste Membran abgestreift und lassen deutlich eine zweite Membran an dem Stäbchen erkennen. Bei genauem Einstellen zeigt die abgestreifte Membran von Spore 13 ein seitliches Loch. Das aus Spore 5 hervorgebrochene Stäbchen ist etwas gewachsen; die beiden Membranen lassen sich jetzt deutlicher unterscheiden; je nach der Einstellung erscheint die Exine oder Intine hell oder dunkel. Gleiches zeigt Spore 6. Hier hat sich das Stäbchen schon vollkommen von der Membran befreit und ist herausgeschlüpft; diese läßt deutlich eine doppelte Schichtung erkennen. Ein höchst eigenartiges Verhalten zeigt Spore Nr. 12. Das Stäbchen ist hier

schräg polar ausgekeimt, jedoch nach rückwärts gekrümmt und an dem oberen Ende kolbenförmig verdickt. Die Membran zeigt zwei Schichten.

6 Uhr 15 Min. Die Stäbchen aus Sporen 1 und 13 haben die erste Membran vollkommen abgestreift und beginnen sich von der zweiten Membran zu emanzipieren. Diese Beobachtungen lassen keinen Zweifel darüber, ob in diesem Falle zwei Membranen vorhanden waren und abgeworfen wurden. Sonst konnte etwas Neues nicht konstatiert werden. Die Beobachtungen wurden noch bis 9 Uhr abends fortgesetzt; während dieser Zeit keimten auch Sporen 7 und 9 aus. Die Auskeimung von Spore 7 könnte man als äquatorial bezeichnen mit einer schrägen Richtung des Keimstäbchens. Spore 9 keimt polar; somit lassen sich nur bei sehr gutem Willen zwei Membranen erkennen. Bis 9 Uhr waren somit alle differenzierten Sporen ausgekeimt. Die Sporen Nr. 2, 3, 4, 8, 10 zeigten von vornherein keine Neigung zum Keimen und hatten sich auch bis 9 Uhr abends noch nicht verändert.

Fasse ich die Resultate dieser beiden Versuche, welche durch die übrigen von mir angestellten, hier aber nicht mitgetheilten, unterstützt wurden, zusammen, so läßt sich feststellen:

1. dafs die Keimungsart von *B. Petroselini* grofse Variabilität zeigt,

2. dafs nämlich die Membran sich deutlich in zwei Hüllen auflösen und dieselben nacheinander abwerfen kann, dafs aber auch in gewissen Fällen während der ganzen Keimung stets nur eine Membran zu beobachten ist,

3. dafs das junge Stäbchen sowohl polar als auch schräg polar, in zwei Fällen sogar deutlich äquatorial aus der Membran hervorbrach (Tafel, 5 Uhr 35 Min. Spore 12; Tafel, Spore 7, 8—9 Uhr),

4. dafs nicht alle Sporen gleichzeitig keimen, und einige überhaupt keine Neigung zum Auskeimen besitzen.

#### 4. *Bacterium filamentosum* E. Klein.

Burchard hebt hervor, dafs die Keimungsbeobachtungen dieses Bacteriums von vornherein dadurch etwas erschwert wurden, dafs es ihm in keiner Weise gelingen wollte, völlig reines Sporenmaterial zu erhalten. »Die Zellhaut scheint bei dieser Art besonders resistent zu sein, wodurch sich auch die relativ sehr langsam vor sich gehende Keimung erklären mag.« Bei anfangs 31, nach 1 Stunde 20 Min. auf 35° C. erhöhter Temperatur zeigten von 4 Sporen 3 nach 1 Stunde 10 Min. eine deutliche Trübung und Anschwellung; eine von ihnen besonders war kreisrund geworden und keimte nach 5 Stunden 10 Min. polar aus, wobei sich die Sporenmembran seitlich etwas abhob. Dieses Abheben soll wohl das Charakteristicum dieser Keimungsart sein; denn als bis zum nächsten Morgen das »kräftig herangewachsene

Stäbchen, die alte Sporenmembran zur Hälfte abgestreift hatte, hob sich dieselbe deutlich von dem Stäbchen als heller, umfassender Bogen ab. Gleichzeitig mit Spore 1 keimte auch Spore 2 polar. Es ist ferner noch hervorzuheben, daß zwei von den vier Sporen, obwohl sie von vornherein Differenzierung im Sinne einer Keimung gezeigt hatten, erst nach 36 Stunden auszukeimen begannen. Es keimten also von vier: 2 Sporen nach 5 Stunden 10 Min., 2 Sporen nach 36 Stunden. Leider hat Burchard nicht angegeben, wie die Keimung bei den letzten beiden Sporen verlief. Es scheint vielmehr, als ob nur die eine der vier Sporen in besonderer Weise keimte und so ein Charakteristikum lieferte. Auch gibt Burchard nicht an, ob er überhaupt mit diesem Bakterium noch mehr Keimungen beobachtet hat, was er sonst fast niemals zu vergessen pflegt. Ferner fehlte auch zu meinem großen Bedauern die Angabe, wie alt die Kultur war und woher sie stammte.<sup>1)</sup>

Meine eigenen Untersuchungen wurden mit einem Material vorgenommen, das, wie schon erwähnt, von Kral bezogen war, jedenfalls also noch länger auf künstlichen Nährböden gezüchtet, als das Burchardsche gewesen ist. Die ersten Keimungsbeobachtungen, welche ich mit diesem Bakterium vornahm, setzten mich durch ihre Eigentümlichkeit sehr in Erstaunen, und auch Herr Prof. Lehmann, dem ich dieselben zeigte, war zunächst versucht, an einen ganz neuen, bisher noch nicht beobachteten Keimungsmodus zu denken. Ich habe eine größere Reihe Untersuchungen mit diesem Material angestellt, welche alle dasselbe zeigten.

*Bacterium filamentosum* E. Klein. 26. XI. (Siehe Tafel, Fig. 4.)

Material stammt aus der Originalkultur, wurde an der Luft fixiert, mit Agar beschießt und bei 32—34° C. beobachtet.

12 Uhr. Reines Sporenmaterial, sogleich gezeichnet; Sporen stark lichtbrechend, scharf konturiert, länglichoval bis cylindrisch, niemals kugelig, im Querschnitt kreisförmig.

12 Uhr 45 Min. Sporen b, c, i, o, p verlieren ihren Glanz und lassen eine geringe Vergrößerung erkennen, welche allmählich immer stärker wird und sich auch bei einzelnen anderen Sporen zeigt.

1) Ich halte diese Angabe für besonders wichtig aus dem Grunde, weil, wie ich im II. Teil noch näher anzuführen Gelegenheit nehmen werde, ich aus meinen vergleichenden Untersuchungen der Keimungsvorgänge von altem und jungem Sporenmaterial die Überzeugung gewonnen habe, daß das Alter der Kultur wesentlichen Einfluß auf die Keimungsart auszuüben imstande ist. Burchard scheint sein Material von Klein erhalten zu haben, also nicht mit einer frisch gezüchteten Art gearbeitet zu haben.

3 Uhr 15 Min. Innerhalb der gequollenen Sporen eine Differenzierung des Protoplasmas, welche den Eindruck hervorruft, als ob sich die Spore zu teilen begübe. Es läßt sich deutlich in der Mitte desselben eine je nach der Mikroskopeinstellung helle oder dunkle Querleiste erkennen. Eine genauere Untersuchung, welche zugleich mit Herrn Prof. Lehmann vorgenommen wurde, machte uns wahrscheinlich, daß es sich um eine c-förmige Krümmung des keimenden Stäbchens innerhalb der Sporenmembran handelt. Infolge der Kleinheit der Sporen ist es sehr schwer, ein vollkommen deutliches Bild des ganzen Vorganges zu bekommen. Selbst stärkere Okulare halfen nur wenig. Ich habe mich bemüht, nur das in den beigegeführten Zeichnungen aufzunehmen, was mit den mir zu Gebote stehenden Hilfsmitteln deutlich zu erkennen war. Bis

5 Uhr 20 Min. sind schon einige Auskeimungen zu verzeichnen und Stäbchen b ist schon geteilt. Herr Prof. Lehmann, der nochmals eine genaue Untersuchung vornimmt, konstatiert, daß die Stäbchen c-förmig in der Membran eingeschlossen sind, und daß die Keimung selbst derart vor sich geht, daß das keimende Stäbchen, in dem Bestreben, sich zu strecken, die Membran sprengt. Die Einrißstelle der Membran ist sehr variabel, gewöhnlich scheint sie jedoch äquatorial zu sein. Die Membran streift sich allmählich über das sich langsam streckende Stäbchen zurück. Auf diese Weise kann die Auskeimung sowohl deutlich polar Spore k + m, als auch schräg polar, Spore g, als auch mehr oder weniger äquatorial, Spore i erscheinen. Ein eigentümliches Verhalten zeigen die Sporen a, b und o. Hier hat sich das Stäbchen schon etwas mehr von der Membran befreit. Die Keimung von Spore a zeigt Ähnlichkeit mit dem Modus der polaren; hier ist es dem einen Stäbchenende gelungen, sich zuerst aus der Membran herauszudrängen. Anders Stäbchen b und o; hier waren beide Stäbchenenden in der Membran eingeschlossen, so daß ein Strecken derselben verhindert war. Bei der fortschreitenden Keimung wurde die Membran an dem Punkte der größten Zerrung, d. i. äquatorial gesprengt, und zwar bei b an der konvexen Seite des Stäbchens, bei o an der konkaven.

Das Präparat wurde bis zum Abend beobachtet und über Nacht unter dem erwärmten Mikroskop gelassen.

Am 27. XI. zeigte sich um 8 Uhr 25 Min. nur minimales Wachstum. Sporen resp. Stäbchen aus a, b, c, d, g, i, k, l, m, o, p, q, r, waren variabel ausgekeimt. Das Weiterwachstum der ausgekeimten Stäbchen aber derart gering, daß Stäbchen p immer noch erst einmal geteilt, indes alle anderen Stäbchen ungeteilt waren. Alle Stäbchen waren unbeweglich.

10 Uhr 55 Min. Stäbchen g und l geteilt. Die Köpfchen an den Enden der Stäbchen sind jetzt vollkommen verschwunden.

Am 28. XI. war das Wachstum nur minimal vorgeschritten. Stäbchen i war etwas in die Länge gewachsen und zeigte in der Mitte die Anlage einer Spore. Sporen f, e und h unverändert im Sinne einer Keimung.

*Bacterium filamentosum*. 29. XI. (Tafel, Fig. 5.)

Die Abbildungen sind stark vergrößert gezeichnet und nach den Vorstellungen, die ich mir gebildet habe, schematisiert. Bei diesem Versuche



habe ich in den entscheidenden Momenten stets Herrn Prof. Lehmann hinzugezogen, welcher auch einen Teil der in Fig. 5 wiedergegebenen Zeichnungen entworfen hat. Der Versuch zeigte im wesentlichen das gleiche wie alle anderen Beobachtungen: Eine Differenzierung des Protoplasmas, als ob die Spore durch eine Brücke geteilt würde; allmählich läßt der Inhalt ein c-förmig gebogenes Stäbchen erkennen. Die Membran reißt an höchst variabler Stelle ein und kontrahiert sich auch unregelmäßig, so daß das keimende Stäbchen sowohl polar als schräg polar, als auch äquatorial aus ihr hervorbricht. Auffallend geringes Wachstum. Stäbchen unbeweglich.

Es ist also zu konstatieren, soweit unsere optischen Hilfsmittel reichen:

1. uns stets im Innern der keimenden Spore das Stäbchen gekrümmt angelegt erschien:
2. daß die Membran vorzüglich äquatorial einreißt, die späteren Lageverhältnisse zwischen Membran und Keimstäbchen aber im höchsten Grade variabel sind,
3. daß das keimende Stäbchen anfangs im Innern der Spore an den Enden verdickt scheint, später jedoch einem gewöhnlichen Stäbchen ähnlich wird.

##### 5. *Bacterium angulans* Burchard.

Burchard hat zur Untersuchung dieses Bakteriums 10 Tage altes Material, das er selbst gezüchtet hat, herangezogen. Die Keimung erfolgte nach 2 Stunden 15 Minuten. Im Verlauf der Keimung schwellen die beiden beobachteten Sporen stark an, werden matt und bekommen eine fast kugelförmige Form; trotzdem war Burchard stets im stande, in der Keimungsmembran einen äquatorialen Riß, durch den das keimende junge Stäbchen hervortrat, zu erkennen. Die jungen Stäbchen sind gleich nach der Auskeimung auffallend plump und dick, werden jedoch besonders am nächsten Tage, also vor der Sporenbildung schmaler und kürzer, an den Enden sind sie jetzt auch nicht mehr, wie früher, abgerundet, sondern scharf abgestutzt, so daß sie beinahe viereckig erscheinen.

Da meine Keimungsbeobachtungen im wesentlichen mit denen Burchards übereinstimmen, begnüge ich mich, nur einzelne Besonderheiten hervorzuheben, anstatt die ganzen Versuche in extenso vorzuführen. Auch bei mir keimte *Bacterium angulans* äquatorial, nachdem sich die Spore etwas abgerundet hatte, die Keimungszeit war im höchsten Grade schwankend. Das Characteristicum jedoch, den höchst eigentümlichen Vorgang der Formveränderung an den Stäbchen, habe ich niemals beobachten können. Bei meinen Versuchen waren die Stäbchen

nicht gerade auffallend plump, aber an den Kanten stets abgerundet; eine nachmalige Verkürzung derselben konnte ich trotz vieler und genauer Versuche niemals bemerken. Da die Stäbchen unbeweglich waren, und auch kein zu lebhaftes Wachstum zeigten, gelang es mir, sie einige Tage unter einem Mefsapparat zu beobachten; ich habe jedoch niemals eine Verkürzung an demselben Bakterium beobachtet. Längere und kürzere Stäbchen kamen allerdings vor. Obgleich ich auch mehrfach Sporenbildung beobachten konnte, war eine Formveränderung im Sinne Burchards nicht zu konstatieren.

#### 6. *Bacillus loxosporus* Burchard.

Burchard hat beobachtet, daß die Sporen des *Bacill. loxosporus* (um 10 Uhr bei 34° C., von 11 Uhr ab 35° C., von 1 Uhr ab 36° C. beobachtet!) bis 1 Uhr 50 Min. keine Veränderung zeigten, daß sich dann die Sporenhaut in zwei halbkugelige Hälften auseinanderklappt, aber nur aus der einen Hälfte das Stäbchen auskeimt. Es ist dies also ein äquatoriales Zerreißen der Sporenhaut, aber ein polares Keimen, »Es zeigte sich« bei näherer Durchsuhung des Präparats, »daß dieses eigenartige Aufklappen der Sporenmembran in zwei halbkugelige Hälften bei der Keimung aller Sporen auftritt, also ein für diese Art besonders charakteristisches Merkmal ist«. Leider ist auch hier wieder nicht erwähnt, wie alt das Material war, mit dem die Untersuchung vorgenommen wurde.

Für meine eigenen Untersuchungen stand mir leider nur ein Material zur Verfügung, welches infolge seiner Kleinheit nur wenig instruktiv war. Dasselbe war, wie schon erwähnt, von Kral bezogen und wohl schon auf die verschiedensten Nährböden übergeimpft worden. Aus der Reihe meiner Beobachtungen will ich nur einen herausgreifen, welcher das, was ich gesehen habe, zeigen möge.

#### *Bacillus loxosporus* 4.

Material aus der Originalkultur, an der Luft getrocknet, mit Agar versehen, bei 32–34° C. beobachtet.

10 Uhr 45 Min. Sporen sehr klein, oval, stark lichtbrechend, scharf konturiert.

12 Uhr. Alle Sporen haben ihren Glanz verloren und erscheinen stark verquollen, ovale Form; jedoch an einzelnen Sporen eine minimale Längs-streckung.

12 Uhr 20 Min. Einige Sporen zeigen große Ähnlichkeit mit den keimenden Sporen von *Filamentosum*: In der Mitte eine helle oder dunkle Protoplasmabrücke und an den Rändern eine mondsichelförmige Differenzierung. Es hat den Anschein, als wollte die Spore sich teilen.

12 Uhr 45 Min. Die Sporen haben sich noch mehr gestreckt, so daß sie den Eindruck von Stäbchen hervorrufen.

1 Uhr 20 Min. Die Stäbchen sind vollkommen ausgewachsen, einige geteilt. Bei genauem Zuschauen kann man auch noch an den Enden einiger Stäbchen eine dunklere Kontur unterscheiden. Der Moment des Zerreißen der Membran war infolge der Kleinheit der Sporen trotz sorgfältiger und andauernder Beobachtung nicht zu erkennen.

Ich habe im ganzen ca. 30 Untersuchungen von *Loxosporus* auf das Sorgfältigste beobachtet; ich konnte jedoch das, was Burchard konstant an allen Sporen beobachtete, nie wieder entdecken.

Wie aus den eben mitgeteilten Resultaten aus den von mir mit Burchardschen Bakterienarten vorgenommenen Untersuchungen zu ersehen ist, stimmten meine Beobachtungen mit den von Burchard mitgeteilten nur in den seltensten Fällen genau überein. Zuweilen jedoch waren die Differenzen so bedeutend, daß ich versucht war, anzunehmen, ich hätte nicht mit reinem Sporenmaterial gearbeitet, oder aber die Keimungsart einiger Bacillen, ihr Hauptkeimungsmodus zeigte sich derart von dem von Burchard angegebenen Characteristicum abweichend, daß ich überhaupt an eine andere Bakterienart denken mußte. Immer konnte ich aber durch den Vergleich der morphologischen und physiologischen Nachuntersuchung die Identität der betreffenden Art feststellen.

Daß Burchard das, was er seiner Arbeit angibt, gesehen hat, davon bin ich vollkommen überzeugt, glaube aber, daß er in gewissen Fällen zu schnell eine zufällig im Mikroskop beobachtete Keimungsvariation als charakteristisch für die untersuchte Bakterienart annahm, ohne die Art genügend beobachtet zu haben. Da ich bei keiner der Burchardschen Bakterienarten, die ich zu untersuchen Gelegenheit hatte, den von Burchard als konstantes Characteristicum angegebenen Keimungsmodus als konstantes Merkmal erkennen konnte, habe ich noch einige frisch gezüchtete Arten auf die Konstanz in dem Auskeimungsmodus untersucht. Es kam mir dabei naturgemäß weniger auf die Frage, wie das betreffende Bakterium keimte, an, sondern vielmehr, wie viel Einzelindividuen derselben Art den vollkommen gleichen Keimungsmodus zeigten.

Im Nachfolgenden habe ich einige dieser Untersuchungen aus meinem Protokoll ausgewählt.

#### 7. *Bacillus gangränosus pulpaе* Arkövy.

Dieser Bacillus wurde von Zahnarzt Zierler im hiesigen Institut isoliert und seine Keimung untersucht. Demselben verdanke ich auch das Material zu meinen Untersuchungen, von denen ich nur eine hier anführen will, zumal sie außer den Studien über die Konstanz nichts Neues zu bieten vermögen.

Das Material konnte trotz sorgfältigster Vorbehandlung nicht vollkommen von vegetativen Elementen befreit werden. Um das Präparat deutlicher zu machen, wurde eine Reinkultur  $\frac{1}{2}$  Stunde lang auf 80° C. erwärmt, alsdann auf einem Deckglase fein verstrichen, an der Luft getrocknet, mit Agar versehen.

11 Uhr 45 Min. 8 Sporen gezeichnet; Form länglich oval, im Querschnitt rund, stark lichtbrechend, scharf konturiert.

12 Uhr 15 Min. Sporen Nr. 2, 3, 6, 7, 8 beginnen trüber zu werden und in der ganzen Circumferenz gleichmäßig zu verquellen.

12 Uhr 25 Min. Sporen 4 und 5 gleichfalls verquellen. Sporen 2, 3, 7 und 8 haben sich etwas abgerundet, ohne jedoch kugelig zu sein. Bei scharfem Zusehen kann man bei Spore 8 äquatorial eine minimale Ausbuchtung erkennen.

1 Uhr 30 Min. Die Ausbuchtung von Spore 8 läßt sich deutlich als ein keimendes Stäbchen erkennen, das sich vollkommen äquatorial durch die Membran hindurchdrängt und um 1 Uhr 30 Min. schon geteilt ist. Sporen 3 und 7 ebenfalls streng äquatorial gekeimt. Keimstäbchen vorne verbogen und zugespitzt. Spore 2 und 5 dagegen deutlich schräg polar ausgekeimt, wobei auch die Einrisfstelle der Membran polarwärts verschoben erscheint.

4 Uhr. Die Keimstäbchen, anfangs unbeweglich, werden gewöhnlich nach der 1. Teilung beweglich. Zuweilen haftet ihnen noch, selbst wenn sie schon zu langen Fäden ausgewachsen sind, die Sporenmembran in Form einer Kappe an, von der sie sich, wie es scheint, zu befreien streben. Einige kürzere Fäden und einige Stäbchen tragen keine Membran mehr. Das zuerst aus der Spore heraustretende Stäbchen scheint keine Geißeln zu besitzen und zuweilen läßt sich beobachten, wie an einem langen Faden nur die ältere Hälfte beweglich ist, während die jüngere entweder still liegt oder passiv mitbewegt wird.

#### 8. Aus der Luft gezüchteter Bacillus,

in den Formenkreis von *Bacillus subtilis* gehörend, von Herrn Professor Lehmann erhalten.

Das Material wurde auf einem Deckglase fein verstrichen, an der Luft getrocknet, mit Agar versehen und bei 32—34° C. beobachtet.

11 Uhr. Es werden einige Sporen im Gesichtsfelde fixiert und sogleich gezeichnet. Dieselben sind stark lichtbrechend, mit scharfer Kontur versehen, cylindrisch, an den Kanten etwas abgerundet. Zwischen ihnen einige einzelne Stäbchen verstreut, einige zu Fäden vereinigt.

12 Uhr 15 Min. Einige Sporen verlieren ihren Lichtglanz. Membranen verquollen, sowie der ganze Umriss der Sporen mit feinen Ausbuchtungen versehen. Sporen vollkommen kugelig.

12 Uhr 30 Min. Plötzlich bricht aus Spore Nr. 6 eine Vorwölbung aquatorial, wie es scheint, und ein wenig gekrümmt hervor und schiebt sich langsam weiter heraus. Auch an anderen Sporen ist das Gleiche zu beobachten.

1 Uhr. Einige Stäbchen haben ihre Sporenmembran abgestreift. Ein ungeteiltes Stäbchen, das etwas grösser ist als die anderen, ist durch schlängelnde Bewegung bemüht, von seiner Membran loszukommen. Bei Spore 4 hatte ich Gelegenheit, den ganzen Vorgang der Keimung in allen Phasen zu beobachten (vgl. Tafel, Fig. 6). Nachdem die Spore vollkommene Kugelform angenommen, zeigen sich an der Peripherie hellere und dunklere Partien, bei denen man infolge der starken Verquellung nicht mit Sicherheit entscheiden kann, ob sie sich allein auf die Membran oder auch auf den protoplasmatischen Inhalt beziehen (a). Weiterhin zeigt sich die Oberfläche mit ganz feinen und nicht immer konstanten Verwölbungen versehen (b), welche jedoch verschwinden, je mehr sich nach einer Seite hin ein konischer Fortsatz hervordrängt. Dieser Fortsatz ist vielleicht etwas weniger lichtbrechend als die keimende Spore (c) und je weiter sein Wachstum fortschreitet, umso deutlicher wird diese Lichtdifferenz (d), ein Zeichen, daß die Membran durchrissen ist und sich zurückziehen beginnt. Das junge Stäbchen drängt jetzt weiter aus der Membran heraus, und die Membran zieht sich langsam über ihm zurück (e und f), um schließlich als ein scharfer Kontur dem einen Stäbchenende anzuhafte (g). Innerhalb der Sporenmembran macht sich jetzt ein hellerer Lichthof bemerkbar, der anzudeuten scheint, daß sich das junge Stäbchen von der Membran befreit. Das vorher im Verhältnis zur Sporenmembran und zu den bereits ausgeschlüpften Stäbchen auffallend helle Keimstäbchen wird an seinen Konturen wesentlich dunkler, bis eine scharfe Linie die Stäbchenmembran erkennen läßt (g, h, i).

Welcher Art in diesem Falle die Keimung war, ist unmöglich festzustellen, wenn man nicht aus der früheren Lage der Spore Rückschlüsse macht. Das frisch ausgeschlüpfte Stäbchen scheint gewöhnlich nicht sogleich mit Geißeln versehen zu sein, es kommen jedoch auch soeben ausgekeimte Stäbchen zur Beobachtung, welche, kaum vollkommen aus der Sporenmembran hervorgequollen, schon in deutlicher, sehr angestrenzter Bewegung bemüht zu sein scheinen, von derselben loszukommen. Derartige Zustände konnten bei Durchsichtung des Präparats in großer Anzahl konstatiert werden. Der grössere Teil der Stäbchen ist im Bestreben, die Sporenmembran abzustreifen, erfolgreich.

Die Sporenbildung war schon nach 24 Stunden nach der Aussaat vollendet. Sie geht derart vor sich, daß ein Teil des Protoplasmas sich differenziert, aber im Gegensatz zum gewöhnlichen Typus derart, daß sich in dem Stäbchen, mehr dem einen Ende genähert, eine helle Zone des Protoplasmas ungefähr in der Größe der reifen Spore sondert, in der Form jedoch mehr oval als cylindrisch. Diese Sporenanlage scheint den übrigen Teil des Protoplasmas aus dem Stäbchen in sich aufzunehmen; denn sie wird, zuerst hell erscheinend, allmählich stärker lichtbrechend, bis sie mehr der cylindrischen Form sich nähernd, vollkommen einer reifen Spore gleicht. Nach 2 Stunden kann das ganze Stäbchenprotoplasma zur Spore verwandelt worden sein, so daß nur noch die Stäbchenmembran die reife Spore umschließt. In vielen, vielleicht den häufigsten Fällen, schwindet auch sie sehr schnell.

Von den vielen weiteren Beobachtungen in dieser Art beschreibe ich nur noch eine. Material in bekannter Weise behandelt; Agar, 32—34° C.

Nach 2 Stunden begann die erste Keimung, soweit zu erkennen, äquatorial. Doch waren bei manchen äquatorialen Keimungen geringe Abweichungen von der streng senkrechten Richtung des jungen Stäbchens zur Längsachse der keimenden Sporen zu beobachten. Eine Verschiebung der Rißstelle nach den Polen zu war jedoch nicht zu erkennen. In allen Fällen ging dem eigentlichen Keimungsakte der Sporen eine Formveränderung derselben in der Weise voraus, daß dieselben sich mehr abrundeten, aber nicht immer Kugelform annahmen. Im allgemeinen erschienen sie mehr aufgequollen und ließen mehrfach wechselnde Ausbuchtungen der Membran deutlich erkennen (Prof. Lehmann). Das Stäbchen ist in ca. 2 Stunden vollkommen ausgeschlüpft und in diesem Falle waren die Stäbchen vor der ersten Teilung unbeweglich.

Die ganze Entwicklung dieses Bacillus von Spore zu Spore dauert kaum 24 Stunden, so daß ich in einigen Fällen sogar direkt die neugebildeten Sporen zur Untersuchung heranzog. Es zeigte sich jedoch, daß dieses Material im Laufe der Weiterimpfungen nicht mehr so regelmäßig keimte, daß die Zahl der keimenden Sporen wesentlich verringert war und daß auch, besonders in der Auskeimungszeit, große Schwankungen beobachtet wurden.

#### Heubacillus 1.

Dieses Bacterium keimt nicht so präzise wie das aus der Luft gezüchtete. Es wird ein Präparat an der Luft getrocknet und mit Agar versehen bei 32—34° C. beobachtet.

11 Uhr stark lichtbrechend, cylindrische Sporen mit Stäbchen untersucht, ohne Eigenbewegung.

12 Uhr 35 Min. Sporen mehr ovale Gestalt, einige fast kugelig. Stäbchen lebhaft beweglich.

1 Uhr 2 Sporen ausgekeimt, schräg äquatorial. Eine Spore (c), die sich kugelig abgerundet hatte, keimt ebenfalls; sie macht den Eindruck, als ob sie streng äquatorial ausgekeimt ist; jedoch nach einigen Minuten zieht sich

die Membran an der einen Stelle etwas zurück, und die Keimung erscheint jetzt schräg polar. Bis zum nächsten Tage sind Sporen gebildet, mit denen der folgende Versuch angestellt wird.

**Heubacillus 1.**

Stäbchen durch Kochen bei 75° C. abgetötet. Agar 32—34° C.

1 Uhr 15 Min. Sporen fast cylindrisch, wenige Stäbchen unbeweglich.

3 Uhr. Nachdem die Sporen sich etwas abgerundet haben, keimen Spore 3 und 7 streng äquatorial aus. Bei Spore 7 wurde der Moment der Keimung gerade beobachtet. Er zeigte große Ähnlichkeit mit der Art, wie der Luftbacillus auskeimte; hier drang jedoch das junge Stäbchen gleich ein ganzes Ende aus dem Membranrifs hervor und die Sporenmembran kontrahierte sich plötzlich sichtbar.

3 Uhr 5 Min. Spore 5 und 6 äquatorial ausgekeimt.

3 Uhr 15 Min. Spore 4, vorher vollkommen kugelig, keimt mit einem plötzlichen Ruck, ähnlich Spore 7. Bis zum nächsten Tage Sporen gebildet, mit denen der folgende Versuch angestellt wird.

**Heubacillus 1.**

Stäbchen durch Kochen bei 75° abgetötet. Gelatine 32—34° C.

4 Uhr. Sporen fast cylindrisch, Kanten etwas abgerundet, wenige Stäbchen unbeweglich.

5 Uhr. Alle Sporen stark verquollen, ovale Form, Nr. 1 und 3 sehr stark vergrößert.

5 Uhr 45 Min. Spore 3 keimt mit einer Spitze deutlich schräg äquatorial, Spore 5 streng äquatorial mit einer breiten Kappe.

6 Uhr 5 Min. Spore 1 schräg äquatorial, Spore 4, vorher vollkommen kugelig, keimt mit einem plötzlichen Ruck.

**Heubacillus 2.**

Material nicht vorbehandelt, an der Luft getrocknet, mit Agar beschickt, bei 32—34° C. beobachtet.

I. Versuch. Sporen stark lichtbrechend, cylindrisch, mit abgerundeten Kanten, zeigen nach ca. 1 Stunde 15 Minuten, nachdem sie sich fast vollkommen abgerundet und stark vergrößert haben, mehr weniger streng äquatoriale Auskeimung. Es keimten von 14 beobachteten Sporen innerhalb 4 Stunden 35 Minuten alle 12 veränderten Sporen.

Am nächsten Morgen zeigte das Präparat reines Sporenmateriale, alte und neugebildete Sporen. Aus diesem wird ein Präparat für den

II. Versuch angefertigt, Luft getrocknet, Agar 32—34° C.

12 Uhr. 12 Sporen gezeichnet, stark lichtbrechend, cylindrisch, Kanten etwas abgerundet; alte und neue Sporen nicht zu unterscheiden. Spore 2 und 7 sind etwas mehr oval und weniger lichtbrechend.

1 Uhr. Einzelne Sporen stark verquollen, Lichtglanz verloren, und stark abgerundet.

1 Uhr 30 Min. Nr. 5 keimt deutlich schräg äquatorial. Der Membranrifs liegt etwas dem einen Pole zu, jedoch ist das junge Stäbchen nach der andern Seite gekrümmt.

4 Uhr 30 Min. Spore 1 deutlich schräg äquatorial ausgekeimt, Spore 2 und 3 unverändert, Spore 4 unverändert, Spore 5 zeigt noch deutlicher den schräg äquatorialen Typus. Spore 6 und 7 unverändert. Spore 8 keimt schräg polar mit einer seitlichen Abknickung des Stäbchens. Spore 9 deutlich streng äquatorial. Spore 10 unverändert. Spore a und b streng äquatorial. Der Vorgang der Keimung ist derselbe, wie er bei den früheren äquatorialen Auskeimungen beobachtet wurde. Bis zum nächsten Morgen hatte ein großer Teil der Stäbchen Sporen gebildet; einige fanden sich jedoch noch in voller Beweglichkeit. Es gelang mir zufällig, hieraus ein Präparat zu züchten, das im Gesichtsfelde reines Sporenmateriale zeigte. Dasselbe wurde für den

III. Versuch mit Agar beschickt und bei 32—34° C. beobachtet.

Von 7 beobachteten Sporen keimte 1 Spore noch ca. 1 Stunde 15 Min. Die nächsten 3 Keimungen konnten erst nach 4 Stunden beobachtet werden. Im weiteren Verlaufe zeigten sich die ausgekeimten Stäbchen nur selten frei herumschwimmend, sondern sie hatten eine ausgesprochene Neigung, zu langen, unbeweglichen Fäden auszuwachsen. (Beobachtet mit Herrn Prof. Lehmann.)

Am nächsten Morgen zeigten einige Fäden Sporen in unregelmäßigen Abständen, einige Stäbchen dieser Fäden hatten gar keine Sporen gebildet. Die Fäden waren deutlich, wenn auch etwas unregelmäßig septiert.

Zwei weitere Versuchsreihen, bei denen ich ebenfalls Sporenmateriale von Präparat auf Präparat überimpfte, zeigten mir ebenfalls deutlich:

1. dafs die Sporenkeimung unregelmäßiger wird,
2. dafs weniger Sporen auskeimen und auch
3. weniger Sporen gebildet werden.

## II. Teil. Folgerungen aus den Beobachtungen; Vergleich meiner Resultate mit denen meiner Vorgänger.

Ein Blick in die Litteratur zeigt, dafs schon vor Burchard eine Reihe von Autoren Materiale zusammengebracht haben, welches den Beweis dafür liefert, dafs die verschiedenen Bakterienarten unter sich vielfach verschieden keimen. Aber aus den gleichen Arbeiten geht gleichzeitig hervor, dafs innerhalb derselben Bakterienart weitgehende Modifikationen des Keimungs-

1) P o m m e r (B. brassicae). Ein Beitrag zur Kenntnis der fadenbildenden Bakterien. Mitteil. a. d. botan. Inst. z. Graz. 1886.



typus zur Beobachtung gelangen. Es genügt wohl als Beweis hierfür zu erwähnen, daß schon Pommer<sup>1)</sup> (1886) an seinem *Bacillus brassicae* gefunden hat, daß die Sporenhaut nicht immer an ein und derselben Stelle durchbrochen wird, sondern manchmal am Pol, manchmal am Äquator oder auch an andern dazwischen liegenden Punkten; daß ferner Grethe<sup>1)</sup> ein Jahr vor Burchard an einem aus einem Papagei gezüchteten, sowie einigen Heubacillen ebenfalls alle Übergänge von der polaren bis zur äquatorialen Keimung beobachten konnte. »Durch diesen letzten Befund«, schreibt Mühschlegel<sup>2)</sup>, »erklären sich auch die auseinandergelassenen Beobachtungen von Cohn und Prazmowski. Jener sah die Sporenkeimung des *Bacillus subtilis* polar, dieser äquatorial auskeimen.« Die Cohnsche Arbeit ist 1876, die Prazmowskische 1880 erschienen. Burchards Arbeit ist erst 1898 gedruckt worden. Trotzdem schreibt er auf Seite 56: »Bei der Keimung beobachtete ich ausnahmslos, daß dieselbe bei jeder Art in einer unveränderlichen und für die Art durchaus charakteristischen Weise stattfindet. Dies bestätigen ja auch die Beobachtungen der eingangs erwähnten anderen Forscher auf diesem Gebiete, soweit sie sich nicht auf die bloße Angabe der Art der Keimung allein beschränken.« Wie vorsichtig diese Behauptung Burchards von der »ausnahmslosen Unveränderlichkeit« und dem charakteristischen Wesen jeder einzelnen Bakterienart aufgenommen werden muß, möge, ehe ich unsere Beobachtungen im Zusammenhang vergleiche, an einem Beispiel gezeigt werden. Burchard hat die Keimung des *Bacterium filamentosum* nur an 4 Sporen beobachtet, von denen zwei nach 5 Stunden 40 Min. keimten. Jedoch nur eine von ihnen zeigte ein Charakteristicum, nämlich daß sich die Sporenmembran »seitlich etwas abhob«. Die beiden andern beobachteten Sporen keimten erst am Abend des nächsten

1) G. Grethe, Über die Keimung der Bakteriensporen. Sep.-Abdr. aus Fortschritte d. Medizin, Bd. 15, 1897.

2) Mühschlegel, Über die Bildung und den Bau der Bakteriensporen. Fortschritte d. Medizin.

Tages, also nach ca. 36 Stunden; ob aber auch sie die seitlich etwas abgehobene Membran zeigten, erwähnt Burchard gar nicht. Zur weiteren Beurteilung der Burchardschen Angaben citiere ich aus seiner Zusammenfassung Absatz 4: »Es gibt Bakterien, die regelmäfsig bipolar keimen (*Bacillus bipolaris*)«, und zum Vergleich aus der Untersuchung von *bipolaris*, S. 36: »Sehr häufig sind unter zehn keimenden Sporen drei bis vier, die nur an einem Pole keimen«. Das sind bis zu 40%.

Dieses aus den Widersprüchen der Burchardschen Arbeit selbst! Ich gehe jetzt zum eigentlichen Thema: Der Konstanz und Verwendbarkeit der Sporenkeimung über.

Die Characteristica, welche Burchard als »das sicherste diagnostische Hilfsmittel zur Erkennung der Art« empfiehlt, erstrecken sich auf folgende Punkte:

- »1. Verhalten der Sporenmembran vor der Keimung,
- »2. Verhalten der alten Sporenhaut während der Keimung,
- »3. Art der Keimung des neuen Stäbchens,
- »4. Verhalten der alten Sporenhaut nach der Keimung,
- »5. Entwicklung des neuen Stäbchens,
- »6. Zeitdauer der Keimung, und
- »7. Temperaturverhältnisse.«

Um häufige Wiederholungen zu vermeiden, verzichte ich darauf, die Differenzen, welche meine Untersuchungen gegenüber der Burchardschen ergeben haben, noch einmal ausführlich an dieser Stelle wiederzugeben; dieselben finden sich oben am Schlusse jeder Untersuchung zusammengestellt. Nur das Prägnanteste habe ich für das Folgende herausgegriffen.

Die beiden Hauptforderungen, welche man an ein »sicherstes diagnostisches Hilfsmittel zur Erkennung der Art« naturgemäfs stellen muß, sind neben der Möglichkeit, dasselbe überhaupt mit Sicherheit zu erkennen, die Feststellung, dafs es

1. nur der betreffenden Art zukommt, oder wenigstens
2. der betreffenden Art immer zukommt.

Meine Untersuchungen haben wohl zur Genüge gezeigt, daß diese beiden Forderungen von keinem, der von Burchard angegebenen diagnostischen Hilfsmittel in strengem Sinne erfüllt werden. Sowohl das Verhalten der Membran vor, während und nach der Keimung, als auch die Art der Keimung des neuen Stäbchens, sowie dessen weitere Entwicklung, sind bei fast allen von mir nachuntersuchten Arten als erheblich variabel innerhalb derselben Art erkannt worden:

Die Sporenmembran von *Bacterium Petroselini* liefs bei Burchard zwei Sporenhäute erkennen, die regelmäßig nacheinander abgeworfen wurden. Diese Beobachtung soll für *B. Petroselini* das Erkennungsmerkmal bilden. Es sind jedoch schon von A. Mayer<sup>1)</sup> mittels Reagentien an andern Sporenmembranen zwei Häute als Exine und Intine beschrieben worden; ferner hat auch Mühlischlegel<sup>2)</sup> an einer Reihe von Bacillensporen zwei Schichten der Membran, nämlich ein mattgraues, breiteres Endosporium und ein dünneres, als scharfe Linie erscheinendes Ektosporium färberisch nachweisen können. Bei meinen Versuchen mit *Petroselini* habe ich zwar zuweilen eine zweischichtige Sporenhaut während der Keimung unterscheiden können, jedoch nur zweimal habe ich bei einer größeren Reihe von Versuchen die beiden Häute hintereinander abstreifen sehen; meistens waren aber auch nicht einmal die beiden Schichtungen zu erkennen. Somit besitzt das *Bacterium Petroselini* Burchard das von seinem Entdecker angegebene Erkennungsmerkmal 1. nicht allein<sup>3)</sup>, und 2. läßt es dieses Merkmal nicht immer erkennen. Aber auch das Verhalten und die Entwicklung des Keimstäbchens, der eigentliche Auskeimungsmodus des *Bact.*

1) A. Mayer, Studien über die Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Bakterien, ausgeführt an *Astasia asterospora* A. M. und *Bacillus tumescens* Zopf. Flora. Ergänzungsband, Bd. LXXXIV, 1897, Heft 3.

2) a. a. O.

3) Burchard hat offenbar durch Übersehen der zitierten Arbeiten die Bedeutung seiner schönen Beobachtung von der doppelten Sporenmembran überschätzt. Daraus erwächst ihm kein ernster Vorwurf. Ebenso halte ich es für möglich, daß die von Burchard beobachteten *Petroselinussporen* alle deutlich zwei Membranen erkennen liefsen.

Petroselini, den Burchard als polar beschreibt, zeigte mir weitgehende Variationen; in einem Falle war sogar die Auskeimung deutlich äquatorial und das keimende Stäbchen bog sich nach dem einen Pole um (vgl. S. 86, 87).

Vielleicht noch gröfsere Variationen, sowohl betreffs des Verhaltens der Membran als auch des jungen Stäbchens, beobachtete ich bei *Bacillus goniosporus* Burchard. Wie ich schon bei meinen Versuchen erwähnt habe, hat Burchard es unterlassen, das Characteristicum, welches er während der Keimung dieses *Bacillus* beobachtete, anzugeben. Ich nehme aus seiner Beschreibung an, dafs es auch hier wiederum in dem Verhalten der Sporenmembran zu suchen sei, welche nach der Keimung »den Stäbchen als helles, durchsichtiges Mützchen« aufsitzt. Aber jeder, der sich mit Sporenkeimung beschäftigt hat, wird zugeben müssen, dafs die Membran stets als helles Mützchen oder mehr weniger durchsichtige Kappe dem Stäbchenende aufsitzt, wenn es sich nicht um ein vollkommenes Verquellen derselben handelt. Dieses vollkommene Verquellen der Sporenmembran während der Keimung habe ich nun gerade bei *Goniosporus* unter bestimmten Bedingungen regelmäfsig erhalten. Nämlich, wenn ich die Untersuchungen in Gelatine vornahm. Züchtete ich den *Bacillus* auf Gelatine weiter und untersuchte ihn in Gelatine, so verquoll die Membran vollkommen, indes bei einer Keimungsbeobachtung dieses auf Gelatine weiter gezüchteten Materials im frischen Agar an der Mehrzahl der Sporen wieder eine Membran deutlich zu erkennen war (vgl. Versuchsreihe *Goniosporus* S. 81). Nicht ganz frischer Agar zeigte stets an allen Sporen eine Membran. Ich glaube deshalb mit einem gewissen Rechte für dieses verschiedene Verhalten der Membran, die Verschiedenheit der Nährböden in Anspruch nehmen zu dürfen. Migula schreibt in seinem »System der Bakterien«, Sporenkeimung S. 194: »Die Keimung ist verschieden, je nach dem Nährboden, in welchem sich die Spore befindet.« Koch hat keine Abhebung der Sporenmembran beobachten können »und in der That kommt es bei *Bac. anthracis* in flüssigen Nährsubstraten häufig nicht dazu«. In festen Nährböden spielt sich

der Keimungsprozefs jedoch derart ab, dafs die Sporenmembran polar zerreift.

Erkennen wir diese Einwirkung des Nährbodens, der niemals ein absolut konstanter ist, auf das Verhalten der Sporenmembran an, so erscheinen die Angaben Burchards, dafs für eine ganze Reihe von Arten der Grad der Verschleimung der Sporenmembran bei der Keimung charakteristisch sei, mindestens weiterer Nachprüfung bedürftig. Ich selbst konnte von Kral keine Kulturen dieser Arten bekommen; bin jedoch subjektiv überzeugt, dafs auch hier ähnliche Resultate wie bei *Goniosporus* erhalten werden.

Höchst eigentümlich war das Verhalten des keimenden Stäbchens von *Filamentosum* E. Klein. Dort fand ich nicht allein statt der von Burchard beschriebenen einfachen polaren Keimung ein eigentümliches, gekrümmtes Verhalten des Stäbchens vor der Keimung, sondern auch die Art der Keimung war im höchsten Grade wechselnd, bald polar, bald äquatorial. Eine hypothetische Erklärung dieser Variation aufzustellen, will ich mir versagen, da meine Untersuchungen mir noch keine genügende Stütze bilden. Erwähnt sei nur, dafs *Bact. filamentosum*, sowie auch *Bac. loxosporus* Burchard, der sich ähnlich verhielt, schon längere Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet worden sind.

Auch die andern von mir nachuntersuchten Burchardschen Arten zeigten mehr weniger individuelle Variationen, welche ich stets am Ende jeder Untersuchung hervorgehoben habe.

*Bacillus gangränosus* pulpae keimte hauptsächlich äquatorial bis schräg äquatorial. Eine Besonderheit im Verhalten der Membran war mir nicht möglich festzustellen.

Es erübrigt nun noch auf die Keimung der von mir frisch gezüchteten Bacillen einzugehen. Um Wiederholungen zu vermeiden, verweise ich auch hier wiederholt betreffs eingehenderer Schilderung auf den untersuchenden Teil. Fasse ich die dort gemachten Untersuchungen zusammen, so ist hervorzuheben, dafs dieselben, wenn auch nicht im Sinne Burchards konstant, so doch wesentlich regelmäfsiger keimten als die Burchardschen

Arten. Und um die Probe auf das Exempel zu machen, konnte ich bei dem Weiterzüchten dieser Bacillen auf künstlichen Nährböden unter steter mikroskopischer Beobachtung feststellen, wie die einzelnen Arten immer unregelmäßiger keimten. (vgl. Versuchsreihe S. 93).

Weder die Zeit, welche bis zur Keimung verstreicht, noch die Temperatur, welche zur Keimung notwendig ist, liefert, wie ebenfalls aus meinen Untersuchungen in Übereinstimmung mit den anderen Autoren hervorgeht, höhere und brauchbare Speciesmerkmale.

### Schlussfolgerungen.

Es lassen sich aus diesen Beobachtungen folgende Hauptresultate ziehen:

1. Es gibt verschiedene Typen der Sporenkeimung, und dieselbe ist bei den einzelnen Arten oft recht verschieden; jedoch zeigt sich auch innerhalb der einzelnen Arten zuweilen große Variabilität, indem oft in sehr erheblichem Prozentgehalt verschiedene Individuen wesentliche Abweichungen von dem für die Art festgesetzten Typus bilden.

2. Die Thatsache, dafs bei der gleichen Bacillenart, je nach dem Nährboden, die Sporenmembran bald deutlich abgeworfen wird, bald vollkommen verquillt und dann verschwindet, muß bei Verwendung dieser Eigenschaft zur Artdiagnose sehr berücksichtigt werden.

3. Die Variabilität wächst mit dem Weiterzüchten auf künstlichen Nährböden. Es mag darin zum Teil die Verschiedenheit meiner Resultate von denen Burchards begründet sein.

4. Es gibt Bacillen mit zwei Sporenhäuten; jedoch ist hieraus beim gegenwärtigen Stand unserer Kenntnis kein Merkmal zur Erkennung einer bestimmten Art zu konstruieren.

5. Es gibt Bacillen, die bipolar keimen; jedoch zeigen bei den bisher beschriebenen Arten stets sehr viele Individuen einfach polare Keimung.

6. Ein Bedürfnis zur Aufstellung des Typus »schräg polare Keimung« scheint mir nicht zu bestehen. Stets finden sich bei polar wie äquatorial keimenden Arten eine Anzahl schräg polar keimender Individuen. — Spezies, die konstant schräg polar keimen und nicht sehr viele polar oder äquatorial keimende Individuen enthalten, erscheinen mir nicht einwandfrei beschrieben.

7. Nimmt die Spore vor der Keimung Kugelform an, so wird der Entscheid, ob äquatoriale oder polare Keimung stattfindet, unmöglich.

8. Aus allem Gesagten folgt als Endergebnis:

Die Art der Sporenkeimung ist ein Artmerkmal, das volle Aufmerksamkeit verdient. Die Behauptung aber, daß die Sporenkeimung für jede Art in durchaus unveränderlicher charakteristischer Weise verläuft und daher das sicherste diagnostische Hilfsmittel zur Erkennung der Art ist (Burchard), geht viel zu weit. Weder besitzt jede Art einen auffallend von den anderen Arten abweichenden Modus der Sporenkeimung, noch ist dieser Modus für jede Art konstant. Die Sporenkeimung variiert vielmehr, namentlich bei der längeren Kultur der Arten fast in ähnlicher Weise wie die übrigen morphologischen und biologischen Eigenschaften der Bakterien.

Die Sporenkeimung ist somit wohl unter den angeführten Einschränkungen ein beachtenswertes, aber keineswegs ein absolut charakteristisches, also auch kein ausreichendes Merkmal zur Artcharakterisierung.

Als ich gerade im Begriff war, Herrn Prof. Lehmann diese Arbeit vorzulegen, wurde mir von demselben eine bis heute<sup>1)</sup> in zweiter Fortsetzung erschienene Abhandlung von Dr. O. Gottheil, »Botanische Beschreibung einiger Bodenbakterien«, weil sie auch mein Gebiet streifte, zur Durchsicht übergeben. Aus derselben habe ich hervorzuheben, daß sich die dort niedergelegten Beobachtungen mit meinen Resultaten vollauf decken und eine

1) Zweite Fortsetzung, erschienen im Centralblatt f. Bakteriologie etc. Zweite Abhandlung, VII. Bd., Nr. 13. Jena, 10. Juni 1901. Untersuchung der Keimung der Sporen, S. 456.

nachträgliche wesentliche Stütze für die aufgestellten Thesen zu bilden wohl imstande sind.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Dr. Lehmann für die hilfreiche Unterstützung bei der Anstellung der Versuche, sowie für das grofse Interesse, welches derselbe dem Verlaufe dieser Arbeit entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen tiefgefühltesten Dank auszusprechen.

---



## Tafelerklärung.

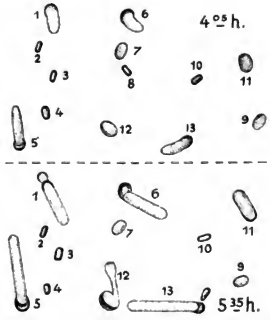
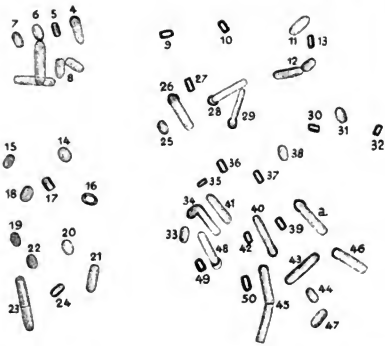
Aus naheliegenden Gründen ist es unterlassen, alle auskeimenden Sporen in den einzelnen Phasen ihrer Entwicklung im Bilde festzuhalten; ich habe mich vielmehr begnügt, das Wichtigste, die Differenzen in den Keimungstypen derselben Art, zu fixieren.

- Fig. I. Bacillus goniosporus, frischer Agar, 32—34° C.
- Fig. II. Bacterium Petroselini, Agar, 32—34° C.
- Fig. III. Bacterium Petroselini, Agar, 32—34° C.
- Fig. IV. Bacterium filamentosum, Agar, 32—34° C.
- Fig. V. Bacterium filamentosum stark schematisiert.
- Fig. VI. Luftbacillus, Spore 4, in den einzelnen Phasen ihrer Entwicklung.

*Bac. goniosporus*  
Fig. 1.



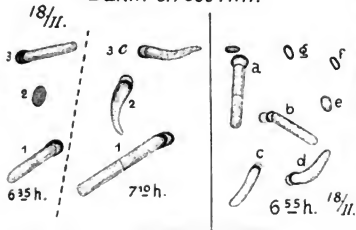
*Bakt. Petrose lini.*  
18/II.  
Fig. 2.



*Bakt. Filamentosum.* 26/II.



Fig. 2. *Bakt. Petrose lini.*



*Bakt. Filamentosum.* 29/II.

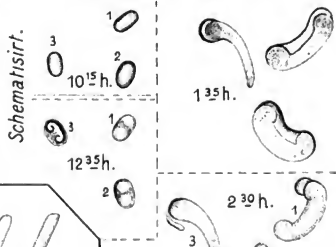


Fig. 6. *Luftbacillus.*  
Spore 4

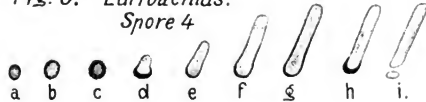


Fig. 5.

Krapf del

# Studien über die Absterbebedingungen der Sporen einiger Aspergillusarten.

Von  
Prof. **A. Lode.**

(Aus dem hygienischen Institute der k. k. Universität in Innsbruck.)

Die ältere und auch die neuere Litteratur ist verhältnismäßig reich an Beobachtungen, welche mehr oder weniger tief eingreifende Störungen der Gesundheit betreffen, als deren Ursache Schimmelpilze und zwar in überwiegender Anzahl Aspergillusarten bezeichnet werden. Diese Erkrankungen betreffen nicht allein den Menschen, sondern zahlreiche Tierspezies, bei letzteren nicht selten die Form ausgebreiteter Epizootien annehmend, die den Stand der befallenen Tiere arg vermindern und wieder Anlaß zu Übertragungen auf den Menschen geben.

So ist die Pneumomycosis aspergillina nach Angabe französischer Autoren<sup>1)</sup> eine verhältnismäßig häufige Beobachtung.

In der Reihe der natürlich erkrankten Tiere scheinen die Vögel besonders stark vertreten. Aus einer Zusammenstellung der diesbezüglichen Litteratur von Schütz<sup>2)</sup> in den Mitteilungen des kaiserlichen Reichsgesundheitsamtes ist zu entnehmen, daß fast alle Vogelarten, ich erwähne das Huhn, die Taube, die Gans,

1) Vgl. Froesch, Systematik der Fadenpilze in Flüggés Handbuch der Mikroorganismen, II, S. 21.

2) Schütz, Über das Eindringen von Pilzsporen in die Atmungswege und die dadurch bedingten Erkrankungen der Lungen. Mitteilungen aus d. Reichs-Gesundheitsamte, II, S. 208.

den Schwan, Papagei, Fasan, Falken, Dompfaff, Holzhäher, die Schneeeule, den Straufs und Königsadler schwer und zum Tode führende Schimmelmikosen — vorwiegend die Lungen und die Luftsäcke betreffend — zeigen können.

Von den größeren Haustieren sind Fälle bei der Kuh und beim Pferde bekannt geworden.<sup>1)</sup>

Künstlichen Infektionen, besonders leicht mit *aspergillus fumigatus*, sind außer verschiedenen Vogelarten (Gans, Taube, kleine Singvögel) auch Kaninchen zugänglich. Erstere, wie wir uns im hiesigen Laboratorium mehrfach überzeugten, am einfachsten, indem man die Versuchstiere in einen Raum bringt, in welchem sich reife, reichlich versportete Schalenkulturen, die man mittels eines Gebläses anbläst, befinden. Ebenso leicht gelingt die Infektion, wenn man die Versuchstiere mittels des Apparates von H. Buchner verspraysporensuspensionen einatmen läßt.

Bei Kaninchen führt die Injektion von Sporen in die Vene des Ohres oder in die äußere Jugularvene meist leicht zum Ziele<sup>2)</sup>, vorausgesetzt daß man genügend große Mengen Sporenmateriale des *Aspergillus fumigatus* injiziert hatte; als minder pathogen erwies sich *aspergillus flavus* und *aspergillus niger*. Wie Leber<sup>3)</sup> zuerst beschrieb, gelingt auch die Ansiedelung des *Aspergillus* in der Hornhaut leicht, wenn man ein kleines Partikelchen des Pilzmyceliums in eine Hornhautwunde einführt oder eine indifferente Flüssigkeit, welche *Aspergillus*sporen suspendiert enthält, in das Hornhautgewebe einspritzt.

Bei den durch Inhalation infizierten Tauben entwickelt sich meist nach 2—3 Tagen ein schweres Krankheitsbild; die Tiere

1) s. Bournay, Pneumomycose aspergillaire chez une vache (Revue vét. de Toulouse, 1895, p. 121. — Frank, Deutsche Zeitschr. f. Tiermed. in vergl. Path., XVI, 1890. — Lucet, Etudes chimiques et spérím. sur l'aspergillus fumigatus. (Boull. de la Soc. centr. de medic. vét. 30 juin 1894, u. a.

2) Grawitz, Über Schimmelvegetationen im tierischen Organismus. Virchows Archiv, Bd. LXXXI.

3) Leber, Keratomycosis aspergillina als Ursache von Hypopyonkeratitis. Graefes Archiv, Bd. 25, Abt. II, S. 285.

sitzen mit gesträubten Federn, die Atmung ist frequent und mühsam; nach wenigen Stunden bis mehreren Tagen tritt der Tod ein. In einem Falle trat der tödliche Ausgang in weniger als 36 Stunden ein, während Tiere, die gleichzeitig der Inhalation ausgesetzt waren, nach 12 und 15 Tagen der Infektion erlagen. Meist rascher und mit geringeren Mengen sind kleine Singvögel, wir verwendeten Gimpel, zu töten.

Bei der Sektion sieht man meist einen mehr oder minder ausgebreiteten Teil des Parenchyms beider Lungen verdichtet und blutreich. Die Ausstrichpräparate lassen neben zahlreichen Leukocyten, roten Blutkörperchen, gequollenen Alveolarepithelien, meist in stattlicher Anzahl die verästelten Mycelien des *Aspergillus* erkennen. Besonders schön sind die mikroskopischen Bilder im Schnittpräparate, das nach der Gram-Günther oder Gram-Weigertischen Färbung behandelt ist. Die Mycelien nehmen die Gramsche Färbung prächtig auf und lassen viel besser als im ungefärbten Präparate ihre weit in das Gewebe hineinragenden Fäden und Verästelungen erkennen.

In einigen Fällen waren die pathologischen Veränderungen nur auf die Lungen beschränkt, und weder das Mikroskop noch der Kulturversuch gestattete den Nachweis von Pilzelementen im Blute oder in den inneren Organen. In anderen Fällen waren jedoch mehr oder minder zahlreiche Herde, besonders an der Oberfläche der Nieren, des Peritoneums zu sehen, die kleinere und größere Knötchen darstellten und teilweise oberflächlich zerfallen erschienen. In diesen Knoten konnte kulturell und auch leicht mikroskopisch die Anwesenheit von Pilzfäden festgestellt werden.

Beim Menschen treten *Aspergillus*mykosen hauptsächlich in drei Formen bzw. in drei Organen auf: 1. Als Mykosen des Respirationstraktus hauptsächlich in der Lunge, pneumonische Erkrankungen hervorrufend. Die Litteratur, sowohl die ausländische als auch die deutsche, enthält eine reiche Casuistik, auf die wir an dieser Stelle um so weniger einzugehen brauchen, als vor einigen Jahren Renon in einer Monographie: *Etude sur l'aspergillose chez les animaux et chez l'homme*, Paris 1897

das einschlägige Material gesichtet und kritisch besprochen hat. Hervorzuheben wäre allenfalls die nicht selten vorkommende Mischinfektion des Aspergillus mit dem Tuberkelcaccillus. Interessant und gewerbehygienisch in der deutschen Litteratur, soweit ich dieselbe überschaue, nicht erwähnt sind die Pneumomykosen, welche die Taubenfütterer und die Haarkämmer häufig erleiden.

Das erstere Gewerbe<sup>1)</sup> les gaveurs de pigeons, in Paris kaum mehr als zehn Vertreter aufweisend, befasst sich mit dem Atzen der jungen, für den Markt aus Südfrankreich und Oberitalien hergesendeten Tauben. Auch während des Transportes werden die Tauben, z. B. auf dem Bahnhofe in Modena, von einem Gaveur gefüttert. Die Beschäftigung dieser Leute besteht in folgendem: Zuerst wird in einem Kübel eine Mischung hergestellt aus Wasser, Wickensamen und Hirsekörnern, worauf der Mann seinen Mund mit diesem Brei anfüllt. Hernach faßt er die Taube bei den Flügeln mit einer Hand, mit der anderen öffnet er den Schnabel, nähert denselben seinem Munde und schiebt, so viel die Taube aufnehmen kann, von der Nahrung in den geöffneten Rachen. Die ganze Manipulation dauert pro Taube nur wenige Sekunden, so dafs jeder Atzer des Morgens und des Abends nicht weniger als je 2000, in der Hochsaison bis zu 6000 Tauben pro Tag zu füttern in der Lage ist.

Das zweite Gewerbe, welches zur Aspergillusmykose disponiert ist, ist das der Haarkämmer. Diese (les peigneurs de cheveux) befassen sich mit dem Sortieren der aus den Kehrriechkisten gesammelten menschlichen Haare, indem sie dieselben nach Länge, Farbe, Dicke ordnen, um sie den Coiffeuren hernach zu verkaufen. Wenn die Haare trocken sind, werden sie ohne weiteres gekämmt, sind sie hingegen fett, werden sie mit Roggenmehl bedeckt und behandelt. Bei dieser Arbeit kommt es zu starker Staubbelästigung durch den Mehlstaub, welcher bekanntermassen Aspergillussporen in großer Menge enthält. Auch den Arbeitern scheint die Gefahr bekannt zu

1) Siehe Renon, a. a. O., 199 u. ff.

sein. Renon zitiert die Äußerung eines Kranken: »C'est la farine qui nous tue«.

Auch bei den Taubenmästern sind die den Futterkörnern anhaftenden Sporen vermutlich das ätiologische Moment.

Eine zweite Gruppe von Aspergilluserkrankungen beim Menschen betrifft die Hornhaut des Auges und wurde von Leber<sup>1)</sup> zuerst unter dem Namen Keratomycosis aspergillina beschrieben. Es handelte sich um eine schwere Hypopyonkeratitis, welche ätiologisch deshalb interessant ist, weil der Krankheitsprozess nach einer Verletzung durch eine gegen das Auge angeflogene Haferspelze entstanden war.

Ein weiterer, von Uthoff<sup>2)</sup> beschriebener Fall betrifft einen Mann, dem beim Schütteln eines Birnbaumes eine Birne an das Auge fiel. Weitere Fälle haben Fuchs<sup>3)</sup>, Uthoff, Axenfeld, Schirmer<sup>4)</sup> u. a. veröffentlicht.

Die dritte Gruppe von Affektionen betrifft den äußeren Gehörgang. Aus der Fülle der einschlägigen Litteratur, die Siebenmann<sup>5)</sup> bis zum Jahre 1889 und neuerdings Renon<sup>6)</sup> gesammelt hat, ist zu ersehen, dass die Otomycosis aspergillina eine überaus häufige Mykose ist, die desto häufiger beobachtet wird, je aufmerksamer man nach ihr sucht. So kommt nach Bezolds<sup>7)</sup> Beobachtungen durchschnittlich auf 65 Ohrenkranke eine Pilzinvasion. Bezold hat allein 48 Fälle selbst beobachtet. Wreden verfügte bereits 1873 über 74 eigene Beobachtungen.

In einem Teile der Fälle handelt es sich nicht um Mykosen im eigentlichen Sinne des Wortes, sondern um eine harmlose Wucherung von Mycelien im Cerumen. In anderen Fällen dagegen dringen

1) Leber, Graefes Archiv, Bd. 25, II, S. 285.

2) Berliner klin. Wochenschrift, 1889, S. 39.

3) Wiener klin. Wochenschrift, 1894, S. 39.

4) Cit. nach Renon, a. a. O., S. 277 u. 278.

5) Siebenmann, Die Schimmelmcykosen des menschlichen Ohres. Wiesbaden, 1889.

6) a. a. O., S. 280.

7) Bezold, Vortrag im Münchner ärztl. Verein, cit. n. Siebenmann, a. a. O., S. 37.

die Pilze in das Epithel des äußeren Gehörganges und des Trommelfelles, schwerere Symptome auslösend.

Als seltene Vorkommnisse seien nebenher auch die Aspergillusmykosen der Haut und des Nasenrachenraumes erwähnt.

Trotz der Manigfaltigkeit der beschriebenen Krankheitsbilder ist wenig Exaktes über die Abtötung der Krankheitserreger bekannt. Einzelne, meist nach unexakten Methoden ausgeführte Versuche über die Absterbebedingungen der Aspergillinen finden sich zwar, doch fehlt eine Einheitlichkeit der Versuchsanordnung und die Beobachtung jener Kautelen, die nur allein sichere Schlüsse über die Widerstandsfähigkeit einer Mikrobenart gestatten. Entsprechend der Unsicherheit unseres Wissens nach dieser Richtung ist auch das therapeutische Handeln der Autoren. Neben wirklich pilztötenden Agentien werden harmlose Präparate empfohlen oder Beimengungen zu desinfizierenden Flüssigkeiten gemacht, die als überflüssig für den Desinfektionseffekt sich erweisen. Aber auch in biologischer Hinsicht ist es interessant, den wichtigen Formenkreis der Schimmelpilze hinsichtlich seiner Absterbebedingungen in den Kreis einer Untersuchung zu ziehen. Nicht in letzter Linie sei auch hier nochmals der Epizootien gedacht, bei deren Bekämpfung naturgemäß eine wirksame Desinfektion der Ställe und Käfige, sowie der Gegenstände, mit welchen die Pfleglinge in Berührung kommen, zu erstreben ist. Ohne exakte einschlägige Versuche würde man sicherlich nicht auf dem besten und billigsten Wege zum Ziele gelangen.

Wir wollen im folgenden einige wichtigere Angaben über die Beeinflussung von Schimmelsporen durch physikalische Einflüsse oder chemische Agentien kurz anführen und hierbei nur jene Autoren erwähnen, welche systematische Untersuchungen über unsere Frage ausgeführt haben.

In erster Linie ist hier Siebenmann zu erwähnen, der eine Reihe einschlägiger Angaben<sup>1)</sup> in seiner Monographie über

1) Siebenmann, Die Schimmelpilzmykosen des menschlichen Ohres. Medizin.-botan. Studien auf Grund experimenteller Untersuchungen. II. verm. Ausgabe von: Die Fadenpilze Aspergillus u. Eurotium. Wiesbaden, 1889, S. 26.



die Schimmelmikosen des menschlichen Ohres gemacht hat. Leider waren seine Methoden, und zwar sowohl die von ihm selbst als unbrauchbar bezeichnete erste, als auch die verbesserte zweite, nicht geeignet, irgend welche zum Vergleiche heranzuziehende Resultate zu liefern.

Anfangs wurde aus Conidien und Gelatine ein Brei gemacht und in diesen Seidenfäden getaucht; letztere wurden in die zu prüfende Flüssigkeit gegeben, getrocknet und auf Glasplatten mit einer von Prof. Lichtheim angegebenen Nährgelatine (mit Zusatz von Zucker und Ammon. oxal.) übergossen. Es ergab sich, daß Chlorwasser, Bromwasser 3%, Jodwasser  $\frac{1}{7}$ ‰, Jodoformalkohol 4%, Naphthalinalkohol 6%, Salicylwasser 0,3%, Salicylalkohol, Alkohol konz., Karbolwasser 5%, Quecksilbersublimat  $\frac{1}{100}$  und eine wässrige konzentrierte Lösung von frischem Cerumen in 15 Minuten die lebensfähigen Sporen resp. Mycelien getötet hatten.

Das fehlerhafte dieser Methode liegt darin, daß die Seidenfäden mit einer Schichte Gelatine imprägniert wurden, welche einerseits ein Eindringen des Antiseptikums erschwert, andererseits die Anwendung der optimalen Temperatur (bei Aspergillus ca. 35° C.) unmöglich macht und auch den Luftzutritt, der für das Wachstum der Schimmelpilze notwendig ist, erschwert.

Den angeführten negativen Wachstumsergebnissen stehen positive gegenüber, die bei Anwendung einer wässrigen Lösung von Kalium chloricum 4%, Kaliseife 1%, Zinkchlorid 2% beobachtet waren.

In der zweiten Versuchsreihe wurden versportete Gelatinekulturen in Stückchen von ca. 1 qcm zerschnitten und diese Stückchen in Antiseptica gebracht, abgespült und in Gelatine gelegt. Die früher hervorgehobenen Fehler der Methode sind der abgeänderten ebenfalls zur Last zu legen, wozu noch der Umstand kommt, daß in die jetzt beträchtlicheren Gelatinestücke noch schwieriger als in die imprägnierten Seidenfäden das Antiseptikum einzudringen vermag. Dementsprechend ungünstig sind auch die Sterilisationserfolge. So hatten nach zehnstündigem Verweilen in rektifiziertem Alkohol, in  $\frac{1}{100}$  Sublimat-

lösung, in gesättigtem Naphthalinalkohol, nach zwölfstündigem in gesättigten Bor- und Salicylsäurelösungen die in den Gewebstücken eingeschlossenen Sporen die Keimkraft noch nicht verloren; erst nach 12—20 stündigem Verweilen hatte der rektifizierte Alkohol desinfizierend gewirkt. 1% Bleiacetat erwies sich selbst nach 20stündiger Einwirkungsdauer als unwirksam, ebenso 3% Karbolsäure nach zehnstündiger Einwirkung, während 5% Karbolwasser bei zehnstündiger Einwirkung getötet hatte.

4% Salicylalkohol tötete nach sechsstündiger Einwirkung unverlässlich, nach zehnstündiger sicher.

Interessant ist ferner Siebenmanns Angabe, dass Aspergillusconidien in stark ammoniak- oder schwefelammonhaltiger Luft in drei Tagen ihre Keimkraft völlig verloren hatten. Auch die Angabe, dass in einer Luft von 50—60° 12 Stunden zur Abtötung hingereicht hatten, verdient Beachtung.

Weiters wären zwei französische Autoren, die sich eingehender mit der Ätiologie der Aspergillusmykosen befasst haben, zu erwähnen.

Renon widmet in seiner oben zitierten Monographie, S. 66, ein ganzes Kapitel der Resistenz der Sporen der Aspergillusarten. Er konstatiert ihre große Widerstandsfähigkeit gegenüber atmosphärischen Einflüssen; vier Jahre alte, im Laboratorium bewahrte Kulturen erwiesen sich lebensfähig. Auch bei geöffnetem Wappropf und völligem Eintrocknen der Raulinschen Flüssigkeit blieben die Sporen monatelang am Leben. Im infizierten Ei waren sie (Lucet) noch am Ende eines Jahres, in faulenden tierischen Flüssigkeiten nach einem Monate lebensfähig. Doch zeigten alte Sporen gegenüber jüngeren ein verzögertes Wachstum.

Kälte schädigt das Wachstum nicht, selbst wenn Temperaturen unter 0° C. einwirken. In einem Raume, dessen Temperatur des Nachts täglich auf 4—5° C. absank, waren die Sporen nach einem Monate lebensfähig. In einem Eisblock eingefrorene Sporen blieben durch zwei Monate entwicklungsfähig (Lucet). Gefriermikrotomschnitte der Kaninchenniere enthielten noch

lebende Sporen, ein Verhalten, das Lichtheim<sup>1)</sup> auch für die jungen Mycelien in den Pilzherden der Niere beschrieb.

Höheren Temperaturen gegenüber zeigte sich der Pilz ebenfalls recht widerstandsfähig. Im Wasserbad hielt er suspendiert in Sabouraudscher Flüssigkeit 60° C. durch 10 Minuten, 57° durch ¼ Stunde, 53° durch 48 Stunden aus. Dagegen ging er in 60grad. Wasser in 5½ Stunden, bei 57° C. während 15 Stunden zu Grunde.

Von chemischen Desinficientien erwähnt Renon a. a. O. nur einen eigenen Versuch mit Quecksilbersublimat, das in einer Lösung von 1 : 1000, mit Weinsteinsäure angesäuert, nach einer Viertelstunde den Sporen ihre Keimfähigkeit geraubt hatte.

Auch im Tierkörper findet man die Sporen lange lebend. Ein von Renon zitierter Fall, in welchem ein Hase 5½ Monate nach der Infektion in der Leber den Nachweis von entwicklungs-fähigem Materiale zu erbringen gestattete, könnte freilich auch als chronische Aspergillusmykose gedeutet werden. Im Lymphsacke des Frosches und in den Organen desselben fanden sich 35 Tage nach der Impfung lebende Pilze<sup>2)</sup>. Ebensowenig vernichteten die Verdauungssäfte ihre Lebensfähigkeit, was aus der Untersuchung von Fäkalien, des Magen- und Darminhaltes von mit Pilzsporen gefütterten Kaninchen und Meerschweinchen erwiesen wurde.

In einem Berichte an die Société de biologie vom Jahre 1895<sup>3)</sup> erwähnt Renon einige Versuche zur Feststellung der entwicklungs-hemmenden Konzentration des Silbernitrats. Mit Aspergillus fumigatus erhielt er negative Resultate bei Verwendung von 1—4 Tropfen einer Silbernitratlösung 1 : 100 für 4, 5 und 10 ccm Nährflüssigkeit, als welche die Raulinsche Flüssigkeit, die Maltoselösung von Sabouraud, Weinwürze, Bierwürze und Glycerinbouillon verwendet wurden.

1) Lichtheim, Über pathogene Schimmelpilze. I. Die Aspergillusmykosen. Berliner klin. Wochenschr., 1882, Nr. 9.

2) Renon, Recherches sur le premier stad. de l'infection dans l'aspergillose expérim. Bull. med. Nr. 60, p. 717, 1896.

3) Renon, De la resistance des spores de l'aspergillus fumigatus. Comptes rend. de séances et memoires de la société de biologie, II. Bd., Ser. 10, 1895, p. 91.

Wenn man die hierbei erreichte Konzentration unter der Annahme, daß 20 Tropfen einem Kubikcentimeter, also 1 Tropfen 0,0005 g Silbernitrat entspricht, berechnet, so hat man in dem Falle, in welchem 4 Tropfen 4 ccm Flüssigkeit zugesetzt wurden, eine Lösung von  $\frac{5}{10} \frac{0}{100}$ , bei Hinzufügung von 1 Tropfen zu 10 ccm  $\frac{5}{100} \frac{0}{100} = \frac{5}{1000} \frac{0}{10}$ .

Bedenkt man ferner die vermutlich stattfindende Bindung eines Teiles des Metallsalzes durch die organischen Verbindungen des Nährbodens, so begreift man die Unwirksamkeit der verwendeten Konzentrationen.

Wurden ferner feuchtes Brot oder Kartoffelscheiben in eine Lösung von 50 Tropfen Silbernitratlösung 1:100 zu 25 ccm Wasser, oder in eine Lösung von 5 Tropfen der gleichen Silberlösung zu 10 ccm Raulinscher Flüssigkeit getaucht, so trat nur im letzteren Falle einige Male Wachstumshemmung ein. In diesem Falle betragen die Konzentrationen nach meiner Berechnung im ersteren Falle rund  $\frac{1}{10} \frac{0}{10}$ , bei Verwendung der Raulinschen Flüssigkeit  $\frac{2 \cdot 5}{100} \frac{0}{10}$ .

Mit Rücksicht darauf, daß sich Jodnatrium bei der Therapie der Aspergillus-pneumomykose verhältnismäßig bewährt hatte<sup>1)</sup>, wurde auch dieses Salz geprüft. Auch bei diesen Versuchen ist die Menge der verwendeten Lösungen nur in Tropfen angegeben und daher nur schätzungsweise ermittelbar. Der Jodkaligehalt in der verwendeten Würze resp. Raulinschen oder Sabouraudschen Lösung betrug  $6 \frac{1}{4}$  und  $12 \frac{1}{2} \frac{0}{10}$ . Der Erfolg war ein negativer.

Auch Lucet<sup>2)</sup> stellte die Widerstandsfähigkeit der Aspergillussporen gegenüber einer Reihe atmosphärischer Einflüsse fest. Bei Zimmertemperatur und am Lichte hielten sich Kartoffelkulturen durch mehr als zwei Jahre. Ebenso lange waren sie auch, bei Zimmertemperatur bewahrt, auf Filtrierpapier eingetrocknet lebend. Im Brutschranke bei 37° C. bewahrte Kartoffelkulturen waren nach 10 Monaten in einem Eisblocke eingefrorene Sporen, noch nach 2 Monaten züchtbar.

1) Renon, Etude sur l'aspergillose. Loc. cit., p. 255.

2) Lucet, De l'aspergillus fumigatus chez les animaux domestiques et dans les œufs en incubation; étude clinique et expérimentale. Paris, 1897.

In faulenden Flüssigkeiten hielten sie sich durch einen Monat, in einem Abscesse bei einem Kaninchen durch 2 Monate. Einem Meerschweinchen und einem Pferde wurden Sporen per os einverleibt, nach einigen Tagen gelang ihr Nachweis in den Fäces. (Einwandfrei?)

Mit Sporen getränkte und getrocknete Seidenfäden waren nach 12stündigem Verweilen getötet in 5proz. Lösungen von Schwefelsäure, Salpetersäure, Phenol, Sublimat, Zinksulfat, Zinkchlorid und Silbernitrat; dagegen waren bei gleicher Konzentration und Einwirkungsdauer Salzsäure, Borsäure, Kupfer- und Eisensulfat, Calomel (5% Lösung?) und Crésyl Jeyes unwirksam.

Überblickt man die Ergebnisse, welche in den angeführten Berichten niedergelegt sind, so sind sie trotz einer ziemlichen Anzahl von Einzelversuchen, höchstens orientierend.

Dabei kranken Siebenmanns Versuche an einer unzureichenden, übrigens erst nach seinen Veröffentlichungen besser ausgebildeten Methodik. Lucets Angaben sind teilweise nicht einwandfrei und mindestens allzu skizzenhaft. Renous Angaben, insbesondere jene seiner antiseptischen Versuche mit chemischen Agentien sind hinsichtlich der Dosierung so ungenau, daß sie auf wissenschaftlichen Wert wenig Anspruch machen können. Freilich sind die zitierten Angaben klinischen Arbeiten entnommen, in denen die uns interessierenden Fragen nur nebenher behandelt wurden.

### Eigene Desinfektionsversuche.

Den unmittelbaren Anlaß zur Ausführung der zu beschreibenden Experimente bildeten Kulturversuche, die zu diagnostischen Zwecken für die hiesige Ohren- und Kehlkopfkl. des Herrn Professors Juffinger ausgeführt wurden. Zunächst bekamen wir frisches, und, wie der Versuch mit Tauben und kleinen Vögeln ergab, virulentes Material des *Aspergillus fumigatus*. Dadurch wurde unser Interesse auf die Biologie der pathogenen Schimmelpilze gelenkt und auch die therapeutischen Bestrebungen bei — zunächst — Otomykosen studiert. Die auf diesem Gebiete herrschende Unsicherheit liefs sich leicht auf die dürftigen,

teilweise einander widersprechenden Angaben hinsichtlich der Absterbebedingungen der Schimmelpilze zurückführen, und so schien uns eine eingehende und systematische Prüfung dieser Frage wünschenswert.

Trotz grosser aufgewendeter Mühe, scheinen uns allerdings jetzt auch unsere Angaben noch vielfach lückenhaft und nur ein bescheidener Anfang für die systematische Bearbeitung des bezeichneten Gebietes.

An Mikroorganismen standen ausser den vorerwähnten, von Krankheitsfällen herstammenden, eine Reihe teils aus Luft oder verschiedenen Nährsubstraten frisch herausgezüchtete, teils in der Sammlung durch längere Zeit kultivierte Pilze zur Verfügung.

Um den Versuchen engere Grenzen zu ziehen, wurden zunächst nur Aspergillusarten und von diesen auch nur als pathogen erwiesene, oder in der Litteratur als solche angenommene, ausgewählt. Es waren dies *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus niger* und *Aspergillus flavescens*. Daneben wurde mit den meisten Agentien auch der *Aspergillus clavatus*, den ich der Sammlung des Wiener hygienischen Institutes verdanke, geprüft.

Bei der Schwierigkeit der exakten Diagnose der verschiedenen Arten will ich hier eine mit Messungen einzelner Pilzbestandteile ausgestattete Beschreibung vorbringen, damit erforderlichenfalls die Identifizierung meiner Arten mit anderen ermöglicht ist. Von jeder Art wurde ein Stamm, der rasch versporte und üppig wuchs, ausgewählt, hinsichtlich seiner optimalen Temperatur studiert und lediglich mit dessen Abkömmlingen weiter gearbeitet.

## Beschreibung der Pilze.

### I. *Aspergillus fumigatus*.

Stark verfilztes, in die Tiefe des Nährbodens eindringendes grauweisses bis weisses Mycel. Sobald Fruktifikation eingetreten ist, beginnen sich die Kolonien, die eine ansehnliche Grösse von mehreren Centimetern Durchmesser erreichen können, blau-grünlich zu verfärben. Die Gelatine wird unter dem Filze der Mycelien, nicht aber in der Umgebung der Kolonien erweicht. Das Mycel und die Fruchträger ragen wenig über die Oberfläche des Nährbodens hervor.

Sporen blafs, farblos, meist regelmässig rund, einfach konturiert, 2 bis 3  $\mu$  im Durchmesser. Reife Sporen bräunlich. Sterigmen unverzweigt, 6—8  $\mu$

lang, cylindrisch, doch nicht regelmässig, oft auch pfriemenförmig, stellenweise verengt oder leicht aufgetrieben, blaßbraun. Dicke 2—3  $\mu$ . Die Sterigmen bedecken vorwiegend die Kuppe der Blase und zeigen der Hauptmasse nach axiales Wachstum, so daß die mit Conidien bedeckten Köpfchen besenartig und nicht kugelartig erscheinen. Die Blase ist durch eine scharf konturierte Membran abgegrenzt. Die Fruchträger sind meist beträchtlich dicker als die Mycelien, erstere messen 2—3  $\mu$ , letztere gewöhnlich 4—6  $\mu$ , selbst bis 10  $\mu$ .

Intravenös für Kaninchen, nach Inhalation von Sporen für Gimpel, Stieglitze und Tauben pathogen.

## II. *Aspergillus niger*.

Eppig wuchernde Vegetation, die die Gelatine stark verflüssigt. Die Verflüssigungszone reicht jedoch nicht weiter als die Vegetationsmasse. Das Mycel ist peripher rein weiß, gegen die Mitte zu, besonders bei jüngeren Kulturen, gelblich bis schwefelgelb; die fruktifizierten Partien braun bis tiefschwarz. Das Mycel ragt auch, solange noch keine Fruktifikation erfolgte, um mehrere Millimeter über die Oberfläche des Nährbodens. Die Höhe der Fruchträger beträgt bis 8 mm.

Mikroskopisch sieht man feinere und gröbere Mycelfäden, häufig mit stark granulierten Inhaltsmassen versehen. Die Fruchträger sind scharf konturiert, 12—20  $\mu$  dick und meist vom Grunde bis zur Blase gleichmäßig. Der Übergang in die meist schon kugelige, seltener eiförmige Blase ist ziemlich scharf.

Der Durchmesser reifer Köpfchen beträgt 150  $\mu$  und darüber, die Blase bei reifen Köpfchen ca. 60—70  $\mu$ . Die Sterigmen sitzen peripher um die ganze Blase. Die Sterigmen sind mächtig, verzweigt, indem an ihrem keulenförmigen Ende eine Anzahl (5—10) fingerförmige Äste sitzen, die die Conidien acrogen abschnüren. Die Sterigmengröße schwankt außerordentlich und beträgt bei den großen, reifen Köpfchen bis zu 50  $\mu$  und 60  $\mu$ . Zerquetschte oder beschädigte Blasen zeigen häufig eine Pilzform, indem der obere Teil der dem Fruchträger ansitzenden Blase sich einstülpt und teilweise umkrempelt.

Die Sporen werden in ungeheuren Massen abgeschnürt und haben einen Durchmesser von 3—4  $\mu$ . Sie sind hellbraun bis schwarzbraun, im reifen Zustande stark konturiert, rund mit granuliertem Inhalt. Häufig ragen 1—2 bis 2  $\mu$  lange warzenförmige Erhebungen über die sonst glatte Oberfläche der Sporen, die als Reste der Verbindungsstücke der im unreifen Zustande kettenartig aneinander gegliederten Conidien aufzufassen sind.

Auch in größten Mengen Kaninchen intravenös injiziert oder Taubendurch Inhalation einverleibt, erwies sich unser Stamm als nicht pathogen.

## III. *Aspergillus flavescens*.

Rasch wachsende Rasen aus rein weißem Mycel bestehend. Die Fäden ragen, so lange keine Fruchträger gebildet sind, bis zu 6—8 mm über den Nährboden vor und erscheinen wattenartig verfilzt. Die Gelatine wird unter der Kulturmasse erweicht. Die Sporen sitzen auf kurzen, wenig über die

Oberfläche ragenden Fruchttägern und zeigen eine gelbgrüne bis braune Färbung. Mikroskopisch erscheinen die Sporen blafs gelb, die reifen intensiv gelb ohne grünliche Verfärbung. Ihre Gröfse schwankt zwischen 3—6  $\mu$ , sie sind rund, jedoch häufig nicht regelmäfsig rund, indem vielfach Wäzchen und kleine Krystalle über die Oberfläche hervorragten. Der Sporenhalt ist granuliert und enthält stark lichtbrechende Körnchen.

Die Blase, deren gröfster Durchmesser 12—14  $\mu$  beträgt, hat meist nur an der Kuppe die wenigen unverzweigten Sterigmen, die vorwiegend achsiales Wachstum zeigen und ca. 2—4  $\mu$  dick sind. Die Fruchttäger sind mächtiger als die übrigen Mycelien und messen im Durchmesser 8—12  $\mu$ , während das übrige Mycel selten mehr als 4  $\mu$  im Durchmesser aufweist.

An Tauben und kleinen Singvögeln erwies sich der Stamm bei Inhalationsversuchen als nicht pathogen.

#### IV. *Aspergillus clavatus*.

Massige Vegetation, deren unversporete Anteile nur wenig über die Oberfläche ragen. Die Fruchttäger sind auffallend hoch (bis 5 mm über der Oberfläche) und mit graublaugrünen reifen und weifsen unreifen Köpfchen bedeckt. Eine Erweichung der Gelatine findet unter der Vegetationsmasse statt. Mikroskopisch unterscheidet man leicht die mächtigen 25—35  $\mu$  dicken Fruchttäger von den zarteren 8—10  $\mu$  messenden Mycelien. Die Fruchttäger endigen in massige Blasen von Keulenform, die dem Pilze seinen Namen gegeben haben. Die Dimensionen der Blase anzugeben, ist wegen der verschiedenen Gröfse einzelner Exemplare und wegen des allmählichen Überganges des Fruchttägers in die Keule schwierig. Rechnet man den Beginn der Blase vom Ansatz der ersten Sterigmen, so misst man oft 160 bis 200  $\mu$  Länge und ca. 60  $\mu$  Breite. Die Sterigmen sitzen pallisadenförmig auf der Blase und werden in außerordentlich großer Anzahl gebildet. Ihre Länge kann bis zu 20  $\mu$  angenommen werden. Die Conidien sind farblos, leicht oval und haben ca. 3 und 4  $\mu$  im Längen- bzw. Querdurchmesser.

#### Methodisches.

Für Prüfung der Widerstandsfähigkeit des Schimmelpilzmaterials könnten einerseits die Mycelien, anderseits die Sporen in Betracht kommen, und in der That bestand zu Anfang der Plan, für beide Vegetationsformen die Wirkungswerte schädigender Agentien festzustellen. Es stellte sich jedoch bald heraus, dafs mit Mycelien kein einheitliches Resultat zu erzielen sei, indem für den Desinfektionserfolg die Gröfse der Mycelstückchen von ausschlaggebender Bedeutung war. So erhält man meist, offenbar wegen des, vielleicht durch Gerinnungsvorgänge erschwerten Eindringens des Antisepticums, bei Verwendung gröfserer Partikelchen noch nach Einwirkungszeiten Wachstum, wo dasselbe bei kleineren



Flöckchen längst ausgeblieben war. Auch das Verfahren, die Aufschwemmungen vor dem Versuche zu filtrieren, was zur Erzielung gleichmäßiger Versuche auch bei Bakterienemulsionen gemacht werden muß, ist bei Verwendung von Mycelien ausgeschlossen, indem die langen Fäden zum größten Teile selbst am Leinwandfilter hängen bleiben, und man kaum getrübt, nur wenige Fadenstückchen haltende Filtrate erhält. Nach einigen orientierenden Versuchen erwies sich übrigens, daß die Widerstandsfähigkeit der Mycelien, abgesehen von den Misserfolgen bei Verwendung größerer Klümpchen von Mycelien, sicherlich nicht größer, sondern vermutlich viel kleiner ist als bei den Conidien, wozu noch der Vorteil kommt, daß man bei deren Verwendung ungleich gleichmäßiger und netter arbeiten kann.

In praxi würde man fast in allen Fällen, wo Desinfektionsmittel angewendet werden könnten, mit der Existenz von Conidien zu rechnen haben. So sicherlich bei den Vegetationen im äußeren Gehörgange, bei denen man stets fruktifizierte Fruchträger beobachtet. Auch in einem Falle von Pneumomycosis aspergillina fand ich im Sputum schöne versporete Köpfchen. Überall wo Luftzutritt zur Vegetation möglich ist, und das ist in allen Körperhöhlen, in den Luftwegen, bei Vegetationen der äußeren Haut und äußeren Schleimhaut, der Hornhaut u. s. w. der Fall, sind Conidien beobachtet oder wenigstens möglich. Ebenso hätte man bei der Desinfektion infizierter Objekte stets an die Dauerformen zu denken.

Eine weitere Frage war die nach Gewinnung zweckdienlichen Materials von möglichst hoher Widerstandskraft. Zu diesem Behufe wurde eine Anzahl von Nährböden mit Schimmelreinkulturen beschickt und mit diesen Materialien Desinfektionsversuche unter gleichen Bedingungen angestellt. Als Aussaatmaterial diente hauptsächlich *Aspergillus fumigatus* und *Aspergillus niger*. An Nährböden wurden verwendet: die Kartoffel, Bierwürzeagar und Bierwürzegeatine, Traubenmostagar bis zur nurmehr schwach-sauren Reaktion mit Sodalösung versetzt, Raulinsche Flüssigkeit mit 1½% Agar versetzt, Fleischwasserpeptonagar, Fleischwasserpeptongelatine, Schwarzbrot, Brotbrei und Weizenagar. Die Agar- und Kartoffelnährböden wurden sowohl bei Zimmertemperatur

als auch bei 30° und 37° C. wachsen gelassen; die Gelatine bei ca. 20° C. gehalten.

Ebenso wurde bezüglich des Nährbodens, in welchem die mit Agentien behandelten Sporen ausgesät wurden, vielfach variiert und sowohl die oben genannten festen als auch flüssigen Nährböden (Weinmost, Bierwürze, Peptonbouillon, Peptonwasser, Raulinsche Flüssigkeit) versucht. Bei der Prüfung chemischer Agentien wurden stets zwei Verdünnungen angelegt und hierbei auch die Anordnung ausprobiert, die erste Verdünnung in flüssige, die zweite auf einem festen Nährboden anzulegen, wobei die Besorgnis maßgebend war, bei Anlegung der ersten Aussaat auf den festen Nährboden etwas vom Antiseptikum zu übertragen und so erst auf der Kulturoberfläche Abtötung zu erzielen. Auch ist die Gefahr naheliegend, selbst durch die kleinen Mengen des übertragenen Antiseptikums auf die Kulturfläche den Nährboden so zu verändern, daß nur Entwicklungshemmung besteht, wo aus dem negativen Ausfall der Kultur Abtötung angenommen würde.

Die Gefahr der Übertragung die Entwicklung beeinflussenden Mengen des Antiseptikums auf den festen Nährboden besteht bei der zweiten Verdünnung nicht mehr. Doch erwies sich diese, die Technik der Versuche erschwerende Anordnung als unnötig, ja sogar minder zuverlässig, so daß in der Folge beide Verdünnungen in flüssige Nährböden angelegt wurden.

Als Beispiel dieser Kontrollversuche gebe ich hier einige Versuchsprotokolle.

#### Versuch Nr. 2.

Aussaatmaterial: *Aspergillus niger*, reichlich versport, auf Würzeagar gewachsen. Antisepticum 1%, proz. Carbonsäure.

Tabelle I.

Zeitdauer der Einwirkung	1 Min.	2 Min.	5 Min.	10 Min.	30 Min.	60 Min.	3 St.	17 St.	42 St.
1. Übertragung in Bierwürze	+	+	+	+	+	+	-	-	-
2. Übertragung in Bierwürze	+	+	+	+	+	-	-	-	-
2. Übertragung auf schräg erstarrtes Würzeagar	+	+	+	+	+	-	-	-	-

Bei diesem Versuche<sup>1)</sup> wurde aus der Mischung der Sporenemulsion und 2 $\frac{1}{2}$ proz. Carbolsäure zu gleichen Teilen eine 1 $\frac{1}{4}$ proz. Carbolsäure-Sporenmischung erhalten und aus dieser nach gemessenen Zeiten mit der Öse in Bierwürze eine kleine Quantität übertragen. Dieses Würzeröhrchen wurde gut geschüttelt und diente zwei weiteren Aussaaten als Ausgangsmaterial. Einerseits wurde mit 3 Ösen je ein zweites Röhrchen Bierwürze, anderseits ebenfalls mit 3 Ösen ein schräg erstarrtes Bierwürzeagarröhrchen beschickt.

In beiden letzteren Röhrchen wuchsen die Aussaaten bis zur Einwirkungszeit von 30 Minuten, während Röhrchen 1 noch nach der Einwirkungszeit von 1 Stunde Wachstum erkennen liefs.

In diesem Falle war also das Resultat für die Würze und das Würzeagar gleichmäfsig.

Ein ähnliches Ergebnis lieferte auch der

**Versuch Nr. 5.**

Aussaatmaterial und Konzentration der Carbolsäure wie bei Versuch Nr. 2.

Tabelle II.

Zeitdauer der Einwirkung	1 Min.	5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 St.	18 St.
1. Übertragung in Bierwürze . . .	+	+	+	+	+	-
2. Übertragung in Bierwürze . . .	+	+	+	-	-	-
2. Übertragung auf Bierwürzeagar	+	+	+	-	-	-

Auch hier war die zweite Verdünnung nach der gleichen Einwirkungszeit steril geblieben und zwar sowohl bei flüssiger Würze als auch bei Würzeagar.

In den beiden folgenden Versuchen erwies sich jedoch die flüssige Würze entschieden überlegen.

**Versuch Nr. 8.**

Anordnung und Konzentration wie bei Versuch Nr. 2 und 5.

Tabelle III.

Zeitdauer der Einwirkung	5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	5 St.
1. Übertragung in Bierwürze . . .	+	+	+	+	-	-
2. Übertragung in Bierwürze . . .	+	+	+	-	-	-
2. Übertragung auf Bierwürzeagar	+	+	-	-	-	-

und ähnlich

1) Das + -Zeichen bedeutet Wachstum, also negativen, das - -Zeichen Ausbleiben des Wachstums, also positiven Desinfektionserfolg.

## Versuch Nr. 11.

Tabelle IV.

Zeitdauer der Einwirkung	5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	5 St.
1. Übertragung in Bierwürze . . .	+	+	+	+	+	—
2. Übertragung in Bierwürze . . .	+	+	+	+	—	—
3. Übertragung auf Bierwürzenagar	+	+	+	—	—	—

Ähnliche Erfahrungen machten wir auch dann, wenn die erste Verdünnung in Peptonbouillon, die zweite auf Fleischwasser-peptonagar gemacht wurde.

## Versuch Nr. 3.

Anordnung hinsichtlich Material und Konzentration der Carbonsäure wie bei den vorigen Versuchen.

Tabelle V.

Zeitdauer der Einwirkung	1 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	45 Min.	1 St.	16 St.
1. Aussaat in leichtalkal. Peptonbouillon	+	+	+	+	+	+	—
2. Verdünnung in Bouillon . . . . .	+	+	+	+	—	—	—
2. Verdünnung auf gewöhnl. Nähragar .	+	+	+	—	—	—	—

In manchen Versuchen erwies sich überhaupt die gewöhnliche Nährbouillon als minder geeignet; in einem Falle war nach 10 Minuten langer Einwirkung der Nährboden steril geblieben, während der gleichzeitig angelegte Kontrollversuch mit Würze noch nach 1 Stunde Kulturen ergab.

Von den anderen Nährböden erwies sich sterilisierter Traubenmost als ebenbürtig der Bierwürze. Diesen Nährboden haben wir jedoch ausgeschaltet, da er nicht während das ganzen Jahres zur Verfügung steht und hinsichtlich seiner Zusammensetzung starken Schwankungen unterworfen ist.

Gegen die Kartoffel, das Brot und den Brotbrei gelten die Einwände, wie hinsichtlich aller festen Nährböden. Wir haben sie daher trotz nicht ungünstiger orientierender Versuche in der Folge nicht mehr verwendet.

Der Weizenagar gibt überdies zu dürftige Kulturen. Gelatine-nährböden waren ausgeschlossen, wenn wir der berechtigten Forderung, das Wachstum der beschickten Nährböden bei den

optimalen Temperaturen vor sich gehen zu lassen, genügen wollten.

Die von französischen Autoren so empfohlene Raulinsche Flüssigkeit erwies sich dagegen für die Aufzucht von durch ein Antiseptikum geschädigten Sporen als minder geeignet, obwohl sie wenigstens bei *Aspergillus fumigatus* und *Aspergillus niger* bei Verwendung guten Ausgangsmaterials üppige und schnell wachsende Kulturen lieferte. *Aspergillus flavescens* wuchs dagegen nur kümmerlich; *Aspergillus clavatus* in einigen Fällen gar nicht, in anderen erst nach mehrtägigem Stehen und auch dann nur dürrtig.

Unsere Raulinsche Flüssigkeit bestand nach der Angabe von Siebenmann<sup>1)</sup> aus folgenden Bestandteilen:

Wasser . . . . .	1500
Kandiszucker . . . . .	70
Weinsteinsäure . . . . .	4,0
phosphorsaures Ammon . . . . .	0,6
Kaliumcarbonat . . . . .	0,6
Magnesiumcarbonat . . . . .	0,4
schwefelsaures Ammon . . . . .	0,25
Eisensulfat (Ferrosulfat) . . . . .	0,07
Zinksulfat . . . . .	0,07
kieselsaures Kalium . . . . .	0,07
essigsäures Ammon . . . . .	4,00.

Ich bemerke, daß die Zusammensetzung der Raulinschen Flüssigkeit, die Obici<sup>2)</sup> angibt, insofern von der oben citierten abweicht, als an Stelle des essigsäuren Ammons salpetersaures Ammon angegeben ist. Doch auch diese Modifikation lieferte uns keine besseren Resultate. Wir blieben daher bei der erprobten, aus einem hiesigen Brauhause stets in vorzüglicher Qualität erhältlichen Bierwürze, die noch zur Hälfte mit Wasser verdünnt und nicht neutralisiert wurde.

1) Siebenmann, Die Schimmelmikosen des menschlichen Ohres. a. a. O., S. 16.

2) Obici, Zieglers Beiträge zur pathol. Anat., 1898, S. 205.

Wir haben auch zur Gewinnung der Sporenarten wegen des üppigen Wachstums und der Möglichkeit reinlicher Gewinnung des Materials in der Folge nur Bierwürzeagar verwendet und von der anfänglich auch verwendeten Kartoffel und dem Brotbrei, die ohne Beimengung von Nährbodenteilen schwer vollständig ausgenutzt werden konnten, abgesehen.

Einige Versuche sollten auch die Frage entscheiden, ob junges oder älteres, ob bei niedriger oder optimaler Temperatur gezogenes Material den Vorzug verdiene. Hierbei konnte festgestellt werden, daß, reichliches Wachstum vorausgesetzt, jüngere und ältere Kulturen (bis 8 Wochen alte wurden geprüft) keinen gesetzmäßigen Unterschied hinsichtlich ihrer Widerstandskraft erkennen lassen; ebenso war es gleichgültig, ob die zur Sporengewinnung gezogenen Vegetationen, z. B. *Aspergillus niger*, bei Zimmertemperatur, bei 30° C. oder bei 37° C. gezogen worden waren.

### I. Prüfung chemischer Agentien.

Hinsichtlich der Technik der Versuche wurde im allgemeinen nach dem im hiesigen Institute üblichen Verfahren, das den von M. Gruber<sup>1)</sup> auf dem VII. internationalen Kongresse für Hygiene und Demographie in London 1891 hinsichtlich der Prüfung von Antiseptics angegebenen Forderungen Rechnung trägt, gearbeitet.

Es wurden nur wässrige Emulsionen von Sporen verwendet. Diese Emulsionen wurden durch Abkratzen der auf schräg erstarrter Bierwürze gewachsenen Kulturen oder Aufnahme derselben mit feuchtem sterilen Pinsel in wenigen Kubikcentimetern sterilen Wassers gesammelt. Die gewonnene Emulsion wurde behufs Abscheidung gröberer Partikelchen, insbesondere von Mycelfetzen, durch sterile Leinwandfleckchen filtriert und in den Fällen, wo dies anging, die Konzentration des Desinfektionsmittels so gewählt, daß zu gleichen Teilen Sporenemulsion und Desinfektionsmittel zusammengebracht werden konnten. Selbstver-

1) M. Gruber, Über die Methoden der Prüfung von Desinfektionsmitteln. Vierteljahrscr. f. Gesundheitspflege, Bd. 24, S. 199.

ständiglich wurde die Zeit auf das Genaueste registriert. Die Sporenemulsionen wurden möglichst dicht hergestellt. Bei dem üppigen Wachstum der Sporen bei geeigneten Kulturmedien war die Ausbeute von 1—2 Röhrcchen für etwa 5—10 ccm Flüssigkeit ausreichend. Die filtrierte Emulsion war sehr stark getrübt und wies mikroskopisch eine Unmasse Sporen auf. Um dies Ziel zu erreichen, darf nicht mit zu jungen Kulturen gearbeitet werden; ein bis zwei Wochen alte Kulturen lieferten stets die gewünschte hohe Ausbeute.

In einigen Fällen, in welchen das Infektionsmittel unverdünnt zur Anwendung kommen sollte, z. B. bei Verwendung von absolutem Alkohol wurde die Sporenmasse mit einem trockenem sterilen Pinsel aufgenommen; der Pinsel wurde hierauf unter Kontrolle der Uhr in das zu prüfende Antisepticum eingebracht, gut umhergeschwenkt und hierauf zur Vermeidung allenfalls unbenetzter, z. B. schwimmender Sporen, filtriert und vom Filtrate die Aussaaten mit Bezug auf die vorhin notierte Zeit angestellt. Die Filtration erwies sich auch bei dieser Anordnung zur Erzielung gleichmäßiger Resultate unbedingt notwendig.

Die Aussaaten wurden, wie früher erwähnt, in Bierwürze und zwar mittels einer mittelgroßen Platinöse übertragen. In das erste Röhrcchen wurde eine, in das Verdünnungsröhrcchen je drei Ösen gegeben.

Von Wichtigkeit ist es, die Röhrcchen durch genügend lange Zeit zu beobachten. Während ohne Schädigung eingesäte Sporen in 2—3 Tagen einen üppigen Rasen an der Oberfläche der Würze bilden und meist schon stark versport sind, erfolgte bei den durch Antiseptica geschädigten Sporen häufig eine beträchtliche Verzögerung des Wachstums, das nicht selten erst am 8.—12. Tage sichtbar war. Nach der Aussaat wurden die Kulturröhrcchen sobald als möglich in optimale Temperaturen gebracht und zwar bei *Aspergillus fumigatus*, *niger* und *flavescens* in den auf 37° C., bei *Aspergillus clavatus* in den auf 30° C. erwärmten Brutofen.

Große Sorgfalt wurde der Herstellung der Lösungen der Antiseptica gewidmet. Wo irgend zugänglich, wurde der Titre der Lösung ermittelt; in Fällen, wo dies nicht geschah, von den

reinsten, vielfach neuerdings gereinigten (unkrystallisierten) Präparaten ausgegangen.

### Metallsalze.

In sehr zahlreichen Versuchen wurde das Quecksilbersublimat in wässriger Lösung ohne Zusatz von Kochsalz oder Weinstein-säure geprüft. Die Ergebnisse sind in folgenden Tabellen für die vier geprüften Schimmelpilzsporen zusammengestellt.

Tabelle VI.  
Sporen des *Aspergillus fumigatus*.

Vers.- Nr.	Konzentration	30 Sek.	1 Min.	1 1/2 Min.	2 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	1 St. 40 Min.	2 St.
178	1 ‰	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—
169	1 ‰	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
174	1/2 ‰	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
176	1/4 ‰	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
187	1/8 ‰	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
189	1 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
192	1/2 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
195	1/4 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—	—
200	1/8 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle VII.  
Sporen des *Aspergillus niger*.

Versuchs- Nr.	Konzentration	15 Sek.	45 Sek.	1 Min.	2 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
185	1 ‰	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—
173	1 ‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
170	0,5 ‰	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
190	0,5 ‰	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—
180	1/4 ‰	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—
182	1/4 ‰	—	—	—	+	+	+	+	—	—	—
202	1 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
110	1/2 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
42	1/4 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
20	1/4 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
198	1/8 ‰	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+



Tabelle VIII.

Sporen des *Aspergillus flavescens*.

Versuchs-Nr.	Konzentration	15 Sek.	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
184	1 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
204(u.172)	1 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
171	1/2 %	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
181	1/4 %	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
183	1/8 %	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
203	1 %	—	—	—	—	—	+	—	—	—	—	—
191	1/2 ‰	—	—	—	—	—	+	+	+	—	—	—
195	1/4 ‰	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	—
199	1/8 ‰	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+

Tabelle IX.

Sporen des *Aspergillus clavatus*.

Versuchs-Nr.	Konzentration	15 Sek.	30 Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
179(u.168)	1 %	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
175	1/2 %	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
177	1/4 %	—	—	—	+	—	—	—	—	—	—	—
186	1/8 %	—	—	—	+	+	—	—	—	—	—	—
188	1 %	—	—	—	—	—	+	+	—	—	—	—
193	1/3 ‰	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
197	1/4 ‰	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—
201	1/8 ‰	—	—	—	—	—	+	+	+	+	—	—

Wie aus den Tabellen hervorgeht, erwies sich das Sublimat, wenigstens in den höher konzentrierten Lösungen (bis etwa 1/10 %), als ein wirksames Antisepticum. Die in der Regel verwendete 1/1000 Lösung erfordert dagegen bei *Aspergillus fumigatus* und *Aspergillus niger* 1 Stunde; bei *Aspergillus flavescens* 1/4 Stunde, bei *Aspergillus clavatus* 10 Minuten Abtötungszeit. Noch niedrigere Konzentrationen sind wegen ihrer unverlässlichen Wirkung kaum empfehlenswert.

Das Silbernitrat wurde in 4 Konzentrationen geprüft und zwar als 1/20-Normallösung (0,85 %), ferner in einer weiteren Versuchsreihe in 1 %, 1/2 % und 1/1000 Lösung.

Die Resultate ergibt die nachfolgende Tabelle auszugsweise.

Tabelle X.  
Silbernitrat.

Material	Konzentration	Einwirkungszeit				
		2 Min.	5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 St.
Aspergillus fumigatus	1 ‰	+	+	—	—	—
	1/2 ‰	+	+	—	—	—
Aspergillus niger	1 ‰	+	—	—	—	—
	1 ‰ <sub>00</sub>	—	—	+	—	—
Aspergillus clavatus	1 ‰	+	—	—	—	—
	1/2 ‰	+	+	—	—	—
	1 ‰ <sub>00</sub>	—	—	+	—	—
Aspergillus flavescens	1 ‰	—	—	—	—	—
	1/2 ‰	—	—	—	—	—
	1 ‰ <sub>00</sub>	—	—	—	—	—

Es erwies sich demnach dieses Salz dem Sublimate in 1‰-Lösung als gleichwertig, in 1‰<sub>00</sub> sogar um ein Geringes überlegen.

Ähnliche Ergebnisse wie die 1‰-Lösung lieferte auch die 1/20-Normallösung.

Von anderen Metallsalzen wurden Zinksulfat, Zinkchlorid und Kupfersulfat in 10‰-Lösungen bis zu einer Einwirkungszeit von 6 Tagen geprüft.

In allen Fällen erfolgte, selbst bei den weniger widerstandsfähigeren *Aspergillus flavescens* und *clavatus*, ein nicht verzögertes üppiges Wachstum.

Die genannten Körper sind daher selbst in den hohen angewendeten Konzentrationen nicht als Antiseptica zu betrachten, eine Thatsache, die verwunderlich erscheint, nachdem speziell das Kupfersulfat bei der Bekämpfung mancher pilzlichen Erkrankungen des Weinstockes und des Obstbaumes, z. B. *Prenospora*, eine bewährte Rolle spielt, und u. a. im Handbuch der Ohrenheilkunde von Schwartz 1893, II, S. 66 eine 2proz. Lösung von *Cupr. sulfuricum* bei mycotischen Erkrankungen des Trommelfelles empfohlen wird.

Ebensowenig günstige Resultate erzielten wir mit einigen anderen Neutralsalzen, z. B. Kochsalz in 50%, Calciumchlorid in 30%, Natriumsulfat in kaltgesättigter Lösung.

### Säuren und Alkalien.

Mit Rücksicht darauf, daß vielfach bei Schimmelmikosen des äußeren Gehörganges Säuren in schwachen Lösungen sowohl in Wasser als in Alkohol empfohlen wurden, haben wir viele Säuren, sowohl anorganische als organische, hinsichtlich ihrer baktericiden Fähigkeit eingehend geprüft.

Mit Rücksicht auf das unter Behrings Leitung von Lingelshaus aufgefundenene Gesetz, wonach bei Säuren die besondere Natur der Säure nicht, wohl aber der Titre der Lösung in Frage kommt, haben wir zunächst eine Anzahl Säuren vom gleichen Gehalt hergestellt. Bereitet wurden doppelt Normalsäuren der Salzsäure, Salpetersäure, Schwefelsäure, Phosphorsäure, ferner der Ameisensäure, Essigsäure, Milchsäure, Citronensäure und Weinsteinsäure; verwendet wurden die Säuren, nachdem je die gleiche Menge der Emulsion von Sporen zugesetzt worden war, als einfache Normalsäuren.

Ferner wurde eine Reihe kalt gesättigter Säurelösungen von im Wasser schwerlöslichen Säuren hergestellt; letzteres mit Rücksicht darauf, daß eine Reihe der hier anzuführenden therapeutisch empfohlen werden. Solche Lösungen wurden hergestellt mit Borsäure, Salicylsäure, Benzoesäure, Pikrinsäure, Gallussäure, Pyrogallussäure.

Die antiseptischen Erfolge sind mit diesen Konzentrationen außerordentlich geringfügig.

In Normalschwefelsäure war der *Aspergillus niger* nach 4 Tagen noch lebensfähig<sup>1)</sup>; in der gleichen Säurelösung war ein kräftiger *Staphylococcus aureus* nach 4 Stunden vernichtet worden.

In Normalsalpetersäure war in einem Falle nach 4, im anderen nach 6<sup>1)</sup> Tagen *Aspergillus niger* lebensfähig.

In Normalsalzsäure wurde der *Aspergillus fumigatus* nach 4, der *Aspergillus niger* nach 6 Tagen wachstumsfähig gefunden.

1) Längere Zeiträume wurden nicht geprüft.

Gleiche Ergebnisse mit den Sporen des *Aspergillus niger* lieferte die Normalphosphorsäure nach 6 Tagen (*Staphylococcus aureus* ging nach 3 Stunden zu Grunde), die Chromsäure nach 4 und 6 Tagen, die Ameisensäure nach 4 und 6 Tagen (*Staphylococcus aureus* war nach 2 Stunden abgetötet), die Essigsäure nach 4 und 6 Tagen (Kontroll-Aureus in 2 Stunden vernichtet), Citronensäure und Milchsäure nach 4 und 6 Tagen (letztere tötete den Aureus nach 3 Stunden).

Es hatte also keine einzige Normalsäure die Sporen des geprüften Schimmelpilzes, selbst nach 6 Tagen, abgetötet.

Von den kaltgesättigten, oben angeführten Säuren wurde die Borsäure, die Salicylsäure, die Pikrinsäure, die Benzoesäure und die Gallussäure bis zu 7 Tagen, die Pyrogallussäure bis zu 4 Tagen geprüft. Keiner der Versuche zeigte Abtötung, noch erhebliche Entwicklungshemmung. Das gleiche Resultat ergaben 3 Versuche mit 5proz. Lösungen von *Acidum tannicum*. In allen ausgesäten Röhren wuchs, ebenso auch bei den vorzitierten Versuchen mit Normalsäure, auch das Röhren zweiter Verdünnung, zum Beweise, daß es nicht einmal zu einer starken Herabsetzung der Zahl der keimfähigen Sporen gekommen war.

Höher konzentrierte Säuren scheinen auch außerordentlich lange Zeiträume zur Abtötung zur erfordern, sofern nicht die Konzentration, z. B. bei der Schwefelsäure, eine so hohe ist, daß es einfach zur Verkohlung des organischen Materiales kommt. Aus 27,93% Schwefelsäure wuchs der *Aspergillus niger* noch nach 5 Tagen, und selbst der sonst verhältnismäßig leicht abzutötende *Aspergillus clavatus* nach 3 Tagen. Eine große Anzahl einschlägiger Versuche erscheint wertlos, da nur Zeiträume bis zu einer Stunde geprüft wurden.

Eine recht hohe Wirksamkeit entfaltete dagegen in wässriger Lösung die schwefelige Säure; wir stellten sie her, indem unter einer Glocke Schwefelfäden verbrannt und die Verbrennungsgase in einer Gaswaschflasche durch Wasser geleitet wurden. Der Titre, mit Jod gestellt, ergab einen Wirkungswert von 0,732%  $\text{SO}_2$ .

Mit der halb verdünnten Lösung mit einem Prozentgehalt von 0,366 wurden die Sporen aller unserer Schimmelpilze geprüft

(Tab. XI); es ergab sich, dafs die Sporen des *Aspergillus niger* und *flavescens* eine Einwirkungszeit von 1 Stunde, die des *Aspergillus fumigatus* und *clavatus* von einer halben Stunde zur Abtötung erforderten.

Tabelle XI.  
SO<sub>2</sub> 0,366%.

Versuchs-Nr.	Material: Sporen von Aspergillen	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
306	niger	+	+	-	-
305	flavescens	+	+	-	-
307	clavatus	+	-	-	-
308	fumigatus	+	-	-	-

Von Alkalien wurde Natronlauge, kohlensaures Natron, Ammoniak und Kalkmilch geprüft.

Die Natronlauge wurde zunächst als ungefähr 5 fache Normallösung verwendet. Ihre Wirksamkeit ist sehr grofs.

In ungefähr 5 facher Normallösung (20 proz. Lösung<sup>1)</sup> waren die Sporen des *fumigatus*, *flavescens* und *clavatus* nach 5 Minuten getötet worden. Nur die Sporen des *Aspergillus niger* benötigten 15 Minuten.

In Lösungen von geringerem Prozentgehalte ergab sich folgendes:

Tabelle XII.  
NaOH.

Material: Aspergillus	Konzentration der NaOH-Lösg.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	4 St.
niger	10% <sup>2)</sup>	+		+	-	-	
fumigatus	10%	+		-	-	-	
flavescens	10%	+		-	-	-	
clavatus	10%	+		-	-	-	
niger	5% <sup>3)</sup>	+	+	+	+	-	
fumigatus	5%	+	+	+	-	-	
flavescens	5%	+	+	+	+	-	
clavatus	5%	+	+	+	-	-	
niger	2 1/2% <sup>4)</sup>	+	+	+	+	+	-
fumigatus	2 1/2%	+	+	+	+	-	-
flavescens	2 1/2%	+	+	+	+	+	-
clavatus	2 1/2%	+	+	+	+	-	-

- 1) Genauer 5,37 fache Normallösung, entsprechend 21,5%.
- 2) Genauer 2,68 fache Normallösung, entsprechend 10,75%.
- 3) 1,34 fache Normallösung, entsprechend 5,32%.
- 4) 0,67 fache Normallösung, entsprechend 2,66%.

Obwohl wir bezüglich der Wirksamkeit des kohlensauren Natrons nach den bisher bekannten Thatsachen nicht allzuviel vorausgesetzt hatten, waren wir von der völligen Unwirksamkeit der 15 proz. und 10 proz. Lösung selbst nach 3 tägiger Einwirkung überrascht.

Erstaunlich energisch wirkte auch Ammoniak, das in annähernd gleich konzentrierten Lösungen wie die Natronlauge zur Anwendung kam und eine Wirkung entfaltete, welche der des Natriumoxydhydrates gleich zu stellen ist. Der Wirkungswert wurde mit Normalschwefelsäure ermittelt bezw. gestellt.

Tabelle XIII.

## Ammoniakflüssigkeit.

Material Aspergillus:	Konzentration der NH <sub>3</sub> -Lsg.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
fumigatus	21,5 %	—	—	—	—	—	—
niger	21,5 %	—	—	—	—	—	—
fumigatus	10,75 %	+	+	—	—	—	—
niger	10,75 %	+	+	+	—	—	—
flavescens	10,75 %	—	—	—	—	—	—
clavatus	10,75 %	—	—	—	—	—	—
fumigatus	5 %	+	+	+	—	—	—
niger	5 %	+	+	+	—	—	—
flavescens	5 %	+	+	+	—	—	—
clavatus	5 %	+	+	+	—	—	—
fumigatus	2 1/2 %		+	+	+	+	+
niger	2 1/2 %		+	+	+	+	+
flavescens	2 1/2 %		+	+	+	+	+

Auffallend war, daß bei Verwendung von NH<sub>3</sub> die Sporenemulsion sich stark färbte. Die Aufschwemmung des Aspergillus niger war dunkelbraunschwarz, die des flavescens grüngelb geworden. Vielleicht erklärt sich die hohe Wirkung des Ammoniaks dadurch, daß von demselben ein die Spore schützender Körper gelöst wird. Wir kommen auf eine ähnliche Erscheinung noch

unten zu sprechen. Gegenüber reinem Ammoniak zeigte auch die geprüfte Lösung von frisch bereitetem Kupferoxydammon, von welcher ein besonderer Desinfektionseffekt wegen seiner celluloselösenden Eigenschaft erwartet wurde, keine erheblichere Wirkung.

Kalkmilch, die nach der bekannten für die Desinfektionspraxis empfohlenen Konzentration von 1% frisch hergestellt wurde, zeigte selbst nach 6- und 12tägiger Einwirkung keine Beeinflussung der Lebensfähigkeit unserer Sporen. 10proz. Kalkmilch war dem *Aspergillus fumigatus* und *niger* gegenüber nach 10 Tagen noch wirkungslos. Die Sporen des *Aspergillus flavescens* und *clavatus* waren zwar nach 4 Tagen noch lebend; nach 8 tägiger Einwirkungszeit jedoch tot.

#### Chlor, Jod, Brom.

Mit Rücksicht auf die leichte Anwendbarkeit in der Desinfektionspraxis wurde Chlorkalk, der sich vegetativen Bakterien gegenüber so wirksam zeigt, in drei Versuchsreihen und in niedrigen Konzentrationen geprüft. Besonderes Vertrauen hatte ich von vornherein dem Chlorkalk gegenüber nicht, nachdem in früheren Versuchen anlässlich der Nachprüfung des Wassersterilisierungsverfahrens nach Traube oftmals Schimmelpilze gewachsen waren<sup>1)</sup>, nach Einwirkungszeiten, die zur Abtötung von Spaltpilzkeimen genügt hatten. Doch war damals die Bestimmung der Schimmelpilzarten unterlassen worden.

Der Wirkungswert der geprüften Chlorkalklösungen wurde durch Titrierung mit  $\frac{1}{10}$  Normal-Arseniklösung unter Verwendung von Jodkalistärkekleister als Indikator ermittelt. Die Angaben beziehen sich daher auf den Gehalt an wirksamem Chlor. Da der verwendete Chlorkalk ungefähr 20% war, so ergibt sich der Gehalt an Chlorkalk, indem man die angegebenen Zahlen mit 5 multipliziert.

---

1) *Hygienische Rundschau*, 1899, Nr. 17.

Tabelle XIV.

## Chlorkalk.

Sporenmateriäl	Konzentration wirksames Chlor	1/2	1	2	3	5	10	15	30
		Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.
Asp. fumigatus	0,67 % <sup>1)</sup>	+	+	+	+	—	—	—	—
› niger	0,67 %	+	+	+	+	—	—	—	—
› flavescens	0,67 %	+	+	—	—	—	—	—	—
› clavatus	0,67 %	+	+	+	+	+	—	—	—
› fumigatus	0,1145 % <sup>2)</sup>	+	+	+	+	+	+	—	—
› niger	0,1145 %	+	+	+	+	+	+	+	—
› flavescens	0,1145 %	+	+	+	+	+	—	—	—
› clavatus	0,1145 %				—	+	—	—	—
› fumigatus	0,067 % <sup>3)</sup>						—	—	—
› niger	0,067 %						+	—	—
› flavescens	0,067 %						—	—	—
› clavatus	0,067 %						—	—	—

Die Lösung mit einem Chlorgehalt von 0,67 % wirksamem Chlor, entsprechend einer 3,4 proz. Chlorkalklösung, hatte ein der 1 proz. Sublimatlösung nicht um Vieles nachstehendes Desinfektionsergebnis geliefert, selbst die 0,34 proz. Chlorkalklösung hatte nach 10 Minuten alle Sporen mit Ausnahme der des Aspergillus niger getötet.

Das Jod wurde nur in 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Lösung geprüft; ausgegangen wurde von einer Stammlösung, bestehend aus 0,2 Jod, 0,4 Jodkalium, 100 Wasser.

Das Resultat ergibt

Tabelle XV.

## Jod-Jodkalium.

Sporenmateriäl	3 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.
Asp. fumigatus	+	+	+		—	—
› niger	+	+	+	+	+	+
› flavescens	+	—	—	—	—	—
› clavatus	+	+	—	—	—	—

1) ca. 3,34 % Chlorkalk. — 2) ca. 0,6 % Chlorkalk. — 3) ca. 0,34 % Chlorkalk.



Der *Aspergillus niger* hatte selbst nach einer Stunde Widerstand geleistet, während bei den übrigen Sporen befriedigende Resultate erzielt wurden.

Auch das von Riedel geprüfte und von Behring warm empfohlene Jodtrichlorid zeigte eine erstaunlich hohe Wirksamkeit. Ausgegangen wurde von einer frisch bereiteten 5proz. Lösung des von der Firma Merk in Darmstadt gelieferten Präparates. Der die Schleimhäute reizende Geruch erschwert übrigens das Arbeiten mit diesem Präparate außerordentlich.

Tabelle XVI.  
Jodtrichlorid.

Sporenmateriel	Konzentration	1/2	1	2	3	5	10	15	30	1
		Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	Min.	St.
Asp. flavescens	1 ‰	—	—	—	—	—	—			
› clavatus	1 ‰	—	—	—	—	—	—			
› fumigatus	1 ‰					+	+	—	—	—
› ›	1/3 ‰							+	—	—
› niger	1/3 ‰							+	+	—
› ›	1 ‰					+	—	—	—	—

Mit Brom wurde zuerst der Versuch in der von Schumburg für die Wassersterilisierung angegebenen Konzentration von 0,2 : 1000 gemacht. Nach zweistündiger Einwirkung war kein Erfolg hinsichtlich Abtötung eingetreten. Dagegen lieferte die 1proz. und 2proz. Brom-Bromkalilösung günstige Ergebnisse.

Tabelle XVII.  
Brom-Bromkalium.

Material	Konzentration	Einwirkungszeit			
		2 Min.	5 Min.	10 Min.	30 Min.
Aspergillus } fumigatus }	2 ‰ 1 ‰	+	—	—	—
Aspergillus } niger }	2 ‰ 1 ‰	— +	— —	— —	— —

Kaliumpermanganat wurde in zwei Konzentrationen zum Versuche verwendet: 1. als 1,75 ‰, 2. als doppelt normale Lösung.

Erstere erwies sich selbst nach mehrtägiger Einwirkung machtlos, letztere gab hinsichtlich des *Aspergillus flavescens* und *clavatus* gute, hinsichtlich des praktisch bedeutungsvolleren *Aspergillus fumigatus* schlechte Resultate.

Tabelle XVIII.

**Kallium hypermanganicum. 2fache Normallösung.**

	15 Min.	30 Min.	1 St.	4 St.	6 St.	24 St.
<i>Asp. fumigatus</i>	+	+	+	+	+	+
„ <i>clavatus</i>	+	—	—	—	—	—
„ <i>flavescens</i>	+	+	—	—	—	—

**Körper aus der Benzolgruppe.**

Von den organischen Desinfektionsmitteln wurde die größte Anzahl der Versuche mit dem Phenol angestellt, welches in 1¼ und 2½proz. Lösung zur Verwendung kam.

*Aspergillus niger* allein wurde bei einer Konzentration von 1,25% 24mal geprüft und gab im ganzen recht konstante Resultate. In 16 Fällen wuchsen die Proben noch nach 1 Stunde; nicht mehr nach 2 Stunden; in 2 Fällen nach 2 Stunden und nicht mehr nach 3 Stunden. In 6 Fällen wuchsen die Proben nicht mehr nach 1 Stunde, wohl aber nach 45 Minuten. Nachdem die Versuchsanordnung, die Nährlösungen u. s. w. stets gleich waren, ergibt sich aus dem Ausfalle der Versuche, daß auch hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit ein und derselbe Stamm zu verschiedenen Zeiten Schwankungen aufweist, ein Verhalten, das uns für Bakterien geläufig ist.

Ähnlich wie *Aspergillus niger*, verhielten sich bei gleicher Konzentration der Phenollösung auch die übrigen geprüften Sporen der Schimmelpilze.

Tabelle XIX.

**Phenol 1,25%.**

Einwirkungszeit	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
<i>Asp. niger</i>	+	+	+	+	—
„ <i>fumigatus</i>	+	+	+	+	—
„ <i>flavescens</i>	+	+	+	+	—
„ <i>clavatus</i>	+	+	+	+	+

Außerordentlich energischer wirkte das Phenol in  $2\frac{1}{2}$ proz. Lösung.

Tabelle XX.  
Phenol 2,5%.

Einwirkungszeit	2 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Min.	30 Min.
Asp. niger	+	+	—	—	—
› fumigatus	+	+	+	—	—
› flavescens	+	—	—	—	—
› clavatus	+	+	—	—	—

In 5proz. Phenollösung waren alle genannten Schimmelsporen nach 1 Minute Einwirkungszeit nicht mehr gewachsen.

Lysol prüften wir, indem von einer 4proz. Stammlösung des Originalpräparates in destilliertem Wasser ausgegangen wurde, in 2proz. und 1proz. Lösung.

Tabelle XXI.  
Lysol.

Material	Konzentration	Einwirkungszeit				
		5 Min.	10 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
Asp. fumigatus	2%	—	—	—	—	—
› niger	2%	—	—	—	—	—
› flavescens	2%	—	—	—	—	—
› clavatus	2%	+	—	—	—	—
› fumigatus	1%	+	+	+	—	—
› niger	1%	+	+	+	+	—
› flavescens	1%	+	+	+	—	—
› clavatus	1%	+	+	+	—	—

Wie die Tabelle lehrt, kommt der 2proz. Lösung des Lysols eine beträchtliche Wirkung zu. Bei Verwendung einer 1proz. Lösung sinkt der Desinfektionswert des Lysols ganz außerordentlich und unverhältnismäßig herab, ein Verhalten, das wir auch bei Verwendung des Staphylococcus pyogenes aureus gesehen haben.

Im auffallenden Gegensatz zu diesen günstigen Ergebnissen mit Lysol stehen die Resultate mit wässrigen Lösungen der reinen Kresole. Es wurden alle drei isomeren Kresole in  $\frac{1}{2}$  und 1proz. Lösung geprüft, allerdings nur dem Aspergillus niger

gegenüber. Aus Ortho-, Para- und Metakresollösungen mit einem Gehalte von 1% trat nach eintägiger Einwirkungszeit noch Wachstum auf. Hierbei ist allerdings hervorzuheben, daß wir nur schon seit 2 Jahren im Laboratorium bewahrte Präparate zur Verfügung hatten.

2,5proz. Creolin tötete in 4 Tagen noch nicht, wohl aber in 7 Tagen den *Aspergillus fumigatus*.

1proz. Saprolextrakt von Nördlinger hatte selbst nach 6 Tagen keine merkliche Wirkung.

Anschließend sei auch erwähnt, daß Thymol in  $\frac{1}{2}/_{100}$  und  $1/_{100}$ -Lösung und Aceton in 10proz. Lösung keine Wirkung entfaltet hatten.

#### Äthylalkohol.

Mit Rücksicht darauf, daß therapeutisch Eingießungen von Alkohol oder alkoholischer Lösungen von organischen Säuren wie Salicylsäure, Borsäure bei Schimmelnmykosen als wirksam bezeichnet werden, haben wir der Erforschung der desinfizierenden Kraft der Alkohole eine größere Zahl von Versuchen gewidmet. Von den Alkoholen erwies sich der Methylalkohol und der Amylalkohol als wenig wertvoll<sup>1)</sup>. Staunenswert hoch ist hingegen die Wirkung des Äthylalkohols, selbst in geringeren Konzentrationen. Auch bei diesen Versuchen scheint die intensive Färbung der Alkoholsporenmischungen darauf hinzudeuten, daß Bestandteile der Sporenmembran (harzartige Körper) in Lösung übergehen. Daß wirklich ein Lösungsprozess und nicht eine dichte Verteilung der gefärbten Sporen in Frage kommt, ergibt sich daraus, daß auch die sorgfältig mit mehrfachen Filterlagen gewonnenen Filtrate sich noch intensiv gefärbt erweisen, obwohl höchstens vereinzelte Sporen in der Flüssigkeit mikroskopisch nachgewiesen werden können.

Die gewonnenen Resultate ergeben die nachfolgenden Tabellen, wobei der Einfachheit halber, dort wo eine Anzahl gleicher Versuche nicht völlige Übereinstimmung gab, die Durchschnittsergebnisse eingetragen wurden.

1) 50proz. Methyl- und Amylalkohol tötete *Aspergillus niger* und *fumigatus* selbst nach 1 tägiger Einwirkung nicht.

Tabelle XXII.  
Äthylalkohol. Material: *Aspergillus fumigatus*.

Konzentration	Einwirkungszeit								
	2 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	5 St.	1 Tag
100 %		—		—	—	—	—	—	
96 %	+	—	—	—	—	—	—	—	
80 %				—	—	—	—	—	
60 %				—	—	—	—	—	
48 %		+	+	—	—	—	—	—	
40 %				+	—	—	—	—	
20 %				+	+	+		+	+
10 %				+	+	+		+	+

Tabelle XXIII.  
Äthylalkohol. Material: *Aspergillus niger*.

Konzentration	Einwirkungszeit								
	2 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	5 St.	1 Tag
100 %	—	—	—		—	—			
96 %	—	—	—		—	—			
80 %		+	—		—	—			
60 %			—	—	—	—	—		
48 %		+	+	—	—	—	—		
40 %			+	+	—	—	—	—	
20 %				+	+	+	+	+	+
10 %				+	+	+	+	+	+

Tabelle XXIV.  
Äthylalkohol. Material: *Aspergillus flavescens*.

Konzentration	Einwirkungszeit								
	2 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	5 St.	1 Tag
100 %	—	—	—	—	—	—			
96 %	—	—	—	—	—	—			
80 %		—	—	—	—	—	—		
60 %		—	—	—	—	—	—		
48 %		+	—	—	—	—	—		
40 %			+	+	—	—	—		
20 %				+	+	+	+	+	+
10 %				+	+	+	+	+	+

Tabelle XXV.

Äthylalkohol. Material: *Aspergillus clavatus*.

Konzentration	Einwirkungszeit									
	1 Min.	2 Min.	5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	5 St.	1 Tag
100 %		—	—	—	—	—				
96 %	+	—	—	—	—	—	—			
80 %			—	—	—	—	—	—		
60 %				—	—	—	—	—		
48 %			+	—	—	—	—			
40 %				+	—	—	—			
20 %						+	+	+	+	+
10 %						+	+	+	+	+

Aus der Betrachtung der Tabellen ergibt sich die verblüffend energische Einwirkung des Alkohols in Form von 96 proz. und absolutem Alkohol. Vergleicht man die Wirksamkeit des Alkohols mit der des Sublimats, so findet man, daß der Wirkung der angegebenen Konzentrationen eine  $\frac{1}{2}$  proz. Quecksilberchloridlösung erst gleichkommt, und daß die Wirksamkeit der in der chirurgischen und Desinfektions-Praxis zumeist verwendeten 1 %<sub>00</sub>-Sublimatlösung hinter der Wirkung selbst des 80 proz. und 60 proz. Alkohols zurückbleibt.

Erst Alkoholkonzentrationen unter 50 % und 40 % werden, und zwar wie die Tabelle ergibt, rasch nach abwärts unwirksam, ein Umstand, der auch die Annahme zu stützen scheint, daß die Hauptwirkung des Alkohols seiner lösenden Eigenschaft hinsichtlich gewisser in Wasser und wässrigen Lösungen unlöslicher, das Protoplasma schützender Substanzen zu danken ist. Wird der das Protoplasma schützende Körper durch Lösung entfernt, so genügt eine geringfügige Schädigung<sup>1)</sup>, um einen namhaften Desinfektionserfolg zu erzielen.

1) Xylol, welches, wie aus der Verfärbung der Flüssigkeit zu ersehen ist, ebenfalls den (harzartigen) Körper löst, wirkt als vermutlich indifferentere Körper trotz seines Lösungsvermögens fast gar nicht im Sinne eines Antisepticums.

Tabelle XXVI.

## Formaldehyd in Gasform.

Material	Die Sporenfäden waren während des Versuches	Einwirkungszeit					
		5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.
Aspergillus fumigatus	frei	+	+	+	+	-	-
	in einer Papierkapsel	+	+	+	+	+	-
Aspergillus niger	frei	+	+	+	+	-	-
	in einer Papierkapsel	+	+	+	+	+	-
Aspergillus flavescens	frei	+	+	+	-	-	-
	in einer Papierkapsel	+	+	+	+	+	-
Aspergillus clavatus	frei	+	+	+	+	-	-
	in einer Papierkapsel	+	+	+	+	+	-

Wie man ersieht, sind selbst in jenen Fällen, in welchen die Sporenfäden der Einwirkung des Gases frei preisgegeben waren, die Erfolge mäfsige und geringfügig im Vergleich mit der Wirkung anderer bequemerer und billigerer Antiseptica.

Von Anilinfarben haben wir nur das Methylviolett geprüft. Da dieses unter den Anilinfarbstoffen hervorragend wirkende Präparat (Stilling<sup>1)</sup>) selbst nach mehrtägiger Einwirkung in 1 proz. Lösung keine Abtötung, noch merkbare Verzögerung des Wachstums hervorgebracht hatte, selbst den empfindlicheren Sporen des *Aspergillus flavescens* und *clavatus* gegenüber, wurden weitere Versuche mit dieser Körpergruppe unterlassen.

## II. Einwirkung der trockenen und feuchten Hitze.

Mit Rücksicht auf die übereinstimmenden und erfolglosen Versuche von Renon und Lucet wurde es unterlassen, Pilzsporen hinsichtlich ihrer Widerstandsfähigkeit niederen Temperaturen gegenüber zu prüfen.

Dagegen bemühten wir uns, die Leistungsfähigkeit trockener und feuchter Hitze festzustellen.

Für die Prüfung der Einwirkung trockener Hitze diente ein Trockenschrank, der, mit Asbestpappe verkleidet und mit einem

1) Lancet, XI, 965, cit. nach Flüge, Mikroorganismen, I, S. 474.

Thermoregulator versehen, leicht auf eine beliebige Temperatur eingestellt werden konnte. Die Sporen waren wie bei den Formaldehydversuchen auf Sporenfäden angetrocknet. Die Fäden kamen zu bestimmten Zeiten in den Trockenschrank, der einige Stunden vor dem Beginn des Versuches hinsichtlich der Gleichförmigkeit seiner Wärme kontrolliert worden war. Und zwar wurden die Fäden ohne Papierhülle in im Schranke befindliche Petrischalen gelegt. Macht man diese Einbringung nicht schnell genug, so fällt das Thermometer im Schranke beträchtlich. Hat man jedoch eine Übung im raschen Öffnen und Schließen des Kastens erlangt, vielleicht auch die Verschlussvorrichtung durch Ölen oder Ausfeilen, Ausbiegen vervollkommenet, so ist man leicht imstande, für das Einbringen kaum mehr als eine Sekunde Zeit zu beanspruchen, in welcher Zeit das Thermometer nicht merkbar absinkt.

Die Versuche wurden bei 135° C., 125° C., 110° C., 100° C. und 80° C. angestellt und keine Versuchszeit unter 15 Min. gewählt. Letzteres geschah, um den Versuchsfehler möglichst zu verkleinern, der durch den schwankenden und unbestimmbaren Zeitverlust bis zur vollständigen Durchhitzung des Fadeninnern gegeben ist.

Die Resultate ergaben, daß alle vier Sporengattungen, sowohl bei 135° als bei 125° C. in 15 Min. abgestorben waren. Bei 110° und 15 Min. Einwirkungszeit blieb nur der *Aspergillus fumigatus* lebensfähig, nach 30 Min. war auch dieser abgestorben.

Einer Temperatur von 100° C. widerstand *Aspergillus fumigatus*, *niger* und *flavescens* durch 1 Stunde und 15 Minuten. *Aspergillus clavatus* war hingegen in dieser Zeit bereits abgestorben, während er 45 Minuten nach Beginn des Versuches sich noch züchtungsfähig erwies. Nach 2 Stunden 30 Minuten waren alle Sporen abgetötet worden.

Die trockene Hitze von 80° C. tötete selbst nach siebenstündiger Einwirkung keine Sporenart.<sup>1)</sup>

1) Unsere Versuche zeigen mit einigen aus der Litteratur erhobenen Daten eine leidliche Übereinstimmung.

Cramer erwähnt Arch. f. Hyg. XIII, 105, daß die Conidien des Brotschimmels nach Versuchen von Pasteur erst bei 127–132° C. absterben: nach Hofmann ertrugen die Sporen von *Ustilago carbo* und *destruens*



Wie zu erwarten stand, war feuchte Hitze ungleich wirksamer. Die höchste Temperatur, die wir prüften, war die des strömenden ungespannten Wasserdampfes, welche übrigens infolge der hohen Lage Innsbrucks (ca. 580 m über dem Meere) nur 97° bis 98° C. betrug. Um ganz kurze Zeiträume in den Versuchen zur Anwendung bringen zu können, bedienten wir uns des im Institute üblichen Verfahrens. An das Dampfventil eines ca. 10 l Wasser fassenden Autoklaven ist mittels Schlauch, Glasrohr und Kautschukstopsels ein ziemlich weiter Glaszylinder geschaltet, so daß, durch das Ventil regulierbar, Dampf in den Cylinder eingeleitet werden kann. Die vom Autoclaven abgewendete Seite des Cylinders ist mit einem leicht aufsteckbaren und abnehmbaren Stopsel verschlossen, der 2 Bohrungen trägt, von denen die eine für ein feines Thermometer, die andere für ein ca. 1 cm im Durchmesser fassendes rechtwinkelig nach abwärts gebogenes Glasrohr bestimmt ist. Das Thermometer trägt in unmittelbarer Nähe seines Quecksilbergefäßes ein Körbchen aus Messingdrahtnetz, welches leicht die Aufnahme mehrerer Sporenfäden ermöglicht. Der Cylinder, welcher mittels des Schlauches am Ventilansatz des Autoclaven befestigt ist, wird mittels Stativ leicht geneigt fixiert, damit das sich bildende Kondenswasser beim Abnehmen des Stopsels sofort ausfließen kann. Bei länger dauernden Versuchen fließt der Überschuss an Kondenswasser durch das Dampfausströmungsrohr aus.

Temperaturen von 104—128° C. Leider fehlen in dieser Litteraturangabe die Einwirkungszeiten.

Koch und G. Wolffhügel (Mitteilungen aus dem Reichs-Gesundheitsamte, Bd. I, S. 301) berichten über Desinfektionsversuche im Trockenschranke, angestellt an Sporen des *Penicillium glaucum* und *Aspergillus niger*. Der letztere ertrug eine 1½ stündige Erhitzung, bei welcher durch länger als eine Stunde die Temperatur über 100° C. (im Maximum 128° C.) betragen hatte.

In einem zweiten Versuche wirkte eine Temperatur von 120—128° C. durch 1½ Stunden ein; es erwiesen sich als getötet die Sporen von *Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger* und *Botrytis vulgaris*.

Unter den Schlußsätzen der Arbeit findet sich: Schimmelpilze erfordern zur Abtötung ungefähr eine 1½ stündige Erhitzung auf 110—115° C.

Den Beginn der Einwirkung der Siedehitze rechnet man von jenem Momente, in welchem das Thermometer die für den Versuchstag geltende maximale Temperatur erreicht hat. Dieser Wert wird durch einen blinden Versuch vorher ermittelt. Bei Verwendung eines dünnen Quecksilbergefäßes und eines empfindlichen Thermometers ist die Differenz zwischen dem Einfügen des Stopfels und dem Zeitpunkte, an welchem die gewünschte Temperatur erreicht ist bei einiger Übung kaum mehr als zwei Sekunden. Nachdem man diese Differenz außerdem bestimmen und durch Subtraktion eliminieren kann, lassen sich kleine Zeiträume für den Versuch heranziehen.

Die geringsten Zeiten, die wir verwendeten, waren 15 Sekunden. In keinem einzigen Falle gelang es, selbst nach dieser Zeit, die Sporen einer der geprüften Aspergillusarten lebend zu finden, so daß wir annehmen können, daß die Einwirkung des strömenden Wasserdampfes bei 100° C. eine momentane Abtötung bewirkt.

Es entfiel somit die Notwendigkeit, den abtötenden Einfluss gespannten Wasserdampfes zu prüfen.

Weiterhin wurde die Wirksamkeit der Temperaturen von 80, 70 und 60° C. geprüft; hierbei wurde so vorgegangen, daß kleine Wassermengen (ca. 2 ccm) in sterilen Eproutetten im konstant temperiert gehaltenen Wasserbade durch etwa  $\frac{1}{2}$  Stunde vorgewärmt und zu gemessenen Zeiten mittels der Pipette mit einem Tropfen der dichten Sporenaufschwemmung beschickt wurden. Die Eintragung des Tropfens geschah, so wie die Aussaat, zu gemessenen Zeiten, ohne daß die Eproutetten aus dem Wasserbade entfernt wurden, so daß die Temperatur des Wassers als konstant angenommen werden konnte. Die Probenentnahme geschah mittels einer Platinöse.

Die zahlreichen Versuche ergaben folgendes Durchschnittsergebnis:

Tabelle XXVII.

Temp.	Sporengattung	Einwirkungszeit								
		5 Min.	10 Min.	15 Min.	30 Min.	1 St.	2 St.	4 St.	7 St.	15 St.
80° C.	Asp. fumigatus	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	» » niger	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	» » flavescens	++	—	—	—	—	—	—	—	—
	» » clavatus	—	—	—	—	—	—	—	—	—
70° C.	» » fumigatus	—	—	—	+	+	+	+	—	—
	» » niger	—	—	—	+	+	+	—	—	—
	» » flavescens	—	—	—	+	+	+	—	—	—
	» » clavatus	—	—	—	+	+	+	+	—	—
60° C.	» » fumigatus	—	—	—	+	+	+	+	+	—
	» » niger	—	—	—	+	+	+	+	+	—
	» » flavescens	—	—	—	+	+	+	+	+	—
	» » clavatus	—	—	—	+	+	+	+	+	—

Die verschieden energische Einwirkung trockener und feuchter Hitze hat übrigens Cramer<sup>2)</sup> schon gekannt und eingehender studiert.

Bei dem relativ hohen Wassergehalte der Schimmelsporen erscheint diese Thatsache auffallend. Cramer zeigte in seinen unter Rubners Leitung angestellten Versuchen, daß der Wassergehalt der Schimmelsporen als hygroskopisches und nicht die Gewebe durchsetzendes und benetzendes Wasser vorhanden sei. Der Nachweis wurde dadurch erbracht, daß feuchte Sporen getrocknet und abermals in feuchte Luft gebracht wurden. Die Wägungen zeigten, daß so wie andere hygroskopische Substanzen auch die Sporen in vollkommen mit Wasserdampf gesättigter Luft unabhängig von der Temperatur gleichviel Wasser aufnehmen, als sie bei 100° wieder abgeben, während Substanzen, die mit tropfbar flüssigem Wasser durchsetzt und benetzt sind, nach dem Trocknen weit weniger Wasser aufnehmen.

Wenn also Sporen in hohe trockene Temperaturen gebracht werden, so entweicht rasch das hygroskopisch gebundene Wasser,

1) + = Wachstum, — = gelungene Abtötung, ± = inkonstantes Resultat.

2) Archiv f. Hygiene, Bd. XIII.

und es resultiert ein wasserfreier Eiweißkörper, dessen Widerstandsfähigkeit gegen das Coagulieren verständlich und bekannt ist. In feuchter Luft, also auch im Wasserdampf oder im Wasser, kann das hygroskopische Wasser nicht abgegeben werden und der leicht gerinnbare Eiweißkörper fällt rasch der Abtötung anheim.

Überblickt man die Ergebnisse, welche in den vorstehenden Tabellen und Angaben zum Ausdrucke gebracht sind, so ist man über die geringe Widerstandsfähigkeit der Aspergillussporen einigermaßen überrascht. Insbesondere ihre Empfindlichkeit der feuchten Hitze, Alkalien und starkem Alkohol gegenüber zeigt uns, daß sie hinsichtlich ihrer Abtötung nicht wesentlich schwierigere Bedingungen stellen als resistenter vegetative Formen.

Starkem Alkohole gegenüber zeigen sie sich besonders hilflos, so daß sie als beträchtlich weniger widerstandsfähig diesem Reagens gegenüber sich erwiesen, als z. B. in den Versuchen Minervini<sup>1)</sup> der *Micrococcus tetragenus*, der *Bacillus pyocyaneus*, der *Micrococcus prodigiosus*, der *Aureus* und das *Bakterium coli commune*, von dem geprüften sporentragenden *Anthraxbacillus* und dem *Heubacillus* nicht zu reden. Hierbei handelt es sich nicht um unerhebliche Zeitdifferenzen, sondern um außerordentliche Unterschiede. Nach Minervini erhielten sich *B. pyocyaneus*, *M. prodigiosus* durch 12 und 24 Stunden im 99% Alkohol lebend, *Staphylococcus pyogenes aureus* sogar durch drei Tage; unsere Schimmelpilzsporen waren fast ausnahmslos nach 2 Minuten nicht mehr lebensfähig. Neben der quantitativ ungleichen Wirkung ist es befremdend, daß hinsichtlich der Konzentration und bactericiden Fähigkeit ein Parallelismus besteht, der wie Epstein<sup>2)</sup> und Minervini<sup>3)</sup> feststellten, hinsichtlich der Bakterien sich nicht findet. Bei diesen hatte 50%—70% Alkohol annähernd die höchste Wirkung entfaltet; war die Konzentration

1) Minervini, Über die bactericide Wirkung des Alkohols. Zeitschrift f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, Bd. 29, S. 117.

2) Epstein, Zeitschrift für Hygiene und Infektionskr., 1897, Bd. XXIV

3) Minervini, ebendb., Bd. XXIX, S. 117.

höher oder geringer, so fiel die desinfektorische Wirkung. 25% Alkohol übertraf noch etwas die Wirkung des 80%.

Die wasserentziehende Fähigkeit des starken Alkohols für dies Verhalten den Schimmelpilzsporen gegenüber verantwortlich zu machen, geht nicht an, da ja die Schimmelsporen die Eintrocknung, also die Wasserverarmung, durch lange Zeiträume schadlos ertragen.

Ungezwungener erscheint uns die Annahme einer durch Alkohol leicht lösbaren, schützenden Hülle, nach deren Beseitigung das Sporenprotoplasma der antiseptischen Einwirkung des Äthylalkohols bedingungslos ausgeliefert ist, eine Hypothese, welche bereits oben erwähnt wurde<sup>1)</sup>.

Gegenüber diesem eigentümlichen Verhalten erscheint es befremdend, daß selbst die stärksten Mineralsäuren in hohen Konzentrationen die Sporen nicht zu vernichten vermochten.

Besondere Erwähnung verdient hier nochmals der Versuch mit der fast 28%, also ca. fast 5½ fach normalen Schwefelsäure. Nach fünf Tagen wuchs noch der *Aspergillus niger*. Vergleicht man die Widerstandsfähigkeit dieser Sporen mit den vegetativen Formen, so fällt der gewaltige Unterschied leicht in die Augen. Unser Aureus vertrug Normalschwefelsäure, also eine 4,9% Lösung durch 2—3 Stunden; v. Wunschheim<sup>2)</sup> fand Aurei, die eine ½% Lösung nicht durch 5 Minuten aushielten.

Allerdings wirkt nach den Versuchen von Krönig und Paul<sup>3)</sup> die Schwefelsäure entsprechend ihrem geringeren Dis-

1) Für *Penicillium glaucum* wies Cramer (Arch. f. Hyg., Bd. XX S. 197: Die Zusammensetzung der Sporen von *Penicillium glaucum* und ihre Beziehung zu der Widerstandsfähigkeit derselben gegen äußere Einflüsse, aus dem hygienischen Institute zu Heidelberg) in Analysen mit verhältnismäßig viel Untersuchungsmaterial Alkoholextrakte von rund 30% des Gesamtgewichtes nach. Der Alkoholextrakt stellte eine harzige, braune Masse dar. Daß den fettartigen Körpern der Spore, welche auch durch einen hohen Ätherextrakt von mehr als 7% zum Ausdrucke kommen, eine Bedeutung hinsichtlich der Widerstandsfähigkeit gegenüber wasserlöslicher Desinficienten zukomme, welche auch in der schweren Benetzbarkeit Wasser gegenüber in Erscheinung tritt, hebt ebenfalls Cramer a. a. O. S. 205 hervor.

2) Archiv f. Hygiene, XXXIX, 2. Heft.

3) Krönig und Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. u. Inf., Bd. XXV, S. 1,

sociationsgrade, etwas schwächer als einige andere Mineralsäuren, Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Überchlorsäure. Immerhin gehört diese Säure zur Gruppe der starken Säuren im Sinne der vorgenannten Autoren und der Schluss erscheint gerechtfertigt, daß in praktischer Hinsicht, Säuren bei der Abtötung von Schimmelpilzen außer Erwägung zu bleiben haben.

Wenn also die günstige Einwirkung von stark verdünnten Säuren, wie 1—2proz. Borsäure, Benzoesäure, z. B. bei mykotischen Ohraffektionen hervorgehoben wird, so dürfte dies zumeist auf einen Irrtum beruhen. In Fällen, und dies geschieht wohl meist, wo die Säure in Alkohol gelöst, dispensiert wird, ist die günstige Beeinflussung sicher dem Alkohol zuzuschreiben.

Bei den Alkalien fiel die energische Einwirkung des Ammoniaks, die hinter der des Natriumoxydhydrates nicht zurückblieb, auf. Krönig und Paul fanden in Versuchen mit dem *Staphylococcus pyogenes aureus* selbst dann ganz außerordentliche Unterschiede zu Gunsten der Desinfektionskraft des Natriumoxydhydrates, wenn eine 3,5%  $\text{NH}_4\text{-OH}$ -Lösung gegenüber einer 1%  $\text{Na HO}$ -Lösung geprüft wurde. Nach 10 Minuten langer Einwirkung waren im ersten Falle alle Keime abgestorben, beim Ammoniumhydroxyd hingegen unzählbare Keime auf der Platte zur Entwicklung gekommen.

Von dem Gesetze, daß die Basen im Verhältnisse ihres Dissociationsgrades, d. h. entsprechend der Konzentration der in der Lösung enthaltenen Hydroxylionen desinfizieren, haben wir hier eine scheinbare Ausnahme vor uns, die sich vermutlich auf das verschiedene Verhalten der beiden Basen gegenüber der harzreichen schützenden Hülle der Sporen zurückführen läßt.

Die tüchtige Wirkung der Halogenen: Chlor, Brom, Jod wurde früher gewürdigt, ebenso wie die Unverlässlichkeit der Sodalösungen und des Kaliumpermanganates besonders dem *Aspergillus fumigatus* gegenüber hervorgehoben wurde.

Wenn wir mit Rücksicht auf praktische Verhältnisse auf Grund unserer Versuche Ratschläge erteilen wollten, so wäre folgendes zu bemerken:

Handelt es sich um die Abtötung von Pilzen außerhalb des tierischen Organismus, z. B. um die Desinfektion von Ställen von Geflügel, oder Gebrauchsgegenständen, so würde in Betracht kommen:

die Desinfektion im strömenden Wasserdampfe durch mindestens eine Viertelstunde,

die ausgiebige Benetzung mit 2‰ Sublimatlösung, mit 5‰ Phenollösung, mit 2‰ Lysollösung oder mit etwa 3‰ Chlorkalklösung. Das harmloseste und, zweckmäßig bewahrten, Chlorkalk vorausgesetzt, billigste und am leichtesten zu beschaffende Mittel ist das letztgenannte, dem wir pro praxi den Vorrang einräumen würden.

Bei Affektionen des äußeren Gehörganges scheint Alkohol allein zur Abtötung der Vegetationen auszureichen. Sind zarte Schleimhäute befallen, z. B. die Schleimhaut der Conjunctiva, wird man durch wiederholte Anwendung von  $\frac{1}{2}$ ‰ — 1‰ Sublimatlösung oder noch besser von  $\frac{1}{2}$  — 1‰ Silbernitratlösung zum Ziele kommen.

Für die Therapie der Pneumomykosen haben wir keinen Anhaltspunkt gewonnen, da man kaum eines der als wirksam gefundenen Mittel in genügender Dosis an die erkrankten Stellen wird bringen können.

Prophylaktisch wird man hingegen, insbesondere bei den eingangs erwähnten Gewerben der Haarkammer und der Taubenmäster vorgehen können. Die zu sortierenden Haare müßten statt mit Mehl in anderer Weise, etwa mit Alkohol oder Benzin, gereinigt werden. Würde dies aus technischen Gründen unzulässig oder minder geeignet sein, müßte man Arbeitstische mit Staubabsaugung vorschreiben und auf jeden Fall für strengste Reinlichkeit in solchen Betrieben, die keinesfalls als Hausindustrie geduldet werden dürften, sorgen.

Den Taubenmältern sollte die Fütterung von Mund zu Mund untersagt werden. Es scheint mir ein Leichtes zu sein, eine Vorrichtung, etwa einen mit einem geeigneten Mundstücke versehenen Kautschukballon zu konstruieren, mittels welchem der Mehlbrei ebenso schnell den Tauben eingespritzt werden könnte, als dies mit dem Munde möglich ist.

### Anhang.

Die vorliegenden Ergebnisse sind die wenigen positiven Resultate von ursprünglich gröfser angelegten Untersuchungen über die Pathologie der Aspergillusmykosen. Insbesondere sollte auch die Frage geprüft werden, ob nicht auf dem Wege der Schutzimpfung der Erkrankung beizukommen wäre. Gearbeitet wurde nur mit dem mir zur Verfügung stehenden, stark virulenten *Aspergillus fumigatus*. Zuerst wurde die Immunisierung versucht, indem die in Bouillon oder Bierwürze nach längerem Wachstum entstandenen Stoffwechselprodukte Tauben in kleinen, dann ansteigenden Mengen subcutan einverleibt wurden. Wurden die Tiere nach 1—2 monatlicher Behandlung zugleich mit frischen Kontrolltauben durch Inhalation infiziert, war weder hinsichtlich Dauer, Schwere, noch Eintritt der Erkrankung ein Unterschied zu bemerken.

Ab und zu war eine Versuchstaube bei nasser oder trockener Versprayung nach deutlichem Kranksein am Leben geblieben; wir hofften bei solchen Tieren eine Immunität konstatieren zu können. Wurden sie nebst Kontrolltieren einer zweiten Inhalation ausgesetzt, so war ebenfalls kein erworbener Schutz zu bemerken. Ebenso wenig hatte ein Schutz sich nach subcutaner Einverleibung von auf 70° C. durch 1/2 Stunde erhitzten Kulturen ausgebildet.

Auch die Frage wurde zu beantworten gesucht, ob die Ursache des Todes eine Intoxikation der Körpers mit einem Gifte sei. Stoffwechselprodukte aus Würze und Bouillon erwiesen sich, selbst wenn die Kulturen mehrere Monate alt waren, als wirkungslos oder riefen höchstens eine leichte Fieberbewegung hervor. Die Berkefeldfiltrate aus Leber und Lunge von Tauben, die der Infektion erlegen waren, zeigten sich ebenfalls als unschädlich, wenigstens für das Leben des Versuchstieres. Wir sind also zur Annahme gelangt, dafs die Gesundheitsstörung nicht in erster Linie auf die Ausscheidung chemischer Gifte, als vielmehr in mechanischen Störungen, die durch die reichlich wuchernden Mycelien hervorgerufen werden, zurückzuführen sind.



# Über die Verunreinigung des städtischen Hafens und des Flusses Akerselven durch die Abwässer der Stadt Christiania.

Von

Dr. **Axel Holst**,  
o. ö. Professor.

Dr. **Magnus Geirsvold**,  
Assistent am hygien. Institute.

und

**Sigval Schmidt-Nielsen**,  
Chem.-Ingenieur.

(Aus dem hygienischen Institute der Universität Christiania.)

(Mit Tafel II—IV.)

## I. Einleitung.

**Zur Geographie Christianias. — Über die Ursachen der Verunreinigung des städtischen Hafens und des Flusses Akerselven. — Zusammensetzung der städtischen Abwässer. — Untersuchungsmethoden.**

Christiania, die Hauptstadt Norwegens, zählt zur Zeit ziemlich genau 220000 Einwohner. Sie liegt am nördlichsten Ende des etwa 100 km langen Christianiafjords, von dem sich bei der Stadt ein blind endender, schmaler, ca. 20 km langer Arm, der Bundefjord, in südlicher Richtung abzweigt; dieser ist durch eine entsprechend lange Landzunge, Näsodden, deren nördlichste Spitze etwa 6 km von der Stadt entfernt ist, vom Hauptfjorde getrennt. Letzterer ist zwischen Christiania und dem Städtchen Dröbak (2200 Einwohner), d. h. auf eine Strecke von ca. 35 km, bis etwa 8 km breit; bei Dröbak wird er dagegen auf die Breite von  $1\frac{1}{2}$  km eingeeengt, um sich dann südlich von diesem Punkte bis zum Skagerack mehr und mehr zu erweitern. — Ferner sei hervorgehoben, dafs die Stadt durch

den kleinen Fluß Akerselven, der aus dem ca. 10 km nördlich von der Stadt gelegenen Maridalssee entspringt, durchflossen wird; die Wassermenge des Flusses ist auf ca. 5 cbm pro Sekunde, d. h. 432000 cbm pro Tag geregelt. Akerselven läuft in den östlichen Hafen der Stadt, »Björvik«<sup>1)</sup> aus; letzterer wird durch eine kleine Landzunge, auf der die alte Festung Akershus gebaut ist, vom westlichen Hafen, »Pipervik«<sup>2)</sup>, getrennt. An Pipervik schließt sich wieder eine flache Bucht, »Frognerkilen«<sup>2)</sup>, in westlicher Richtung an; dieselbe ist etwa 2 km lang und bis ca. 1 km breit. Am nördlichen Ufer des Frognerkilen verläuft die Promenade »Drammensweg«, die nebst den anstossenden Strafsen als Villenquartier benutzt wird; die andere Seite der Bucht wird durch die Halbinsel »Bygdø« begrenzt. Bygdø ist ziemlich dicht mit Sommervillen bebaut; zwischen ihrem nordöstlichen Ufer und den kleinen Inseln »Hovedøen«, »Lindøen« und »Nakholmen« ist die sog. »westliche Einfahrt« zum Hafen; hier befindet sich, in der Entfernung von ca. 3 km vom Pipervikens-Quai, der Leuchtturm »Dyna«. — Zwischen den Inseln Hovedøen und Lindøen auf der einen und »Blegøen« und »Græsholmen« auf der andern Seite findet sich die »östliche Einfahrt« des Hafens mit dem etwas mehr als 3 km von dem innersten Quai Björvikens entfernten Leuchtturm »Hægholmen«.

Zur Orientierung über diese Verhältnisse dienen die umstehenden Karten; die kleinere (Karte I) derselben gibt eine Übersicht über den Fjord bis Drøbak, während die grössere Karte einen genaueren Einblick in die örtlichen Verhältnisse der nächsten Umgebungen Christianias gestattet.

Gehen wir nach dieser Besprechung zur Verunreinigung des genannten Flusses und des Hafens über, so sei zunächst hervorgehoben, daß dieselbe fast ausschliesslich von den städtischen Abwässern bedingt wird. Zwar betrug die Zahl der Schiffe, die während des Jahres 1900 in den Hafen einliefen, im ganzen 10850, von denen 2350 aus- und 8500 inländische waren; im

1) Vik = Bucht. 2) Kil = langgestreckte Bucht.

Durchschnitt wird die Besatzung dieser auf 12 Mann pro Schiff vom Auslande und 6 Mann pro Schiff von norwegischen Häfen geschätzt, was zusammen etwa 80000 Seeleute jährlich gibt. Selbst wenn man aber rechnet, daß jedes Schiff einen ganzen Monat im Hafen verweilt — eine Angabe, welche selbstverständlich viel zu hoch gegriffen ist — muß man, um sich die Anzahl Seeleute zu vergegenwärtigen, die sich pro Tag im Hafen aufhalten, 80000 durch die Zahl der Monate dividieren. Daß die Verunreinigung, die von der so gewonnenen Zahl von etwa 6—7000 Seeleuten herrührt, im Vergleich mit den Abwässern einer Bevölkerung von 220000 Menschen keine größere Rolle spielt, ist einleuchtend. Insofern ist es auch nicht von größerer Bedeutung, daß die Zahl der Schiffe während der letzten Jahre vor 1900 etwas größer wie die oben erwähnte war (z. B. war der Verkehr anno 1899 um etwa 400 aus- wie inländische Schiffe größer). Ebensowenig hat auf die Verunreinigung des Hafens der Umstand einen erheblichen Einfluß, daß der Hafen von Christiania zu gewissen Jahreszeiten von norwegischen und fremden Kriegsschiffen und Yachten angefahren wird.

Im großen Ganzen stammt, wie gesagt, die Verunreinigung des Flusses und Hafens von den städtischen Sielen. (Letztere nehmen in Christiania keine Fäkalien auf, da die Stadt seit einigen Jahren ihre früheren Abtrittsgruben durch Kübelssystem zu ersetzen im Begriffe steht.) Die Hauptsiele sind auf der größeren der beigegebenen Karten mit blauer Farbe eingezeichnet; sie ergießen sich an zahlreichen Mündungen teils in den genannten Fluß, teils in den Hafen oder in Frognerkilen. Außerdem gibt es aber auch im südöstlichen Teile der Stadt einige Häuserreihen, deren Abwässer sich in den kleinen Bach Loelven entleeren.

Kurz oberhalb dieser Mündungen entnommene Proben des Sielwassers haben eine gelbliche oder graue Farbe und gewöhnlich eine neutrale, mitunter schwach alkalische Reaktion. Nur ausnahmsweise haben sie einen auffallenden Geruch; das spezifische Gewicht ist nach unseren Untersuchungen ca. 1003—1012 (mittels

Westphalscher Wage bestimmt) und unterscheidet sich somit in Christiania, wie man auch anderswo gefunden hat, sehr wenig von demjenigen des reinen Süßwassers. Die Flüssigkeit ist trübe, was von verschiedenen Mengen von mehr oder weniger voluminösen Schwebestoffen herrührt, die sich zum Teil als Futterreste, Pferdemist u. dergl. identifizieren lassen; zum Teil sieht man auch zahlreiche kleinste suspendierte Flöckchen.

Bei ruhigem Stehen, z. B. in einem hohen Glase, setzen sich die gröberen Schwebestoffe und ein Teil der Flöckchen recht schnell als ein Bodensatz ab; mit den übrigen Flöckchen geschieht dies dagegen erst allmählich, und selbst nach mehreren Tagen — wenn die Flüssigkeit meist nach Schwefelwasserstoff zu riechen angefangen hat — behält sie eine Trübung, die auch nicht beim Filtrieren durch Fliesspapier gänzlich verschwindet, und die sich bei mikroskopischer Untersuchung als durch Mikroorganismen (Bakterien, Infusorien) verursacht zeigt.

Wir haben von diesem Sielwasser zu verschiedenen Jahreszeiten eine Reihe von Analysen ausgeführt, deren Resultate in Tabelle I pag. 158 dargestellt sind. Zur Ausführung dieser Bestimmung haben wir jedesmal 2 bis ca. 13,5 l Wasser in Arbeit genommen; die größeren Portionen repräsentieren eine Mischung der Vor- und Nachmittagsproben von verschiedenen Sielen (bis 6); die kleineren Portionen sind zum Teil nur Vor- oder Nachmittagsproben von einem oder mehreren Sielen. Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß der Gesamtgehalt des Sielwassers an sog. Schwebestoffen durchschnittlich 0,45 g pro Liter ausmachte; es läßt sich ferner aus den angeführten Zahlen leicht berechnen, daß der Glühverlust dieser Stoffe durchschnittlich ca. 60% derselben entspricht; diesen Verlust haben wir in der Tabelle als »organische Bestandteile« aufgeführt. Ferner sei bezüglich der Schwebestoffe erwähnt, daß sie durchschnittlich ca. 3% organischen Stickstoff enthielten (Kjeldahls Verfahren).

(Siehe Tabelle I auf S. 158 u. 159.)

Nach Entfernung der Schwebstoffe wurden im Filtrat — wie ebenfalls aus der Tabelle ersichtlich — durchschnittlich ca. 0,64 g gelöster Stoffe pro Liter nachgewiesen; ihr Glühverlust war im Durchschnitt 38% und ihr Gehalt an organischem Stickstoff gleichfalls ca. 3%. Zur letzteren Zahl — die allerdings bedeutenden Schwankungen unterlag — kommt noch etwas Stickstoff, der als freies Ammoniak oder Ammoniakderivate vorhanden war. Die Menge dieser freien und flüchtigen Verbindungen haben wir jedoch nur in Einzelfällen bestimmt; als Durchschnitt fanden wir ca. 23 mg Ammoniak pro Liter Sielwasser (entsprechend ca. 19 mg Stickstoff). Ferner war der durchschnittliche Chlorgehalt des Filtrats 167 mg und der Sauerstoffverbrauch bei den wenigen Untersuchungen, die nach dieser Richtung vorgenommen wurden, 62 mg pro Liter. Schliesslich mag hier noch erwähnt sein, dass die Zahl der Bakterien im Sielwasser von einigen Hunderttausenden bis 50 Millionen pro Kubikmeter schwankte.

Weil unter anderem das Sielwasser nur während des Tages und nicht auch während der Nacht untersucht worden ist, können diese Ergebnisse keineswegs auf Vollständigkeit Anspruch machen. Im grossen Ganzen stimmen sie jedoch einigermaßen mit verschiedenen Analysen derselben Art, die an anderen Orten vorgenommen sind, überein; auf der anderen Seite gibt es zwar Städte, bei denen sowohl der Gehalt des Sielwassers an Schwebstoffen wie an gelösten Bestandteilen erheblich höher gefunden wurde. Zum Vergleiche dient die Tabelle 2, die nach König zusammengestellt ist.

(Siehe Tabelle II auf S. 160.)

Aus diesen Zahlen lässt sich leicht berechnen, dass die städtischen Siele dem Flusse und Hafen allmählich Verunreinigungen beträchtlicher Art zuführen müssen. Nach den diesbezüglichen Erfahrungen ist die Menge Sielwassers, die pro Tag auf jeden Einwohner einer Stadt die Siele verläßt, ungefähr dem

(Fortsetzung des Textes auf S. 161.)

Tabelle I.

## Zusammensetzung des

Datum der Probenentnahme	Entnahmestelle	Aussehen, Reaktion u. s. w.	Anzahl Keime pro cem
<b>1900.</b>			
21. VI. Vorm.	Sophienbergbach am Auslauf in Akerselven.	Bräunlich-grau, schwacher eigentümlicher Geruch, neutrale Reaktion, bildet einen spärlichen, feinflockigen, grauen Bodensatz (ca. 2 l).	54 400 000 (3 500 000 Schimmel)
—	Bisletsiel: Ecke Storthings- u. Tordenskjoldsstrafse.	Grau, trübe, bildet schnell einen grauen, etwas grobflockigen Bodensatz, neutrale Reaktion, schwacher Geruch (ca. 2 l).	ca. 30 000 000
20. XII. Nachm. 5 h	Ecke Svolders- und Leif Eriksensstrafse (Skillebæk, Frognerkilen).	Hellgrau, fader Geruch, neutrale Reaktion, bleibt trübe beim Stehen (ca. 2 l).	—
22. XII. Vorm. 9 h	Ecke Munkedamsweg u. Nils Juellsstrafse (Skillebæk, Frognerkilen).	Schwärzlich-grau, fauler Geruch, schwach alkalische Reaktion, wird beim Stehen fast klar (ca. 2 l).	—
Nachm. 1 h	Ecke Munkedamsweg u. Drammensweg (Skillebæk, Frognerkilen).	Grau-gelblich, fader Geruch, neutrale Reaktion, bildet einen erheblichen Bodensatz (ca. 2 l).	—
<b>1901.</b>			
7. I. Vorm. 11 h	Bisletsiel: Ecke Tordenskjolds- u. Storthingsstr.	Schmutzig-grau mit spärlichem Bodensatz, ohne Geruch, neutrale Reaktion. Die Analyse bezieht sich auf ein Gemisch von je 1 l von jeder Entnahmestelle.	Vorm. { 9550000 8655000
Nachm. 5 h	Ecke Reichweins- u. Hansteensstrafse (mündet bei Filipstad, Piperviken)		Nm. { 5385000 10615000
21. I. Vorm. 11 h	Ecke Rödifyld- u. Karl XII-Strafse, Ecke Rathaus- u. Königsstrafse.	Mittlerer Bodensatz, sonst wie die vorigen. Von den Entnahmestellen werden gleich grose Proben, im ganzen 13,6 l, gemischt und analysiert.	Vorm. 300 000 (in 2 Proben)
Nachm. 5 h	Ecke Neue Strafse u. Gunerusstr. Hauptziel bei Nene Brücke. (Die Siele münden in Akerselven)		
28. I. Vor- und Nachm.	do.	Aussehen u. s. w. ungefähr wie vorige Probe: wurde auf dieselbe Weise behandelt. Im ganzen 10 l wurden analysiert.	—
15. II. Vor- und Nachm.	do.	do. do. In ganzen 8 l.	Vorm. 300 000 (1 Probe)
27. III. Vor- und Nachm.	Bisletsiel: Storthingsstr. (Vor- und Nachm.) Hauptziel: Rödifyldstr. (Vor- u. Nachm.); das Siele mündet in Akerselven	a) Storthingsstrafse. Vorm. Grau, ohne Geruch, geringer Bodensatz. b) Rödifyldstrafse. Vorm. Bräunlich, fader, salzartiger Geruch, geringer Bodensatz. c) Storthingsstrafse. Nachm. Grau, fader Geruch, mehr Bodensatz als Vorm. d) Rödifyldstrafse. Nachm. Grau, ohne Geruch, Bodensatz wie Vorm.	Vorm. { a) 2950000 b) 2700000 Nm. { c) 3550000 d) 3800000
16. IV. Vor- und Nachm.	do.	Wie vorige.	Vorm. . . — Nachm. . . —
21. IV. Vor- und Nachm.	do.	do. do.	Vorm. . . — Nachm. . . —

## Durchschnitt

1) Im Trockenrückstande nach Kjeldahls Verfahren bestimmt. 2) Während des Einmu das Entweichen möglicherweise vorhandenen freien Ammoniak zu verhindern.

Schwebestoffe pro Liter					Gelöste Stoffe pro Liter							
Trock.-Rückstand i. ganz. in g pro Lit.	Glühverlust des Trock.-Rückst.	Asche	Stickstoff pro Liter <sup>1)</sup>	Stickstoff % auf Trock.-Rückst. ber.	Trock.-Rückst. i. ganz. in g pro Liter	Glühverlust (organ. Stoffe)	Asche	Chlor pro Liter	Sauerstoffverbrauch pro Liter	Stickstoff <sup>2)</sup> pro Liter	Stickst. % auf den Trock.-Rückst. ber.	Freies Ammoniak pro Lit.
g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g
0,484	—	—	—	—	0,716	0,278	0,438	0,137	—	—	—	—
—	—	—	—	—	0,516	0,132	0,384	0,096	—	—	—	—
0,388	—	—	0,0069	1,78	—	—	—	0,113	—	—	—	—
0,293	0,130	0,163	0,0102	3,48	0,560	0,093	0,467	0,135	—	—	—	—
0,334	0,183	0,151	0,0110	3,29	0,706	0,148	0,558	0,218	—	—	—	—
0,463	0,275	0,188	0,0128	2,76	0,315	0,086	0,229	0,188	—	—	—	—
0,448	0,348	0,100	0,0112	2,50	1,080	0,376	0,704	0,281	—	0,0442	—	—
0,443	0,256	0,187	0,0111	2,50	1,026	0,357	0,669	—	—	0,0158	1,54	—
0,477	—	—	—	—	0,452	—	—	—	—	—	—	—
0,429	0,348	0,061	0,0115	2,68	0,565	0,339	0,226	0,120	0,0678	0,0182	3,22	—
1,524	1,140	0,384	0,0439	2,88	0,959	0,310	0,649	0,286	0,0910	0,0173	1,80	—
0,340	0,070	0,270	0,0060	1,77	0,519	0,342	0,770	—	—	0,0161	3,10	0,0381
0,214	0,074	0,140	0,0054	2,52	0,471	0,173	0,298	—	—	0,0377	8,00	—
0,284	0,201	0,083	0,0104	3,66	0,499	0,348	0,121	0,126	0,0355	0,0095	1,90	0,0218
0,295	0,129	0,166	0,0189	6,40	0,560	0,199	0,361	0,133	0,0560	0,0100	1,79	0,0097
0,458	0,286	0,172	0,0133	3,02	0,639	0,245	0,437	0,167	0,0626	0,0178	3,05	0,0232

2 1 jeder Probe wurden zur Analyse herausgenommen (4 1 Vorm. u. 4 1 Nachm.)

Wie vorige.  
D.Vorm.-Proben wurden vermischl. dav. 3 1 zur Analyse genom. Nachm. ebenso.

dampfens mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure (bis zur schwach sauren Reaktion) versetzt.

Tablelle II.

Zusammensetzung des Stielwassers einiger europäischer Städte. Nach König, Verunreinigung der Gewässer, II, S. 8—9.

	Schwebstoffe			Gelöste Stoffe			Stickstoff		
	Asche	Organische Bestandteile	Stickstoff	Organische Bestandteile	Asche	Chlor	in den organ. Stoffen	als Ammoniak	
<b>I. Städte mit Waterclosets.</b>									
16 engl. Städte (50 Analysen)	0,4469	0,2418	0,2051	—	0,722	—	0,1066	0,0221	0,0552
Berlin (30 Analysen)	1,0845	0,3826	0,7019	—	1,0882	0,3132	0,2046	0,1088	—
Breslau (72 Analysen)	0,4047	0,2047	0,200	—	0,7728	0,2427	0,1938	0,018	0,0738
Halle a/S. (3 Analysen)	0,5940	0,1888	0,4052	—	2,7944	0,5897	2,2047	0,0591	0,0891
Frankfurt a.M.	1,1930	0,3870	0,8060	—	0,045	0,8980	0,5170	0,0810	0,063
<b>II. Städte ohne Waterclosets.</b>									
16 engl. Städte (50 Analysen)	0,3911	0,1781	0,213	—	0,824	—	0,1154	0,0197	0,0448
Zürich (4 Analysen)	0,1277	0,0361	0,0916	—	0,0145	0,4800	0,1822	0,0227	0,0088
Breslau	0,2108	—	—	—	0,7292	0,3838	0,3954	0,0787	0,0247
Dortmund (7 Analysen)	0,4298	0,1855	0,2443	—	0,9659	0,2838	0,6831	0,1346	0,0272
Ottensen	0,6808	0,2188	0,4420	—	0,0241	1,8172	1,4500	0,6281	0,0207
Kronenberg, Arbeiterkolonie bei Essen (2 Analysen)	2,4466	0,9610	1,4856	—	0,0380	0,7961	0,306	0,4901	0,0219
Halle a/S. (5 Analysen)	0,8254	0,4020	0,4234	—	0,0239	1,6380	0,329	1,3040	0,0213



täglichen Wasserverbrauch pro Kopf gleich. Dieser ist in Christiania ca. 130 l; man wird deshalb kaum zu hoch greifen, wenn man in Übereinstimmung mit den besprochenen Zahlen die Schweb- und gelösten Stoffe, die sich pro Kopf und Tag (ca. 24 Stunden) durch die Siele Christianias entleeren, etwa auf  $130 \times 0,4 = 52$  g und  $130 \times 0,6 = 78$  g veranschlagt. Dies gibt für die erwähnte Bevölkerung von 220 000 Seelen ca. 28 000 cbm Sielwasser mit ca. 11 000 kg (11 Tonnen) Schweb- und ca. 17 000 kg gelösten Stoffen in 24 Stunden, d. h. ca. 4 000 Tonnen der ersteren und 6 000 Tonnen der letzteren Art pro Jahr. Hierzu kommen noch enorme Mengen von Mikroorganismen.

Von besonderer Wichtigkeit ist aber nun die Beantwortung der Frage, in welcher Ausdehnung diese Schmutzstoffe sich im Flusse und Hafen nachweisen lassen. Bevor wir zu den diesbezüglichen Untersuchungen übergehen, sei in Kürze folgendes hervorgehoben:

Während verschiedene Verfahren, die bezüglich der Untersuchung von verunreinigtem Süßwasser uns zur Verfügung stehen, durchaus brauchbare Resultate ergeben, sind die entsprechenden Methoden, die sich auf die Verunreinigung des Salzwassers beziehen, noch sehr wenig ausgearbeitet, da diese Verunreinigung bei den verhältnismäßig wenigen Untersuchungen, die bisher vorliegen, meistens allein vermittelt Bakterienzählungen festgestellt wurde. Indem wir bezüglich der einschlägigen Litteratur (Russell<sup>1)</sup>, de Giæxa<sup>2)</sup>, Cassedebat<sup>3)</sup>, Alessi<sup>4)</sup>, Schierbeck<sup>5)</sup> u. a.) auf die Originalarbeiten und hauptsächlich auf die umfassenden Arbeiten Fischers<sup>6)</sup> verweisen, sei als Ursache dieser Erscheinung erwähnt, daß weder der Sauerstoffverbrauch, noch der Glühverlust oder der Chlor- und Stickstoffgehalt, wie dies so sorgfältig von Fischer untersucht worden ist, Anhaltspunkte in Bezug auf die Verunreinigung des Salzwassers geben.

1) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XI.

2) Ebenda, Bd. VI

3) Revue d'Hygiène, 1894.

4) Referiert von Fischer, S. 112—116.

5) Hospitalstidende (Dänisch), 1899.

6) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XXIII.

Bei den Untersuchungen des Hafenwassers zu Christiania haben wir deshalb von diesen Verfahren abgesehen. Dasselbe gilt für die von Fischer u. a. (z. B. Schierbeck) benutzten Bestimmungen des Gehaltes an Schwebestoffen, zumal da es im Hafen von Christiania häufig vorkommt, daß das Wasser während und nach südlichen Stürmen stark getrübt wird, ohne daß dies auf eine Verunreinigung mit Sielwasser zurückzuführen ist. Dagegen bezogen sich unsere Untersuchungen erstens auf den am Grunde des Flusses Akerselven und des Hafens befindlichen Schlamm; dieser wurde meistens nur chemisch analysiert. Zweitens untersuchten wir das Flufs- und Hafenwasser, das erstere nach dem sonst üblichen Verfahren, das letztere teils mittels Bakterienzählungen, teils aber auch vermittelt Bestimmung seines Salzgehaltes. Zwar gibt der letztere, wie erwähnt, bezüglich der Verunreinigung keinen direkten Anhaltspunkt; nach den Untersuchungen, die während der späteren Jahre von skandinavischen Hydrographen ausgeführt sind, konnten wir indessen hoffen, durch derartige Bestimmungen, in Verbindung mit Beobachtungen der Strömungs- und Temperaturverhältnisse des Hafens, uns darüber ein Urteil zu bilden, in welcher Ausdehnung das Hafenwasser als stillstehend angenommen werden muß, oder umgekehrt, in welcher Ausdehnung es regelmäßig gegen nicht verunreinigtes Wasser vom äußeren Teile des Fjords ausgetauscht wird — ein Unterschied, der natürlich für die Verunreinigung des Hafens von größter Bedeutung sein wird.

## 2. Über die Verunreinigung des Grundes des Akerselven und des Hafens.

Wie oben besprochen, setzt sich ein wesentlicher Teil der im Sielwasser aufgeschwemmten Schwebstoffe bei Versuchen im Laboratorium ziemlich schnell als Bodensatz ab. Es ist daher a priori nicht unwahrscheinlich, daß derselbe Vorgang sich auch nach Entleerung der Abwässer in den Flufs (d. h. Akerselven) und den Hafen statthaben wird. Um so wahrscheinlicher ist dies gerade in Bezug auf den Hafen, als es sich bekanntlich ergeben hat, daß die Sedimentierung von Schwebstoffen durch

Vermischen mit Meerwasser erheblich beschleunigt wird. (Diese u. a. von Fischer besprochene Thatsache haben auch wir durch Versuche mit Sielwasser konstatieren können.)

Falls aber ein großer Teil der Schwebestoffe sich schon im Flusse und in der nächsten Umgebung der Sielmündungen am Hafen u. s. w. absetzt, muß diesem Umstande eine große Bedeutung beigemessen werden. Denn wie wir bereits angedeutet haben, gehen diese Stoffe leicht in Fäulnis über unter Bildung von Schwefelwasserstoff. Dies ist ja auch leicht zu erklären, wenn man daran erinnert, daß ihr Glühverlust und ihr durchschnittlicher Gehalt an organischem Stickstoff im Durchschnitt zu 60% bzw. 3% bestimmt wurde, welche letzter Zahl nach der üblichen Berechnung etwa 19% Eiweißstoffen entspricht. Falls sich deshalb ein größerer Teil der Schwebestoffe schon im Flusse, bzw. im innersten Teile des Hafens u. s. w. absetzt, werden diese Bestandteile des Sielwassers mitten in der Stadt und in der nächsten Umgebung derselben eine erhebliche Verunreinigung der Luft veranlassen können.

Diese Vermutungen werden auch durch die tägliche Erfahrung bestätigt. Fortwährend müssen diese Stoffe durch ausgedehntes Baggern vom Flusse und Hafen entfernt werden. So lagert sich nach gütiger Mitteilung seitens des Herrn Hafeningenieurs Schiøtz fortwährend eine bedeutende Menge eines losen schwärzlichen Schlammes, des sog. »Schlick«, am Boden des inneren Hafens ab. Diese Ablagerung nimmt um so mehr an Mächtigkeit zu, je mehr man sich den Mündungen der Siele nähert. Aber noch in einer Entfernung von 150 m von der Stelle, wo sich durch das »Bisletsiel« die Abwässer von ca. 40 bis 50 000 Einwohnern in den westlichen Hafen (Piperviken) entleeren, kann dieser Schlamm so tief sein, daß die Taucher bis zur Achselhöhle einsinken. (An dieser Stelle hat bisher kein Baggern stattfinden können; die Konstruktion der hierzu bisher benutzten Maschinen läßt nämlich das Ausbaggern nur bis zu einer Wassertiefe von 10 m zu.) Derselbe »Schlick« deckt auch den Grund des ganzen Bootshafen in Filipstad (an der Westseite

von Piperviken); in einer Entfernung von 15 m von dem dort mündenden größeren Siele wurde z. B. während dieses Frühling eine meterhohe Schicht des genannten Schlammes angetroffen, obwohl daselbst im Mai 1900, also erst vor einem Jahre, gebaggert worden war. Der »Schlick« deckt aber nach der Mitteilung des Herrn Schiötz auch den Grund des ganzen östlichen Hafens (Björviken), wo derselbe ebenfalls in großer Ausdehnung eine Tiefe von ca. 1 m erreicht. Diese Verschlamung Björvikens geht teils von der Mündung des Akerselven aus, teils und hauptsächlich nimmt sie an einer Schleuse, durch welche der Fluß kurz oberhalb der Mündung mit dem Hafen kommuniziert, ihren Ausgangspunkt.

Aber auch im Flusse Akerselven läßt sich fortwährend eine Verschlamung derselben Art nachweisen. So finden sich immer große Massen des losen schwärzlichen »Schlicks« beim Baggern, das allerdings nur von der Mündung und bis zur sog. Schweigaardsbrücke, d. h. auf einer Strecke von ca. 800 m flussaufwärts, vorgenommen wird. Zum selben Resultat sind wir auch durch unsere Versuche gekommen. Oberhalb der erwähnten Brücke fanden wir dagegen Verhältnisse anderer Natur. So war der Grund des Flusses bei Vaterlandsbrücke (1030 m flussaufwärts von der Mündung des Akerselven) von einer kompakten Masse von Futterresten, Pferdemist u. dergl. bedeckt; dieselbe hatte allerdings noch eine schwärzliche Farbe; aber die erwähnte lose Konsistenz, wie auch der unten zu besprechende Schwefelwasserstoffgeruch ging ihr ab. Oberhalb dieser Stelle war dagegen der Grund des Flusses überall von einem grauen Schlamm bedeckt, welcher zwar ebenfalls etwas Futterreste u. ä. enthielt, aber überwiegend aus Sand und Lehm bestand. Obwohl also auch der Grund des oberen Teiles des Flusses mit dem unbewaffneten Auge sich als verunreinigt erwies, scheinen schon diese Beobachtungen darauf zu deuten, daß die Hauptmasse sowohl der im Sielwasser enthaltenen schwereren Sinkstoffe, wie die erwähnten leichteren Flöckchen, erst eine verhältnismäßig kurze Strecke oberhalb der Mündung des Flusses Gelegenheit dazu finden, sich als Bodensatz abzulagern — eine

Erscheinung, die auch durch andere Beobachtungen, die unten zu erwähnen sind, bestätigt wird. In dieser Schlamm spielen sich aber ferner ausgedehnte Gärungsprozesse ab. So ist es leicht zu beobachten, daß in der Umgebung der Mündungen der Siele an den Hafenuais und in Frognerkilen kontinuierlich zahlreiche Gasblasen durchs Wasser emporsteigen. Dasselbe ist ferner in dem unteren Teile des Akerselven der Fall; aber auch im oberen Teile desselben kann dieselbe Erscheinung, wenn auch in viel geringerer Mafse, bis an die nördliche Grenze der Stadt beobachtet werden. Außerdem sei erwähnt, daß diese Gasblasen um so zahlreicher sind, je wärmer die Jahreszeit ist, und je mehr man sich den Mündungen der Siele nähert; besonders während des Sommers und auf der untersten Strecke des Flusses geben sie dem Wasser das Aussehen, als ob es fortwährend regne. Nicht selten ist ihr Umfang ein recht beträchtlicher; so erzählt ein Gewährsmann, er habe solche von der Gröfse eines »Tellers« gesehen, und vor dem erwähnten Siele in Filipstad (westlicher Hafen) will man sogar Blasen von dem Durchschnitte eines ganzen Meters beobachtet haben, d. h. von derselben Gröfse wie die in der unten citierten Arbeit der Pariser Kommission erwähnten. Diese Gase haben einmal die Eigenschaft, brennbar zu sein — eine Erscheinung, die ja auch sonst häufiger zu beobachten ist überall da, wo organische Stoffe unter Wasser vergären. Es ist auch ein von der Jugend des Hafens oft geübter Sport, ein brennendes Zündholz an die Oberfläche des Wassers hinzuhalten, wodurch man dieselbe ganz wie ein Sprühmännchen anzünden kann. Auch läfst sich die Brennbarkeit dieser Gase dadurch nachweisen, daß man Schlamm vom Hafen oder Flusse in Gärungskölbchen bringt; es bilden sich dann allmählich bedeutende Mengen von Gasen, welche, angezündet, kleine Explosionen hervorrufen.

Bei dieser Gärung bilden sich aber aufser den brennbaren zweitens erhebliche Mengen von übelriechenden Fäulnisgasen. Hierauf deuten schon die verbreiteten Klagen seitens der Bewohner von Piperviken und am Frognerkilen über »Gestank nach Kanalgasen«; es ist auch allgemein bekannt, daß in

der Nähe des Akerselven die Luft zeitweise sehr übelriechend sein kann. Um uns über diesen Punkt näher zu orientieren, haben wir durch die Freundlichkeit des Herrn Ingenieurs Salicaths Assistance dazu erhalten, Umfrage über Gestank in verschiedenen Strafsen abzuhalten, die den Mündungen einiger Siele in und um den Hafen benachbart sind. Diese Untersuchungen beziehen sich auf 128 Familien in Piperviken (westlicher Hafen), am Drammenswege und der nächsten Umgebung desselben (bei Frognerkilen). Im ganzen klagten 69, d. h. ca. 53% der Familien, mehr oder weniger über lästigen Gestank, der — wie zu erwarten war — als besonders unangenehm im Sommer und bei südlichem Winde empfunden wurde. Die Klagen waren um so häufiger und stärker, je näher die Häuser der See lagen, und wurden unter anderem sehr laut in der Søgade (d. h. Seestraße) Pipervikens, wo 30 von 48, d. h. 62% der befragten Familien, sich beschwerten. Da der Gestank längs des Akerselven von allen Seiten anerkannt wird, und wir wiederholt auch denselben selbst festgestellt haben, konnten wir eine entsprechende Untersuchung daselbst als überflüssig unterlassen. Wie nach dem schon Angeführten zu erwarten ist, ist der Gestank auf der unteren Strecke des Flusses — von der Mündung aufwärts bis zur erwähnten Vaterlandsbrücke — weit aus am schlimmsten. Aber auch oberhalb dieser Stelle spürt man bisweilen, besonders im Sommer und bei niedrigem Wasserstande, einen üblen Geruch; vor allem ist dies dort der Fall, wo die Ufer nicht gepfählt sind.

Dafs diese Klagen im wesentlichen berechtigt sind, davon kann man sich leicht überzeugen. Erstens verspürt man meistens sofort einen starken Gestank an den Mündungen der gröfseren Siele. Zweitens verbreitet der Schlamm, der durch das Baggern im inneren Hafen, bezw. auf der unteren Strecke des Akerselven an den Tag befördert wird, oder den man sich selbst leicht mittels eines Schleppnetzes oder schweren Eimers verschaffen kann, fast immer einen sehr üblen Geruch. Letzterer wird ohne Zweifel durch verschiedene Gase verursacht; wir möchten nur hervorheben, dafs im beschriebenen losen »Schlick« fast immer

sowohl durch den Geruch als durch einen mit Bleiacetat getränkten Papierstreifen beträchtliche Quantitäten von freiem Schwefelwasserstoff nachgewiesen werden können, das ist eben das giftige Fäulnisgas, welches sich auch im Laboratorium beim Stehenlassen der im Sielwasser enthaltenen Schwebestoffe bildet. Dagegen beobachteten wir keinen Geruch nach diesem Gase in den mehr kompakten Schichten von Futterresten u. a., die, wie erwähnt, den Grund des Flusses (Akerselven) bei Vaterlandsbrücke bedeckten. Auch entwickelte der sand- oder lehmartige Schlamm, der an verschiedenen Stellen des Flusses oberhalb dieser Brücke untersucht wurde, keinen Geruch nach Schwefelwasserstoff. Wie diese Schlammproben, verhielten sich auch diejenigen vom äußeren Teile des Hafens (Kavringen, Dyna u. s. w.). Schliesslich sei auch hervorgehoben, dass der Geruch dieses Gases auffallend oft in dem Schlamm fehlte, der in den unmittelbaren Umgebungen der Sielmündungen des Hafens und Frognerkilens entnommen worden ist; trotzdem die besprochene Gasbildung eben hier sehr reichlich stattfindet, und die Luft sehr übel riecht, zeigen diejenigen Schlammproben, die wir an diesen Stellen wiederholt entnommen haben, nur denselben muffigen Geruch, den der Schlamm von Vaterlandsbrücke verbreitete. Indessen gilt dies, wie gesagt, nur für die unmittelbare Umgebung der Sielmündungen, indem wir z. B. stark schwefelwasserstoffhaltigen »Schlick« schon in 4—5 m Entfernung von der Mündung des erwähnten Bisletsieles in Piperiken gefunden haben.

Man darf von vornherein annehmen, dass diese Erscheinungen durch mikroskopische Organismen verursacht werden; dies wird auch dadurch bestätigt, dass Kolben mit Schlamm, die durch starkes Erhitzen sterilisiert waren, nicht mehr in Gärung gerieten, während eine solche dagegen eintrat, wenn die gekochten Schlammproben mit einer geringen Menge frisch entnommenen Schlammes geimpft wurden. Wahrscheinlich wird die Gärung durch verschiedene Mikroorganismen verursacht. Wir haben indessen bisher nur zwei Arten derselben isoliert. Diese waren in zwei verschiedenen Proben frisch entnommenen

Schlammes zugegen. Beide waren Stäbchenbakterien; der eine gehört zur Gruppe des *Bacillus coli*; der andere ist ein sporenbildendes Bakterium, das fakultativ anaërob wächst und etwas kleiner als der Milzbrandbacillus ist. Beide bilden bedeutende Mengen von brennbaren Gasen, die reichlichen Schwefelwasserstoff enthalten.

Wir haben aber auch mittelst anderer Verfahren versucht, ein Urteil darüber zu gewinnen, in welcher Ausdehnung die ungelösten Stoffe des Sielwassers sich im Akerselven und Hafen zu Boden setzen. Da es nicht möglich war, z. B. direkt die Höhe zu messen, in welcher sich der »Schlick« daselbst abgelagert hat, haben wir uns darauf beschränken müssen, zu untersuchen, ob und wo sich mittels chemischer Analysen quantitativer Art eine bedeutende Verunreinigung des Grundes des Flusses und Hafens nachweisen läßt. Bezüglich dieser Untersuchungen sei zunächst folgendes erwähnt:

Es ist eine wohlbekannte Erscheinung, daß der Grund verschiedener untiefen Fjordbuchten zum großen Teil von einem Schlamm gedeckt wird — »Gytje« —, der aus Tangresten u. dergl. besteht und deshalb schon an und für sich viel organischen Stoff enthalten kann. Eine Gasbildung, wie die erwähnte, kann daher — wenn zwar in geringerem Grade — auch an Stellen stattfinden, die mit Sielinhalt nicht verunreinigt sind; im Gegenteil sammeln sich im Winter an den verschiedensten Stellen Gase unter dem Eise der Fjorde (wie auch der Flüsse), und es ist nicht nur am Hafen Christianias, sondern auch anderswo ein beliebtes Vergnügen, Löcher durchs Eis zu bohren, um durch ein brennendes Zündhölzchen das ausströmende Gas zum Explodieren zu bringen.

Schon wegen dieser Thatsachen, die es unseres Erachtens zweifelhaft lassen, in welcher Ausdehnung die erwähnten Gärungserscheinungen im oberen Teile des Akerselven dem Inhalte der Siele zuzuschreiben sind, mußten vergleichende Analysen des Schlammes von verschiedenen Lokalitäten vorgenommen werden.



Um den Grad dieser Verunreinigung zu bestimmen, untersuchten wir den Glühverlust und Stickstoffgehalt, wie dies wohl sonst üblich ist.<sup>1)</sup>

#### A. Bestimmungen des Glühverlustes des Schlammes.

Der Glühverlust wurde als Prozent der Trockensubstanz berechnet; wie von vornherein zu erwarten war, scheint er nicht ein ganz zuverlässiger Mafsstab der Verunreinigung zu sein. Zwar entsprechen unsere Resultate, die in der Tabelle 3 angegeben sind, insofern den Verhältnissen, die a priori zu erwarten sind, als der Glühverlust des Schlammes am Akerselven nach oberhalb von der besprochenen Vaterlandsbrücke (ca. 1030 m oberhalb der Mündung gelegen) sehr schnell abnimmt, indem die Zahlen, z. B. an Hausmanns- und Treschows Brücke (resp. 1200 m und 5200 m von der Mündung des Flusses) um die Hälfte, bzw. zwei Drittel der an dem erstgenannten Orte gefundenen Werte abgenommen haben. Und zwar ist der Glühverlust des Schlammes in der Umgebung einiger Sielmündungen des westlichen Hafens (Bisletsiel, Siel bei Filipstad) und Frognerkilen (Skillebäk) ca.  $2\frac{1}{2}$ — $4\frac{1}{2}$  mal gröfser als bei dem Leuchtturm Dyna (der wie oben erwähnt, ca. 3 km von Piperviken entfernt ist), und zwischen Blegöen und Kongshavn, welcher Punkt ca. 1,5 km südöstlich von der Mündung des Akerselven liegt. Zur gleichen Zeit war aber der Glühverlust an den beiden letzteren Stellen ebenso grofs wie mitten auf dem östlichen Hafen (Björöiken), wo doch die Verunreinigung a priori bedeutend gröfser anzunehmen ist; schliesslich ist es auch etwas befremdend, dafs die Zahlen von dem westlichen Hafen nicht wesentlich den Wert überschreiten, den wir bei der Untersuchung einer Probe »Gytje« (Schlamm) von Christiania, Süfswasserbadeanstalt (von Laroik am südlichen Ende des Christianiafjords bezogen) ermittelt haben.

1) Siehe z. B. Ohlmüller (Arbeiten aus d. Kais. Gesundheitsamte, Bd. XIV, 1898); Wolffhügel (citirt von Emmerich und Brunner, Zeitschrift f. Biologie, 1878); Reports of the English rivers pollution commission (1868).

Tabelle III.  
Glühverlust des Schlammes. (Siehe die Karte.)

Entnahmestelle	Zeit der Entnahme	Glühverlust
An der Sielmündung, Filipstad (Westlicher Hafen)		
Probe Nr. 1 . . . . .	März 1901	45,2 %
An der Sielmündung, Filipstad (Westlicher Hafen)		
Probe Nr. 2 . . . . .	April 1901	29,6 „
An der Sielmündung, Piperviken (Bislelsiel) . . . . .	„ „	25,7 „
Westlicher Hafen, 200 m südlich von letzterem	„ „	15,5 „
Östlicher Hafen, Mitten auf Björviken . . . . .	Novbr. 1900	10,5 „
An der Sielmündung, Skillebæk in Frognerkilen	„ „	33,2 „
Am Leuchtturm Dyna, Bygdø (3 km südwestl. vom Bislelsiele) . . . . .	„ „	10,4 „
Zwischen Blegøen und Kongshavn (1,5 km südl. von der Mündung Akerselvens) . . . . .	„ „	9,9 „
Im Hafen, 200 m südwestlich von der Mündung des Akerselven . . . . .	„ „	16,4 „
An der Mündung des Akerselven (Nylands Werkstätte) . . . . .	„ „	48,9 „
Im Akerselven, Bischofsbrücke Nr. 1 (400 m flussaufwärts von der Mündung) . . . . .	März 1901	33,1 „
Im Akerselven, Bischofsbrücke Nr. 2 . . . . .	Mai 1901	45,4 „
Im Akerselven, Vaterlandsbrücke (1030 m flussaufwärts von der Mündung) . . . . .	„ „	34,2 „
Im Akerselven, Hausmannsbrücke (1200 m flussaufwärts von der Mündung) . . . . .	„ „	14,5 „
Im Akerselven, Neue Brücke (1500 m flussaufwärts von der Mündung) . . . . .	„ „	16,9 „
Im Akerselven, Bentsebrücke (4500 m flussaufwärts von der Mündung) . . . . .	„ „	11,6 „
Im Akerselven, Treschowbrücke (5200 m flussaufwärts von der Mündung) . . . . .	„ „	9,6 „
„Gytje“ <sup>1)</sup> (Schlamm) von Christiania Süßwasser-Badeanstalt . . . . .	März 1901	23,0 „

### B. Stickstoffgehalt des Schlammes.

Wir haben ferner den Stickstoffgehalt des Schlammes nach dem Kjeldahl-Verfahren bestimmt. Diese Untersuchungen zerfallen in zwei Reihen; in der einen Versuchsreihe schlemmten wir den Schlamm durch ein Sieb mit 1 mm Maschenweite

1) Aus Larvik, am Südennde des Christianiafjords, bezogen.

(um gröfsere Tiere, Steine und dergl. zurückzuhalten) und analysierten nur, was durch das Sieb ging; in der anderen Versuchsreihe wurde das Sieb weggelassen.

a) Analysen von gesiebttem Schlamm.

Die Resultate dieser Analysen sind in Tabelle 4a wiedergegeben; es ist aus dieser ersichtlich, dafs der Stickstoffgehalt des Schlammes in der Umgebung des Bisletsieles in Piperviken, welches, wie früher erwähnt, die Abwässer von ca. 40—50000 Einwohnern aufnimmt, und in der Umgebung der Sielmündung in Filipstad (ebenfalls in Piperviken) wie auch der Stickstoffgehalt des Schlammes vom unteren Teile des Akerselven ungefähr doppelt so grofs gefunden wurde wie zwischen Hovedøen und Blegøen und wie in der einen Probe von Herbern an der Ostseite Bygdøs; von letzteren Punkten ist der erstere ca. 1,5 km von der Mündung Akerselvens, der letztere ca. 2 km von der genannten Sielmündung entfernt. In der anderen Probe von Herbern — welche Entnahmestelle von vornherein als verhältnismäfsig wenig verunreinigt angenommen werden mufste — wurde dagegen ein wenig mehr Stickstoff als in der nächsten Umgebung der erwähnten Sielmündungen u. s. w. gefunden.

Wie nähere Untersuchungen ergeben haben, ist dies Resultat dadurch zu erklären, dafs die Futterreste u. ä., die eben viel Stickstoff enthalten, auf einem Siebe wie dem besprochenen zurückgehalten werden. Wir haben deshalb, wie erwähnt, in der zweiten Versuchsreihe das Sieb weggelassen, der frisch entnommene Schlamm wurde sorgfältig gemischt, ein Teil davon von mikroskopisch sichtbaren Steinen, Holzstückchen, Seesternen, Anneliden u. dergl. befreit, und davon wieder eine Probe zur Analyse verwendet.

(Siehe Tabelle IV a und IV b auf S. 172 und 173.)

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 4b zusammengestellt, wegen des etwas schwankenden Wassergehaltes des Schlammes ist der Stickstoff in dieser Tabelle als Promille der in parallelen Proben des Schlammes bestimmten Trockensubstanz berechnet.

Tabelle IVa. Stickstoffanalysen des Schlammes.

Gesiebter Schlamm (Feinerdes), Mai und Juni 1900. Über die Entfernungen vom Hafen bzw. von der Mündung Akerselvens siehe auch Tab. III.)

Entnahmestelle	1 kg feuchter Schlamm enthält			1 kg lufttrockener Schlamm enthält von Stickstoff	
	lufttrockene Feinerde	Rückstand a. d. Sieb (über 1 mm Maschenweite)	Stickstoff		
	g	g	g	g	
Vor der Sielemündung Filipstad	340	120	1,56	4,6	Schwarz, übelriechend, alkal. Reakt. Die Probe von Filipstad enthält in dem auf d. Siebe zurückgeblieben. Pferdemist; die anderen Proben sind zugleich reich an Pflanzenresten, besonders Futterstoffen.
Vor der Mündung des Bisletseies, Piperviken	350	55	1,54	4,4	
Im Akerselven, an der Bischofsbrücke	320	50	1,44	4,5	
Rodeløkkens Landungsbrücke, Frognerkilen	450	10	1,31	2,9	Schwärzlich grau, enthält nicht Tiere, ohne Geruch, lehmartig.
An der Sielemündung, Skillebæk, Frognerkilen	365	90	1,16	3,2	Alkal. Reakt. m. Kohlenpartikeln, Schlacken u. lebend. Schlangensterren zugemischt; grau, ohne Geruch, lehmartig.
Herbern, Ostseite Bygdøen (2 km vom Quai d. westl. Hafens, Piperviken)	a) 275 b) 450	a) 80 b) 50	a) 1,29 b) 1,04	a) 4,7 b) 2,3	a) Schwärzlich grau, neutrale Reakt., m. Muschelkalk, Kohlen- u. Schlackenpartik. vermischt; ohne Geruch, lehmartig. b) Schwärz. grau, neutrale Reakt., enthält Anneliden, ohne Geruch, wie vorige.
Zwischen Hovedøen u. Blegøen	410	150	0,98	2,4	Grau, lehmartig, ohne Geruch, enthält kleine Steine.
Vippetangen an der Halbinsel zwischen westl. und östl. Hafen	620	2	0,49	0,8	Reiner blauer Lehm; die oberflächlich. Schichten waren b. vorausgegangen. Baggern entfernt. (Die Probe wurde von einem Moderprahme genom.)

Tabelle IVb. Analysen des nichtgesiebten Schlammes.

(Steine, Muscheln und Tierchen sind entfernt.) November 1900 bis Mai 1901.

Entnahmestelle	Zeit der Probenentnahme	Sticksstoff pro g getrocknetem Schlamm	Bemerkungen
Vor dem Siele in Filipstad	Nov. 1900	10,8	Schwarzer Schlamm, starker Gestank nach Schwefelwasserstoff
Vor d. Bisletsiele, Piperviken	» »	8,0	do. do. enthält w. d. vorig. Probe zahlreiche Reste von Futter n. Pferdemit
Vor dem Bisletsiele (200 m südwestl. von demselben)	April 1901	6,24	Schwarz, starker Gestank n. Schwefelwasserstoff, Reste v. Futterstoffen etc.
Vor dem Bisletsiele (400 m südwestl. von demselben)	Nov. 1900	5,17	Grau, ohne merkbaren Geruch
Mitten auf Björviken	» »	2,97	Grau, lehmartig, ohne Geruch
Zwischen Skillebak und Skarpsno, Frognerkilen	» »	2,43	do.
Kavringen (1200 m südwestl. vom Piperviksquai)	» »	2,95	do.
Herbern, Bygdö (2 km südwestl. vom Piperviksquai)	» »	4,65	do.
Leuchtturm Dyna (3 km südwestl. vom Piperviksquai)	» »	2,99	do.
Zwischen Hovedløen und Blegøen (1,5 km südl. von d. Mündung Akerselvns)	» »	3,12	do.
Akerselven (200 m stüdsüdwestlich von der Mündung)	April 1901	6,76	Schwarz, starker Gestank n. Schwefelwasserstoff, zahlreiche Futterreste
Akerselven a. d. Münd. Nyland	Nov. 1900	10,15	wie vorige
Akerselven, an der Bischofsbrücke (400 m flusaufw. v. d. Mündung) Probe 1	» »	6,73	do.
Akerselven, an der Bischofsbrücke, Probe 2	Mai 1901	10,80	do.
Akerselven, an d. Vaterlandsbrücke (1030 m flusaufw. v. d. Mündung)	» »	13,60	Schwarz, modriger Geruch, kompakte Massen v. Futterrest, Pferdemit etc.
Akerselven, an d. Hausmannsbrücke (1200 m flusaufw. v. d. Mündung)	» »	4,85	Schmutzig grau, m. Sand u. Lehm stark verm., etwas Futterreste, ohne Geruch
Akerselven, a. d. Neuen Brücke (1500 m flusaufw. v. d. Mündg.)	» »	5,49	wie vorige
Akerselven, a d Bentse-Brücke (4500 m flusaufw. v. d. Mündg.)	» »	5,17	do.
Akerselven, an der Treschows-Brücke (5200 m flusaufw. v. d. Mündung)	» »	4,23	do.
Gytje (Schlamm) v. Sandefjord, Seebad	Nov. 1900	5,20	Schmutzig grau, wie Lehm, ohne Geruch
Gytje von Christiania Säufwasserbade-Anstalt von Larvik	» »	4,90	do.
Gytje von Hallangspollen bei Dröbak	» »	3,40	do.
Gytje v. Sandefjord Bad (Analyse v. Dr. E. Böttker 1893/94)	» »	10,2	do.

Aus den Zahlen geht hervor, daß der Stickstoffgehalt im Schlamme vom inneren Teil des Hafens und vom unteren Abschnitt des Akerselven durchgehends größer ist, als wir ihn anderswo gefunden haben. Was den Hafen betrifft, wurde z. B. der Gehalt in der Umgebung der Mündung des Bisletsieles in Piperviken zu  $8\text{‰}$  bestimmt; in 200 m Entfernung von dieser Mündung war er dagegen  $6,24\text{‰}$ , d. h. er war um  $22\%$  geringer, während er in 400 m Entfernung  $5,17\text{‰}$  betrug, also um  $35\%$  abgenommen hatte. Schliesslich war der Gehalt bei Kavringen (1200 m von der Mündung des Bisletsieles) auf  $2,95\text{‰}$  gesunken, d. h. er hatte mehr als  $60\%$  abgenommen. Ähnliche niedrige Werte wie die letztgenannten, fanden wir auch bei Düna (3 km von Bisletsiele) und zwischen Hovedøen und Blegøen ( $1\frac{1}{2}$  km von der Mündung Akerselvens).

Was ferner den Fluß Akerselven betrifft, haben wir (vgl. Tabelle 4 b) von der Mündung bei Nyland und bis Vaterlands-Brücke (ca. 1030 m flussaufwärts) dreimal einen Stickstoffgehalt von ca.  $10\text{--}16,8\text{‰}$  und einmal  $6,73\text{‰}$  gefunden, während der oberhalb Vaterlands-Brücke nur zwischen  $4,23\text{‰}$  (Treschows-Brücke, 5 km flussaufwärts) und  $5,49\text{‰}$  (Neue Brücke, 1,5 km flussaufwärts) schwankte.

Die höheren dieser Zahlen entsprechen u. a. dem Stickstoffgehalt, den die englische Flußverunreinigungskommission im Schlamme des Flusses Irwells fand<sup>1)</sup> ( $2,9\text{‰}$  im feuchten,  $10,5\text{‰}$  im getrockneten Schlamm). Eine weitere Untersuchung unserer Tabelle 4 b ergibt indessen, daß eine Verunreinigung des Schlammes sich kaum immer durch einen besonders hohen Stickstoffgehalt desselben zu erkennen geben braucht. Dies ist z. B. nicht unwahrscheinlich, weil der Stickstoffgehalt des Schlammes mitten auf Björviken (östlicher Hafen) und bei Skillebæk in Frognerkilen ungefähr derselbe oder sogar viel kleiner war, als wir bei Kavringen, Dyna, Herbern und an anderen Orten gefunden haben; und doch

1) Rivers pollution commission (1868). Report on the Mersey and Ribble Basins. Vol. I, p 22.

spricht alle Wahrscheinlichkeit für eine bedeutend größere Verunreinigung an den erstgenannten Stellen (vgl. z. B. die früher besprochenen Gärungserscheinungen bei Skillebäk). Kommt hierzu, daß der Stickstoffgehalt der »Gytje« von Sandefjord — der zwar in der von uns untersuchten Probe nur ca. 5‰ war — im Jahre 1893/94 von Herrn Dr. E. Bødtker zu ca. 10‰ bestimmt wurde (d. i. dieselbe Zahl, die wir an stark verunreinigten Stellen gefunden haben), so ziehen wir den Schluss, daß auch der Stickstoffgehalt nicht als ein absoluter Maßstab für die Verunreinigung des Schlammes mit Sielinhalt benutzt werden kann, wenn er auch in den meisten Fällen als wertvolle Richtschnur für die Beurteilung desselben gelten mag.

### C. Schwefelwasserstoffanalysen.

Da also die bisher erwähnten Ergebnisse nicht ganz befriedigten, haben wir uns nach einem anderen Maßstabe für den Grad der Verunreinigung des Schlammes seitens der Siele umgesehen. Mit Rücksicht auf die Fäulnisprozesse, die sich, wie erwähnt, im Schlamme des Hafens und Flusses abspielen, haben wir versucht, einen solchen Maßstab für den größeren oder kleineren Gehalt des Schlammes an Fäulnisprodukten zu finden.

Zu dem Zwecke haben wir quantitative Bestimmungen des im Schlamme enthaltenen Schwefelwasserstoffes vorgenommen, d. h. das giftige Gas, das in dem früher besprochenen »Schlick« fast immer schon durch den Geruch nachweisbar ist, und welches sehr wesentlich, wenn auch nicht ausschließlich, den Gestank hervorruft, der sich vor Akerselven und dem Hafen verbreitet. Auf das Vorhandensein desselben in den Fäulnisgasen, die sich im Schlamm, welcher mit Sielinhalt verunreinigt ist, bilden, hat früher die Pariser Kommission aufmerksam gemacht, die anfangs der siebziger Jahre die Verunreinigung der Seine untersuchte; zufolge des Berichtes der Kommission enthielt das gebildete Gasgemenge 72,88% Kohlenwasserstoff, 12,30% Kohlensäure, 2,54% Kohlenoxyd, 6,70% Schwefelwasserstoff und 4,58% andere Gase. Als Maßstab der Verunreinigung des

Schlammes selbst wurde indessen das Vorhandensein des Gases (damals nicht benutzt.<sup>1)</sup>)

Der Schwefelwasserstoff kam in den untersuchten Schlammproben sowohl frei wie gebunden, d. h. als Sulfid, vor. In der Mehrzahl unserer Versuche haben wir beide Formen derselben zusammen bestimmt. Diese Analysen der totalen Schwefelwasserstoffmenge umfassen zwei Versuchsreihen; in beiden wurden ca. 20 g Schlamm oder mehr (bis 150 g) aus frisch entnommenen Proben in einen Kolben gebracht und mit einem Überschusse verdünnter Salzsäure versetzt. Das gebildete Gas wurde mittels Durchleitung von Kohlensäure oder Wasserstoff ausgetrieben und in Will-Varrentrapsche Absorptions-Röhrchen mit Jodlösung von bekannter Stärke geleitet. Nach beendeter Reaktion wurde die Jodlösung mit Natriumthiosulfat in gewöhnlicher Weise titriert, und die Menge des entwickelten Schwefelwasserstoffes aus dem Titrationsergebnis berechnet. Die gefundenen Mengen wurden theils — wie sonst üblich — pro kg »feuchten«, d. h. frisch entnommenen Schlammes, theils — da die Wassermenge des letzteren öfters schwankte — pro kg Trockensubstanz umgerechnet; bei den letzteren Versuchen wurde der Wassergehalt in parallelen Proben bestimmt.

In der ersten Versuchsreihe (Tabelle 5a), wo nur Kohlensäure zum Durchleiten verwendet wurde, dauerte dies ca. 12 Stunden; um diese Zeit abzukürzen, wurden die Proben der ersten Reihe noch etwa 2 Stunden rasch aufgeköcht, damit die letzten Schwefelwasserstoffspuren ausgetrieben werden konnten. Um zu verhindern, daß die hierbei entwickelten warmen Dämpfe die Jodlösung erhitzen und dadurch ein Entweichen von Jod bewirken sollte, wurde zwischen dem Schlammkolben und der Jodlösung eine Kühlvorrichtung mit Eis eingeschaltet. Dies Verfahren hat indessen etwas zu hohe Werte gegeben, indem

1) Annales d'hygiène publ. et de médecine légale, 2<sup>e</sup> série, tome 44, 1875, p. 254. Leider sind wir auf diese, soweit uns bekannt alleinstehende Analyse so spät aufmerksam geworden, daß uns die Zeit gefehlt hat, zu untersuchen, ob auch unter den entsprechenden Gasen in Akerselven ein so giftiges Produkt wie Kohlenoxyd vorkommt.



der Schlamm Verbindungen enthält, die nicht als Schwefelwasserstoff präformiert sind, sondern diesen erst durch Kochen abspalten. Obschon wir diesem Umstande keinen besonderen Wert beimessen — indem die genannten Verbindungen wahrscheinlich auch im Schlamm, wie dieser in natura im Wasser vorkommt, Schwefelwasserstoff abspalten können — haben wir in einer anderen Versuchsreihe, deren Resultate in Tabelle 5b wiedergegeben sind, das Kochen weggelassen und nach Zusetzen der Salzsäure die Kohlensäure so lange durch den kalten Schlamm durchgeleitet, bis die aus dem letzteren entweichenden Gase ein mit Bleiacetat getränktes Fließpapier nicht mehr färbten. Dies dauerte bisweilen ca. 18—24 Stunden. Bei den Untersuchungen im April—Mai 1901 haben wir anstatt Kohlensäure Wasserstoff verwendet, ohne daß dies irgend einen Unterschied machte.

Tabelle Va.

**Analysen des totalen Schwefelwasserstoffgehaltes des Schlammes.**

Am Ende der Analyse wurde der Schlamm kurz aufgekocht.

(Über die Entfernungen von Hafen bzw. von der Mündung Akerselvens siehe Tabelle III.)

Entnahmestelle	Zeit der Proben- entnahme	Schwefelwasserstoff in Gramm pro 1 kg feuchten Schlamm	Schwefelwasser- stoff in Gramm pro 1 kg getrockneten Schlamm
Vor dem Bisletsiele, Piperviken . . . . .	Juni 1900	2,9	8,3
In Akerselven, Bischofsbrücke . . . . .	» »	1,95	6,2
In Frognerkilen, Rodeløkquai . . . . .	» »	0,19	0,37
Herbern, Ostseite Bygdø . . . . .	» »	0,023	0,052
Zwischen Hovedøen und Blegdøen . . . . .	» »	Spuren	Spuren
Vippetangen (reiner blauer Thon) . . . . .	» »	nichts	nichts
Mitten auf Bjørviken . . . . .	Sept. 1900	1,3	nicht bestimmt
In Frognerkilen, Skillebæk, an der Sielemün- dung . . . . .	» »	0,75	do.
In der Bucht an der N-Seite von Hovedøen . . . . .	» »	0,28	do.
Zwischen Hovedøen und Vippetangen . . . . .	» »	0,18	do.
Zwischen Sjørøen und Blegdøen . . . . .	» »	0,13	do.
Kavringen . . . . .	» »	0,10	do.
» Gytje (Schlamm) von Hallangspollen bei Drøbak . . . . .	» »	0,13	do.
» Gytje (Schlamm) von Larvik . . . . .	» »	0,04	do.

Tabelle Vb.

## Analysen ohne Erhitzen des Schlammes.

(Über die Entfernungen vom Hafen bezw. von der Mündung Akerselvens siehe Tabelle III und IVb.)

Entnahmestelle	Zeit der Probenentnahme	Schwefelwasserstoff		Allgemeines Verhalten, Aussehen, Geruch u. s. w.
		In Gramm pro 1 kg feuchten Schlamm	In Gramm pro 1 kg getrocknet. Schlamm	
Filipstad, in der Umgebung der Sielemündung, Probe Nr. 1	März 1901	0,82	4,0	Schwarzer, loser Schlamm, Geruch nach Schwefelwasserstoff
Filipstad, in der Umgebung der Sielemündung, Probe Nr. 2	April 1901	1,46	6,02	do. do.
Piperviken, in der Umgebung der Sielemündung, Probe Nr. 1	März 1901	0,37	1,32	Schwärzl. grau, modriger Geruch gerade am Sielauslauf genommen
Piperviken, in der Umgebung der Sielemündung, Probe Nr. 2	April 1901	1,19	5,11	Schwarzer, loser Schlamm, Gestank nach Schwefelwasserstoff; wurde in 4—5 m Abstand von der Sielemündung aufgenommen (gleich an dieser wurde dagegen auch nun Schlamm v. demselben Aussehen wie bei der vorigen Untersuchung gefunden)
Piperviken, 200 m südwestl. von der Mündung des Sieles	„ „	0,81	2,85	do.
Frognerkilen, vor der Sielemündung Skillebak	Nov. 1900	0,125	0,43	Schmutzig grau, lehmartig, etwas modriger Geruch
Mitten auf Björvik (östl. Hafen)	„ „	0,36	1,43	Schwärzlich grau — wie vorige
Leuchtturm Dyna	„ „	0,044	0,11	Grau, ohne Geruch
Zwischen Blegöen u. Kongshavn	„ „	0,026	0,073	do.
Björviken, 200 m von der Mündung des Flusses	April 1901	1,05	3,27	Schwarzer, loser Schlamm, Gestank nach Schwefelwasserstoff
An der Mündung des Akerselven (Nylands Werk)	März 1901	1,25	5,27	do.
In Akerselven, an der Bischofsbrücke	„ „	1,54	5,80	do.
In Akerselven, zw. Bischofsbrücke u. Schweigaardsbrücke	Mai 1901	1,01	6,02	do.
In Akerselven, an der Vaterlandsbrücke	„ „	0,249	1,24	Schwarz, mehr kompakt als die vorigen, besteht beinahe ausschließlich von Futterresten; modriger Geruch
In Akerselven, an der Hausmannsbrücke	„ „	0,135	0,399	Schmutzig grau, wesentl. Sand u. Lehm mit einzelnen Futterresten
In Akerselven, an der Neuen Brücke	„ „	0,29	1,24	Etwas dunkler als vorige Probe, im übrigen ähnlich
In Akerselven, an der Bentsebrücke	„ „	0,041	0,135	Wie Hausmannsbrücke
In Akerselven, an der Tresehowsbrücke	„ „	0,032	0,083	do.; keine deutlichen Futterreste
„ Gytje von Larvik	März 1901	0,144	0,46	Grau wie Lehm
„ Gytje von Sandefjord Bad (nach Analysen von Dr. E. Böldker 1893/94)	„ „	0,083	—	

Aus den Tabellen 5a und b geht hervor, daß der Schwefelwasserstoffgehalt immer erheblich größer in Schlamm aus dem inneren Abschnitte des Hafens und aus dem unteren Teile Akerselvens gefunden wurde, als in dem Schlamm, der in einiger Entfernung von den Hafenuais bzw. weiter flussaufwärts entnommen worden ist.

Was erstens den Hafen betrifft, so wurde in der ersten Versuchsreihe 160 mal mehr Schwefelwasserstoff in der nächsten Umgebung des Bisletsieles in Piperviken (8,4 g pro kg getrockneten Schlamm) als bei Herbern (Bygdö, ca. 1,5 km von der Sielmündung) gefunden. Und in der zweiten Versuchsreihe war der Gehalt vor der Mündung des genannten Sieles und desjenigen in Filipstad (ebenfalls in Piperviken) zwischen ca. 12 und 80 mal größer als bei Dyna und zwischen Blegöen und Kongshavn, d. h. in einer Entfernung von ca. 3 und 1,5 km von den Sielen bzw. von der Mündung Akerselvens. Und was zweitens Akerselven betrifft, wurden an der Mündung des Flusses 5,27 g pro kg getrockneten Schlamm, d. h. ca.  $4\frac{1}{4}$  mal mehr als bei Vaterlands-Brücke (1,24 g; 1 km flussaufwärts) und Nybroen [Neue Brücke], 1500 m flussaufwärts), und bzw. ca. 13, 40 und 63 mal mehr als bei Hausmanns, Bents und Treschows-Brücken gefunden (letztere Stellen liegen bzw. ca. 1200, 4500 und 5200 m flussaufwärts von der Mündung).

Ferner ist aus der ersten Versuchsreihe ersichtlich, daß der Gehalt auf dem Hafen schon bei Kavringen (1200 m von Bisletsiele), wo er nur pro kg feuchten Schlammes bestimmt wurde, 29 mal kleiner gefunden wurde als in der Umgebung des Bisletsieles in Piperviken. Bei dieser Gelegenheit heben wir auch hervor, daß der Schwefelwasserstoff des Schlammes von der kleinen Bucht an der Nordseite der Insel Hovedöen — die ca. 1200 m südlich von der Mündung Akerselvens liegt, und die wir untersucht haben, weil die Strömung, die von dieser Mündung ausgeht, hier zum Teil einsetzt — und ebenso von Vippetangen (auf der Landzunge zwischen dem westlichen und östlichen Hafen), obgleich etwas höher als bei Kavringen, gleichfalls bedeutend

niedriger als in der Umgebung des Bisletsieles und im unteren Teile des Flusses gefunden wurde. Dagegen näherte sich das Resultat der einen Untersuchung bei Skillebäk in Frognerkilen den Zahlen, die wir an den mehr verunreinigten Stellen gefunden haben; dies Resultat bildet also einen Gegensatz zu demjenigen, welches aus dem oben erwähnten Verfahren hervorging, während es mit dem Ergebnisse, welches man nach den erhobenen Klagen der betreffenden Einwohner erwarten sollte, übereinstimmt. (Bei Skillebäk fanden wir 0,75 g Schwefelwasserstoff pro kg feuchten Schlammes, d. i. zufolge des sonst gefundenen Wassergehaltes ca. 4—5 g pro kg getrockneten Schlammes.) Ferner sei der erhebliche Unterschied hervorgehoben, den diese Analysen — im Gegensatze zu den Stickstoffbestimmungen — zwischen Dr. Bødtkers Untersuchungen von Gytje aus Sandefjord und dem Schlamme aus den verunreinigten Lokalitäten zeigen.

Überhaupt sehen wir bei diesen Schwefelwasserstoffanalysen niemals eine Ausnahme von demjenigen Resultate, welches wir von vornherein erwartet haben, nämlich: daß der Schlamm eben im innersten Teile des Hafens und untersten Teile des Flusses am meisten verunreinigt war.

Was die Untersuchungen betrifft, bei welchen in der Umgebung des Bisletsieles in Piperviken nur 1,32 g pro 1 kg getrockneten Schlammes gefunden wurden, sei erwähnt, daß diese Schlammprobe in der unmittelbaren Nähe des Sielauslaufes entnommen wurde, wo der lose »Schlick«, in dem sonst fast immer bedeutende Mengen Schwefelwasserstoffs nachgewiesen sind, wie bereits früher besprochen, vollständig fehlte. Dagegen wurde letztere Art Schlamm schon in 4—5 m Entfernung von der Sielermündung angetroffen, und es ist das Resultat einer Analyse an dieser Stelle, welches als Nr. 2 derselben Versuchsreihe aufgeführt worden ist. Einen entsprechenden Unterschied haben wir bei den Stickstoffanalysen nicht beobachtet. Da der Schwefelwasserstoff aus dem Schlamme nur in freiem Zustande entweichen und dadurch die Luft der betreffenden Lokalitäten verunreinigen kann, haben wir z. T. auch die Menge des freien Schwefelwasserstoffes für sich bestimmt. Für diesen Zweck wurden gewogene, mit etwas Wasser vermischte Proben von »Schlick« ohne Säurezusatz in Kolben gebracht und Wasserstoff durchgeleitet; der Schwefelwasserstoff mußte eine Jodlösung passieren etc. wie in den oben besprochenen Versuchen; er wurde nicht erhitzt. Die Menge des freien Gases wurde bei diesen Analysen (April 1901) in bezw. 200 und 4—5 m Entfernung von dem Bisletsiele in Piperviken zu 0,24 und 1,06 g pro 1 kg getrockneten Schlammes bestimmt. Zur gleichen

Zeit war der entsprechende Gehalt einige Meter vor dem Auslaufe des Sieles in Filipstad 0,41 g. Nachdem Salzsäure zugesetzt war, wurde ferner bezw. 2,61, 4,05 und 5,61 g Schwefelwasserstoff in gebundener Form gefunden.

Auf den »feuchten« Schlamm berechnet, entsprechen diese Werte bezw. 0,068, 0,247 und 0,098 g pro 1 kg. Von diesen Zahlen ist die erste kleiner, die zweite ca. dreimal so groß, und die dritte ein wenig größer als die von Dr. Böttker in Gytje aus Sandefjord gefundene; in letzterer war indessen aller Schwefelwasserstoff in freiem Zustande vorhanden.

Indessen haben diese Untersuchungen u. E. insofern wenig zu bedeuten, als die im Schlamme enthaltenen Gasblasen und dadurch ein Teil des freien Schwefelwasserstoffes beim Aufholen des Schlammes entweichen und deshalb auch nicht durch die Analyse bestimmt werden. Hierzu kommt weiter, daß die bedeutende Menge Schwefelwasserstoff, die in dem Schlamme in gebundener Form zugegen ist, zum großen Teil in so leicht spaltbaren Verbindungen vorkommt, daß sie auch von Kohlensäure, die nach unseren Untersuchungen ebenfalls im Schlamme gebildet zu werden scheint, freigemacht werden kann.<sup>1)</sup> In dem »Schlick«, der den Grund des Flusses und des inneren Abschnittes des Hafens bedeckt, wird daher die Entwicklung von freiem Schwefelwasserstoff und dadurch auch eine Verunreinigung der Luft viel erheblicher und kontinuierlicher sein, als wo es sich um die von Dr. Böttker untersuchte »Gytje« handelt; denn, wie erwähnt, enthält letztere neben dem freien Gase keine Sulfide.

Aus den in diesem Abschnitte besprochenen Untersuchungen geht hervor:

Daß man schon nach dem Verhalten des Sielwassers im Laboratorium annehmen darf, daß sich die Schwebestoffe desselben zum großen Teil schon in verhältnismäßig kurzer Entfernung von den Sielemündungen im Flusse Akerselven und im, bezw. um den Hafen zu Boden schlagen;

daß diese Annahme auch mit den bei den Baggararbeiten der Hafendirektion gewonnenen Erfahrungen übereinstimmt;

daß sie auch bestätigt wird durch die Gärungsprozesse, die an den erwähnten Lokalitäten unter dem Wasser stattfinden und mit dem unbewaffneten Auge beobachtet werden können; ebenfalls stimmt die erwähnte Annahme mit dem Gestanke, der dem Flusse, dem Hafen und Frognerkilen entlang zu berechtigten Beschwerden Anlaß gibt;

1) Wenn man daher versucht, den Gehalt des Schlammes an freiem Schwefelwasserstoff mittels Durchleiten von Kohlensäure zu bestimmen, bekommt man größere Zahlen, als der Wirklichkeit entspricht. In solchen Versuchen muß man deshalb Wasserstoff zum Durchleiten verwenden.

dafs diese Annahme auch durch den Unterschied bestätigt wird, der in Bezug auf Geruch und chemische Zusammensetzung zwischen Schlammproben besteht, die einerseits aus dem inneren Hafen und dem unteren Teile des Flusses, anderseits in kurzer Entfernung von den Hafenuais und im oberen Laufe des Flusses entnommen sind.

Es würde daher von Interesse sein, während des Sommers auch den Grad der Verunreinigung der Luft in der Umgebung des Flusses und Hafens quantitativ zu bestimmen; vor allem würde es interessieren, den Schwefelwasserstoffgehalt dieser Luft festzustellen. Auf diesem Wege könnte man vielleicht auch einen zahlenmäßigen Beweis dafür leisten, dafs der Gestank längs dem oberen Abschnitte Akerselvens — von Hausmanns-Brücke oder Nybroen und weiter flussaufwärts — weitaus geringer ist, als längs dem unteren Teile des Flusses, ein Verhalten, welches wir bisher nicht endgültig als erwiesen ansehen.

Solche Versuche haben wir indessen aufser Betracht lassen müssen und können uns schon aus diesem Grunde nicht darüber aussprechen, inwiefern die in Frage stehenden, übelriechenden Gase die Gesundheit der umwohnenden Bevölkerung direkt schädlich beeinflussen.

Wir geben daher als eine Möglichkeit zu, was im Jahre 1875 von der erwähnten Pariser Kommission ausgesprochen wurde, nämlich dafs ein solcher schädlicher Einflufs durch die starke Verdünnung der stinkenden Gase mit der umgebenden Luft verhindert wird. Doch ist dies erstens nicht aufser allem Zweifel festgestellt, indem Schwefelwasserstoff selbst in einer Verdünnung von 3—5 auf 10000 »acute« Vergiftungen hervorrufen kann<sup>1)</sup>, und daher, wenn er durch längere Zeit eingeatmet wird, auch in noch gröfserer Verdünnung vielleicht Vergiftungen mehr chronischer Natur hervorrufen könnte. Und ferner ist der entwickelte Gestank so belästigend, dafs er vollauf den Übelständen gleichgestellt werden mufs, welche durch grofse stinkende industrielle

1) K. B. Lehmann, Experimentelle Studien über den Einflufs technisch und hygienisch wichtiger Gase und Dämpfe auf den Organismus. Teil V. Schwefelwasserstoff. Archiv f. Hygiene, 1892, Bd. 14, S. 176.

Betriebe verursacht werden, Betriebe, die weder die Gesundheitsbehörde noch die Stadtbewohner überhaupt sich gefallen lassen würden, falls sie in privaten Händen wären.

### **3. Über die Verunreinigung Akerselvens und des Hafens mit den gelösten Stoffen und Bakterien des Sielwassers.**

Wir haben im vorigen Abschnitte gesehen, daß die Schwebestoffe der städtischen Abwässer Christianias sich nach Entleerung in den Fluß Akerselven und in den Hafen in großer Ausdehnung mittels Sedimentierung abscheiden — eine »Selbstreinigung«, welche, wie allgemein anerkannt, sehr uneigentlich diesen Namen verdient; denn obwohl das Wasser selbst hierdurch reiner wird, wird anderseits der Grund des Flusses und Hafens zum Nachteil für die Stadt um so unreiner. Die Frage ist nun weiter, ob die Verhältnisse sich günstiger stellen, wo es sich um die »Selbstreinigung« des Fluß- und Hafenwassers von den übrigen Bestandteilen des Sielinhalts handelt. Um dies festzustellen, haben wir das Wasser des Flusses Akerselven und des Hafens untersucht.

Was erstens den Fluß betrifft, haben wir nur wenige Untersuchungen vorgenommen, indem schon das trübe Aussehen des Wassers zu dem Schlusse berechtigt, daß es während des längsten Teiles des Verlaufes durch die Stadt mit den ungelösten Stoffen des Sielinhalts erheblich verunreinigt sein muß. Und wenn dies der Fall, ist es auch nicht wahrscheinlich, daß auf dieser Strecke irgend welche nennenswerte Selbstreinigung von den übrigen Bestandteilen des Sielinhalts eingetreten sei. Unsere diesbezüglichen Untersuchungen des Flußwassers waren teils chemischer, teils bakteriologischer Natur. Von diesen haben die ersteren, wie dies bezüglich des Süßwassers erfahrungsgemäß öfters der Fall ist, nicht immer die erwarteten Resultate gegeben. An einem und demselben Tage (Frühling 1901) war zwar der Sauerstoffverbrauch pro Liter bei Nybroen (1,5 km flussaufwärts von der Mündung) 10,8, bei Vaterlands-Brücke (1 km) 12,38 und bei Bispebroen (Bischofsbrücke 400 m flussaufwärts von der Mündung) 11,87 mg — also 5—6 mal mehr als man für »reines« Wasser

rechnet. Dagegen betrug der Chlorgehalt bei Treschows-Brücke (ca. 5 km von der Mündung), bei Myren (ca. 4,1 km), bei Holms Fabrik (ca. 3,6 km) 7,08 und bei Schultzehougens Ziegelbrennerei (3,2 km) 8,58 mg pro Liter. Bei Vaterlands- und Schweigaards-Brücken, von denen letztere 800 m flussaufwärts von der Mündung des Flusses liegt, war letztere Zahl nur bis 14,12 mg gestiegen, um dann allerdings bei Bispebroen und gerade vor der Mündung des Flusses (Nyland) plötzlich zu 142 und 740 mg Chlor pro Liter emporzusteigen. Wenn man bedenkt, dafs z. B. Flügge 30 mg Chlor pro Liter als die höchste Grenze für brauchbares Trinkwasser anführt, und dafs gleichzeitig der Flufs auch an denjenigen Punkten seines Verlaufes, wo der Chlorgehalt nur zu ca. 7—9 mg pro Liter bestimmt wurde, immerfort Verunreinigungen von Sielwasser empfängt, kann diesen Chloranalysen keine Bedeutung beigemessen werden. Dagegen stimmt es einigermaßen mit der Verunreinigung, die wir im voraus erwarten durften, dafs wir z. B. an einem Tage in diesem Frühling bei der soeben erwähnten Treschows-Brücke, oberhalb welcher der Flufs u. a. durch das Schmutzwasser einer grossen Weberei verunreinigt wird, 7370 Keime pro cem fanden (im Wasser des Maridalssees, aus dem der Flufs entspringt, und der ca. 10 km oberhalb der Stadt liegt, hält sich die entsprechende Zahl gewöhnlich unter 100). An demselben Tage wurden an verschiedenen der soeben besprochenen Stellen stromabwärts (nämlich Myren, Holms Fabrik, Schultzehougen, Vaterlands-Brücke und Nyland mechanische Werkstätte) bezw. 2300, 1600, 4250, 106000 und 208000 Keime pro cem gefunden.

Weit umfassendere Untersuchungen haben wir dagegen vorgenommen, um bezüglich der Verunreinigung des Hafenwassers ein Urteil zu gewinnen. Wie in der Einleitung dieser Abhandlung erwähnt, gibt es zur Zeit keine sichere Methode, um den Grad der Verunreinigung, welchen die gelösten Stoffe des Siel-inhalts im Meerwasser verursachen, direkt nachzuweisen. Dagegen haben wir auf indirektem Wege einen Einblick darin zu gewinnen versucht; zu diesem Zwecke verwendeten wir teils hydrographische Untersuchungen, teils Bakterienzählungen, deren



Resultate ja nicht allein den Grad der Verunreinigung mit den Bakterien selbst, sondern auch mit den gelösten Stoffen der Abwässer annähernd angeben.

#### **A. Hydrographische Untersuchungen über das Wasser des Hafens von Christiania.**

Im Gegensatze zu den zahlreichen Beobachtungen über die Bedingungen der Selbstreinigung des Süßwassers sind die entsprechenden Untersuchungen über das Meerwasser bisher sehr sparsam. Es ist indessen von vornherein selbstverständlich, daß die Verunreinigung, die der städtische Sielinhalt im Hafenwasser Christianias verursachen kann, allmählich um so größer werden muß, je unbewegter das Wasser des Hafens ist; und umgekehrt: diese Verunreinigung wird um so weniger auffallend werden, je häufiger das Hafenwasser gegen reines Meerwasser von den äußeren Teilen des Fjordes ausgetauscht wird. Es war uns daher viel daran gelegen festzustellen, in welchem Umfange man annehmen kann, daß ein solcher Austausch stattfindet.

Zur Orientierung sei folgendes vorangestellt:

Wie in der Einleitung erwähnt, nimmt der Christianiafjord bei Dröbak erheblich an Breite ab. Gleichzeitig wird aber auch seine Tiefe geringer, indem der Meeresboden sich wie eine Schwelle quer über den Fjord als ein Rücken erhebt, der sich 60 m und weniger unter der Oberfläche des Wassers befindet, während der Fjord innerhalb Dröbak erstens viel breiter ist, zweitens aber auch eine viel größere Tiefe — bis 100 und 180 m — erreicht. Es ist somit wahrscheinlich, daß diese Verhältnisse dem Austausch der Wassermassen innerhalb Dröbaks Hindernisse in den Weg legen werden. Durch Untersuchungen über den Salzgehalt und die Temperatur des Wassers, wie durch Beobachtungen biologischer Natur haben denn auch Petterson und Ekman für schwedische und Johan Hjort und seine Mitarbeiter für norwegische Muldenfjorde nachgewiesen, daß diejenigen Wassermengen, die an der Innenseite dieser Schwellen unter dem Niveau derselben stehen, während längerer Zeiträume ruhig

stehen bleiben, ohne weder ausströmen resp. einströmen zu können, noch mit den oberhalb der Schwelle stehenden Wasserschichten in Austausch treten zu können. Dies ist auch von Hjort für die innerhalb Dröbak auf einer Tiefe von 60 m und darüber stehenden Wassermengen dargethan. Die natürlichen Verhältnisse bei Dröbak wirken aber wahrscheinlich auch ungünstig auf die Erneuerung derjenigen Wassermassen, die im inneren Fjorde oberhalb des Niveaus der »Schwelle« bei Dröbak stehen.

Erstens haben nämlich Hjort und Gran<sup>1)</sup> durch Untersuchungen des äußeren Theiles des Christianiafjordes — welcher durch eine neue Schwelle, die ungefähr in derselben Tiefe wie diejenige bei Dröbak liegt, von Skagerack getrennt wird — nachweisen können, daß dieselben Eigenschaften, welche die tiefsten Wasserschichten des Fjordes charakterisieren, nämlich ein verhältnismäßig hoher Salzgehalt in Verbindung mit einer relativ niedrigen Temperatur bis zu 20—30 m unter der Oberfläche verfolgt werden können — eine Erscheinung, welche in starkem Gegensatz zu den gleichzeitigen Verhältnissen im Skagerack stehen. Dieses Verhalten kann allein in der Weise erklärt werden, daß das Wasser in dieser Tiefe nicht umgetauscht werden kann; und wenn dies der Fall ist, gilt dasselbe wahrscheinlich auch in Bezug auf den Fjord innerhalb der Schwelle bei Dröbak.

Was aber für die vorliegende Frage von der weitaus größten Bedeutung ist, sind die Untersuchungen von Hjort und seinen Mitarbeitern über das Verhalten der oberflächlichen Wasserschichten des Fjordes. Er hat nämlich gefunden, daß dieselben im Sommer um so weniger salzhaltig werden, d. h. daß sie um so mehr Süßwasser enthalten, je weiter man den Fjord hinauf kommt. So war dies der Fall während der Sommer 1897 und 1898, indem Hjort z. B. im September 1897 folgende Salzgehalte der Fjordoberfläche fand: bei Horten (ca. 60 km von

1) Die hierher gehörenden Untersuchungen von Hjort und seinen Mitarbeitern sind unter dem Titel gesammelt: Joh. Hjort, Report on Norwegian fishery- and marine investigations. Vol. I, 1900. Christiania, 1900. Ebendasselbst ist auch die übrige Litteratur citirt.

Christiania) 20,94, bei Dröbak (ca. 35 km) 20,34, bei Spro (zwischen Dröbak und Christiania, ca. 20 km von der letzten Stadt) 19,37 und bei dem Leuchtturm Dyna (3 km südlich von Christiania) 17,01 ‰. Im Dezember 1896 war das Verhalten insofern ein anderes, als der Salzgehalt der Oberfläche des ganzen Fjordes etwas höher als im Sommer gefunden wurde; aber auch zu dieser Jahreszeit war er bei Steilene (14 km von Christiania) niedriger als bei Dröbak und — zwar erst in einiger Tiefe — niedriger als bei Horten, indem in bezw. 0 und 30 m Tiefe bei Horten 29,83 und 34,10, bei Dröbak 31,4 und 34,13, aber bei Steilene 30,94 und 32,67 ‰ Salz gefunden wurde.

Ganz anders waren dagegen die Befunde im März 1897, da das Oberflächenwasser des Fjords umgekehrt um so salzhaltiger gefunden wurde, je weiter man den Fjord hinauf kam. Der Salzgehalt der Oberfläche war nämlich: in Skagerack 25,06, bei Färder (südlichster Punkt des Fjords) 25,06, bei Dröbak 29,66, aber bei Steilene 32,03 ‰.

Da die hierher gehörenden Untersuchungen meistens nicht kontinuierlich, sondern mit längeren Zwischenräumen ausgeführt sind, sprechen sich Hjort und Gran etwas reserviert über die Ursachen ihrer Befunde aus; im großen Ganzen nehmen sie aber an, daß dieselben folgendermaßen zu erklären seien:

Wenn das Süßwasser sich im Meer entleert, mischt es sich nach den Untersuchungen der Hydrographen nur sehr langsam mit dem Meerwasser; da es leichter als das letztere ist, mischt es sich während längerer Zeit nur mit den oberflächlichen Schichten desselben, was sich dadurch zu erkennen gibt, daß das spezifische Gewicht und der Salzgehalt dieser Schichten verhältnismäßig gering sind.

Nun haben indessen andere Untersuchungen gezeigt, daß die Richtung der Strömungen in diesen oberflächlichen Schichten des Meeres in wesentlichem Grade von dem Winde bestimmt wird, der, wie von Hjort hervorgehoben, nach den vieljährigen Beobachtungen von Prof. Mohu im Christianiafjorde vom Mai bis September vorherrschend südlich ist, während umgekehrt vom Oktober bis April nördliche Winde daselbst die häufigsten sind.

Die oberflächlichen Wasserschichten mit dem darin enthaltenen Süßwasser müssen daher während des Sommers im Fjorde aufgehäuft werden; während sie im Winter und Frühjahr durchgehends den Fjord hinaus getrieben werden, so daß zuletzt Wasserschichten, die früher verhältnismäßig tief lagen und daher erheblich mehr Salz enthalten, an deren Stelle an die Oberfläche emporrücken.

Diese Annahme stützt Hjort u. a. auch darauf, daß das Plankton, welches sonst in der Oberfläche des ganzen Fjordes vorhanden ist, im Frühjahr nicht im inneren Teile des Fjordes (bei Steilene und Dröbak) nachgewiesen werden konnte. Dies stimmt gut mit der Ansicht überein, daß Wasserschichten, die früher tiefer lagen, zu dieser Jahreszeit an die Oberfläche emporgerückt sind; denn die tieferen Wasserschichten sind besonders planktonarm. Hierdurch erklärt es sich auch, daß die Temperatur der oberflächlichen Wasserschichten im März 1897 im inneren Teile des Fjordes höher war als im äußeren Abschnitte desselben, an welcher letzteren Stelle das Oberflächenwasser nach den obenstehenden Voraussetzungen eben am längsten mit der kalten Winterluft in Berührung gewesen sein sollte.

Bevor wir weiter gehen, muß hervorgehoben werden, daß die hier in Frage stehenden Verhältnisse vielleicht auch mit den gleichzeitigen Zuständen des Skageracks in Verbindung stehen. Es ist eine Thatsache, auf die schon Prof. Mohn in den Arbeiten der norwegischen Nordmeeresexpedition aufmerksam gemacht hat, daß sich im Frühjahr und Frühsommer eine recht starke westgehende Oberflächenströmung von dem südlichsten Ende des Christianiafjords der Südküste Norwegens entlang bewegt. Dieser Strom repräsentiert den nördlichen Zweig der Strömung, die durch die Frühlingsflut in der Ostsee durch die nordeuropäischen Flüsse entsteht, und kann möglicherweise dazu beitragen, daß zu dieser Jahreszeit die oberflächlichen Wasserschichten aus dem Christianiafjorde ausgesaugt werden.

Die Ergebnisse dieser Untersuchungen Hjorts sind durch schwedische Beobachtungen bestätigt und vervollständigt worden und haben ferner in den Ergebnissen der biologischen Unter-

suchungen, die er selbst später vorgenommen hat, eine Stütze gefunden. Wenn sie sich auch durch detaillierte Beobachtungen am Hafen Christianias als stichhaltig erweisen, darf man ihnen eine große Bedeutung für die vorliegende Frage beimessen. In diesem Falle muß man nämlich annehmen, daß nicht allein das Süßwasser, sondern auch der Sielinhalt, der direkt oder durch Akerselven dem Hafen zugeführt wird, während langer Zeiten des Jahres im letzteren aufgehäuft wird. Wie in der Einleitung erwähnt, ist das spezifische Gewicht des Sielinhalts nahezu wie dasjenige des Süßwassers, weshalb auch die Verunreinigung, welche der Sielinhalt nach Sedimentierung der Schwebstoffe dem Meere zuführt, vor allem in den oberflächlichen Wasserschichten des letzteren zu suchen ist. Dies Verhalten ist von mehreren Seiten, u. a. von Fischer mittels Bakterienzählungen festgestellt worden; dasselbe haben auch wir, wie später zu besprechen ist, in derselben Weise darthun können. Insofern ist es auch lehrreich, daß das Kanalwasser, welches von dem Oesterbroquartier in Kopenhagen auf 10 Fufs Tiefe in den Oeresund hinausgepumpt wird, nach Schierbecks Untersuchungen (Hospitalstidende 1899) senkrecht bis zur Oberfläche des Meeres emporsteigt, um sich erst an dieser auszubreiten. Nicht unwahrscheinlich würde es in ähnlicher Weise gehen, wenn man, wie von Ingenieuren angedeutet worden ist, durch eine Leitung unter dem Wasser den Sielinhalt Christianias auf größere Tiefen, z. B. außerhalb der Insel Hovedøen, herauspumpen würde.

Die oben besprochenen Verhältnisse sind auch von uns speziell untersucht worden, nämlich erstens mittels

#### a. Bestimmungen des Salzgehaltes des Hafenwassers.

Unsere diesbezüglichen Untersuchungen sind kontinuierlich vom April 1900 bis Mitte Mai 1901 ausgeführt worden. Die nötigen Wasserproben von der Fjordoberfläche wurden mittels eines Eimers oder mittels Flaschen aufgenommen. Was die tieferen Wasserschichten betrifft, wurden mit Kautschukpfropfen versehene Flaschen von 500 ccm in einem kleinen, zu diesem

Zwecke konstruierten Eimer mit schwerem bleiernen Boden ein geschlossen und zur betreffenden Tiefe hinabgesenkt, worauf mittels einer Schnur der Pfropfen hinausgerissen wurde. Wenn keine Luftblasen mehr durch das Wasser emporstiegen, wurden die Flaschen heraufgeholt. Da sie sich durch Kontrollversuche zuverlässig bis 25 m Tiefe erwiesen, und unsere Untersuchungen sich nur selten auf größere Tiefen erstreckten, wurden nur ausnahmsweise andere »Wasserschöpfer« gebraucht.

Um den Salzgehalt zu bestimmen, titrierten wir das in 10 ccm des Wassers enthaltene Chlor mittels einer Silbernitratlösung von bekannter Stärke. Durch Vergleichen der hierdurch gewonnenen Zahlen mit denjenigen, die man mittels Aräometer erhält (wir benutzten einen Satz von speziell für Seewasser angefertigten Aräometern Küchlers), ergaben die letzteren Resultate, welche einem Fehler von 1‰ Salz nach auf- oder abwärts entsprechen, weshalb wir von deren Benutzung abstanden. Aus der durch Titrieren gefundenen Chlormenge wurde der Salzgehalt nach den von Petterson und Ekman in »Grunddragen af Skageraks och Kattegats Hydrografi« 1891 angegebenen Daten berechnet. Der Salzgehalt ist infolgedessen als Salz pro Mille ausgedrückt, d. h. die Anzahl Gramm Salze, die in einem Kilogramm Meerwasser enthalten sind. Als Grundlage für die Bestimmung des Titors der Silbernitratlösung wählten wir das von Prof. Otto Petterson und Chemiker S. Schmidt-Nielsen im Jahre 1898 in Vorschlag gebrachte »Standardwasser«<sup>1)</sup>, das ist eine Chloridlösung (Meerwasser), dessen Chlorgehalt durch untereinander unabhängige Gewichtsanalysen von verschiedenen Chemikern bestimmt ist; dagegen ist die Silbernitratlösung nicht wie gewöhnlich auf kleine Portionen Kochsalz eingestellt. Der Vorteil dieses Verfahrens ist darin zu suchen, dafs man die möglichst größte Übereinstimmung unter den einzelnen Analysen erhält, und ebenso, dafs diese völlig mit den Untersuchungen anderer Hydrographen verglichen werden können.

1) Vergl. H. H. Gran, Hydrographic-biological studies of the North atlantic Ocean and the coast of Nordland. s. III. Reports on Norwegian Fishery- and marine-investigations. vol. I, 1900, no. 5. Christiania, 1900.

Unsere sämtlichen Analysen beziehen sich auf das in Stockholm 1898 eingeführte »Standard 1899«. Beim Ausrechnen haben wir die Manuskript-Tabellen von Prof. Pettersson benutzen können, die nach gegenseitigem Übereinkommen bis auf die letzte Zeit von den gemeinschaftlich arbeitenden skandinavischen Hydrographen gebraucht worden sind.

Wir werden nicht auf alle Details der so ausgeführten Untersuchungen eingehen, indem sie nicht alle für die uns hier interessierenden Fragen von Bedeutung sind. Wir heben nur diejenigen Beobachtungen hervor, die an einem Punkte zwischen Herbern (an der Nordostspitze Bygdös) und Kavringen (an der Nordwestspitze der Insel Hovedöen) kontinuierlich bis zu 25 m Tiefe ausgeführt worden und in der Tabelle 6 wiedergegeben sind. Der Übersicht halber haben wir den Durchschnitt der daselbst angeführten Zahlen berechnet in der Tabelle 7a (S. 194.)

Aus diesen zwei Tabellen geht erstens hervor, dafs auch das Meerwasser des Hafens Christianias in Übereinstimmung mit der oben gegebenen Darstellung immer in den oberflächlichen Schichten den niedrigsten Salzgehalt aufweist, d. h. dafs eben diese Schichten am meisten mit Süßwasser vermischt sind. Ferner wird man aber sehen, dafs der Salzgehalt der oberflächlichen Wasserschichten periodischen Schwankungen unterworfen ist, die von der Jahreszeit abhängig sind und genau den Schlüssen entsprechen, die Hjort in Bezug auf den ganzen Fjord gezogen hat. Insofern muß zwar die Oberfläche selbst aufser Betracht gesetzt werden, als ein niedriger Salzgehalt derselben bisweilen nach Regengüssen eintreten kann (3./VII., 2./VIII., 9./VIII. 1900); auf der andern Seite schien ein solcher Gehalt im März 1901 durch einsetzendes Tauwetter mit Schmelzen und Lösen des Eises in und um den Fjord verursacht zu sein; und was den niedrigen Gehalt der Oberfläche am 23./IV. und 2./V. 1901 betrifft, ist derselbe wahrscheinlich mit dem stärkeren Schneeschmelzen in Verbindung zu setzen, das durch eine bedeutende Steigerung der Temperatur während der zweiten Hälfte des Aprils im Niederschlagsdistrikt Akerselvns und in den übrigen Umgebungen des

(Fortsetzung des Textes auf S. 194.)

Tabelle VI.  
Bestimmungen der Temperatur nebst des Chlor- und Salzgehaltes des Wassers zwischen Kavringen und Herbern  
(ca. 2 km vom Bislestel.)

(Der Chlorgehalt ist in Gramm per Liter, der Salzgehalt in Gramm per Kilo Meerwasser angegeben.)

Tiefe in Metern	1900.																					
	9. IV.	18. IV.	23. IV.	29. IV.	5. V.	14. V.	19. V.	2. VI.	30. VI.	30. N.m.	3. VII.	9. VII.	19. VII.	2. VIII.	6. VIII.	9. VIII.	11. VIII.	18. VIII.	22. VIII.	29. VIII.		
0	° C.	—	5,9	6,2	6,2	8,7	8,0	6,5	—	16,0	19,4	19,2	18,8	16,0	20,4	20,4	—	—	—	—	—	
	Cl. pr. l. Salz ‰	18,61 32,86	15,38 27,31	13,41 23,62	14,44 25,69	11,16 21,03	11,76 25,50	14,33 25,50	16,02 28,43	17,07 30,22	13,18 29,52	9,78 17,62	9,83 16,83	9,39 19,65	11,16 19,27	9,68 20,11	11,24 17,33	20,11	16,81	18,93	17,48	18,40
3	° C.	—	5,8	5,95	6,0	6,4	7,1	6,3	—	18,2	18,5	—	15,7	—	18,7	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. l. Salz ‰	—	15,32	14,52	14,28	15,29	14,52	16,33	—	9,85	9,93	—	11,16	—	11,05	—	—	—	—	—	—	—
5	° C.	—	5,0	—	—	6,5	—	6,1	—	17,3	17,5	—	14,7	20,4	18,0	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. l. Salz ‰	15,74 33,10	16,48 —	—	—	15,29 —	—	16,48 —	17,33 —	10,89 —	10,60 —	—	12,79 —	10,18 —	11,90 —	—	—	—	—	—	—	—
10	° C.	—	4,95	—	4,6	5,15	5,25	5,4	—	8,0	15,0	14,6	16,0	12,0	14,0	13,2	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. l. Salz ‰	—	16,22	18,18	15,76	17,92	17,22	16,85	17,35	18,17	16,00	14,03	14,34	12,27	15,59	14,86	15,23	—	—	—	—	—
15	° C.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. l. Salz ‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	° C.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. l. Salz ‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20 bis 25	° C.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. l. Salz ‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

1) D. i. per Kilo (siehe oben).



Fortsetzung zu Tabelle VI.

Tiefe in Metern	1900.										1901.											
	30. VIII	31. VIII	3. IX	4. IX	5. IX	6. IX	7. IX	29. X	1. XI	18. XII	28. XII	11. I	12. III	22. III	16. IV	29. IV	2. V	8. V	10. V	11. V	16. V	
0	° C.	17,1	17,6	16,8	15,8	16,1	14,8	14,4	7,2	6,9	2,3	2,8	0,2	1,5	0,8	3,5	7,9	11,8	9,4	7,5	9,6	11,05
	Cl. pr. 1	10,63	11,05	11,52	11,09	10,96	11,31	11,31	13,61	13,66	13,90	15,88	14,49	10,44	12,73	15,88	9,45	11,46	13,62	14,56	13,94	13,24
	Salz ‰	19,04	19,77	20,63	19,84	19,63	20,24	20,24	24,25	24,34	24,8	27,8	25,77	18,71	22,74	27,32	16,94	20,50	24,11	25,90	24,14	23,62
3	° C.	14,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. 1	11,24	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Salz ‰	20,11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
5	° C.	16,6	17,6	16,1	16,4	16,35	15,75	15,9	9,1	9,1	3,1	2,6	2,2	3,5	3,5	3,3	4,6	6,2	5,8	6,3	8,1	9,4
	Cl. pr. 1	11,76	11,52	11,65	11,86	11,86	12,43	12,21	15,24	15,19	15,78	15,68	16,02	17,57	17,26	16,48	15,47	15,30	15,52	15,29	14,43	14,10
	Salz ‰	21,03	20,63	20,83	21,22	21,22	22,21	21,81	27,09	27,00	28,0	27,8	28,42	31,09	30,55	29,22	27,47	27,18	27,56	27,16	25,68	25,10
10	° C.	13,0	14,8	14,6	14,9	12,95	12,3	12,2	9,8	3,3	3,5	5,2	4,9	4,8	3,4	4,0	4,7	4,4	4,4	5,0	6,5	6,7
	Cl. pr. 1	15,20	14,16	14,26	14,13	15,23	15,47	15,69	16,65	16,88	15,88	16,92	17,97	17,79	17,00	16,47	16,53	16,57	15,96	15,22	15,14	14,9
	Salz ‰	27,01	25,20	25,38	25,15	27,06	27,46	27,84	29,94	29,90	29,20	28,2	29,96	31,76	31,46	30,10	29,20	29,29	29,36	28,31	27,05	26,91
15	° C.	10,6	12,4	11,7	11,1	10,7	10,3	9,8	—	—	4,1	4,8	6,7	6,6	6,3	3,9	4,2	4,7	4,5	4,6	4,7	4,9
	Cl. pr. 1	16,31	15,61	15,83	16,10	16,31	16,37	16,63	—	—	16,31	16,41	17,94	18,29	18,43	17,51	17,39	17,45	17,34	16,40	16,83	16,75
	Salz ‰	28,90	27,72	28,10	28,57	28,90	29,02	29,47	—	—	28,9	29,1	31,04	32,32	32,56	30,89	30,77	30,93	30,70	29,07	29,81	29,67
20	° C.	9,0	9,45	—	9,5	8,9	8,5	9,1	—	7,4	6,3	7,2	6,8	6,6	5,7	6,0	6,3	5,6	5,7	5,0	5,9	5,9
	Cl. pr. 1	17,05	16,67	—	16,74	16,91	17,12	17,17	—	17,64	17,46	17,19	17,79	18,61	18,57	18,26	18,08	18,40	18,38	18,04	17,72	17,98
	Salz ‰	30,19	29,53	—	29,65	29,93	30,31	30,38	—	31,20	30,9	30,35	31,51	32,86	32,79	32,27	32,81	32,50	32,47	31,89	31,85	31,78
20 bis 25	° C.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Cl. pr. 1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	Salz ‰	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Fjords eintrat. Wenn man aber hiervon absieht, geht es aus den Tabellen hervor, daß der Salzgehalt des Hafenwassers, in voller Übereinstimmung mit Hjorts Schlüssen, im Frühling 1900 sehr hoch war, um dann — nach einem Übergange im April und Mai — während des Sommers bedeutend abzunehmen. Darauf ging der Gehalt wieder im Herbst und Winter etwas in die Höhe, um im März 1901 ein neues Maximum zu erreichen. Nach dieser Kulmination trat wieder eine neue Abnahme ein, welche etwas stärker als diejenige der entsprechenden Monate des vorigen Jahres gewesen ist.

Tabelle VIIa.

Tiefe	Salzgehalt im Durchschnitt pro Mille					
	9. IV. 1900	18. IV. bis 2. VI. 1900	3. VI. bis 7. IX. 1900	24. X. bis 11. I. 1901	März 1901	April bis Mai 1901
An d. Oberfläche	32,86	25,6	18,7	25,5	20,8	23,2
5 m . . .	33,10	29,0	20,8	27,7	30,9	27,1
10 m . . .	—	30,5	25,0	29,1	31,6	28,6
20 m . . .	—	32,5	30,3	31,0	32,8	32,1
24—25 m . . .	—	32,8 (29. IV.)	32,5	nicht untersucht	nicht untersucht	32,8

Dieser Unterschied ist, wie aus den Tabellen (Tab. 7a) ersichtlich, besonders augenfällig in 5 m Tiefe, wo der Salzgehalt am 9. April 1900 sogar  $33,10\text{‰}$  erreichte — eine Zahl, die wir später erst in 20—25 m Tiefe gefunden haben. Im Laufe der nächsten Monate wurde in derselben Tiefe als Durchschnitt  $29\text{‰}$  gefunden, worauf der Gehalt während des ganzen Sommers bis zum September durchschnittlich auf 21 pro m herunterging, d. h. der Salzgehalt war im Durchschnitt ca.  $27\text{‰}$  niedriger als in den zwei vergangenen Monaten. Gegen das Ende des Jahres wurde er wieder als Durchschnitt zu ca.  $27,7\text{‰}$  bestimmt, erreichte dann im März 1901 sein zweites Maximum mit ca.  $31\text{‰}$  und ist in den paar folgenden Monaten bis ca.  $27\text{‰}$  gesunken.

Wie die Tabelle zeigt, ist dieselbe Erscheinung noch bis 20 m Tiefe sehr deutlich, jedoch in der Weise, daß sie um so weniger hervortritt, je tiefer man kommt, bis der Unterschied zwischen den Jahreszeiten in 20—25 m Tiefe — wo wir zwar wenig Untersuchungen vorgenommen haben — verschwindend ist.

Es ist einleuchtend, daß diese Schwankungen, die wir auch an anderen Punkten des Hafens festgestellt haben, allein dadurch zu erklären sind, daß das den oberflächlichen Wasserschichten beigemengte Süßwasser während des Sommers in größeren Mengen aufgehäuft ist als im Herbst und Winter, und daß diese Mengen während der letztgenannten Jahreszeiten wieder größer sind als im Frühling. Fragt man, wodurch diese Erscheinung hervorgerufen wird, kann sie nicht dadurch zu erklären sein, daß durch den Fluß Akerselven oder durch Niederschläge dem Hafen während gewisser Jahreszeiten mehr Süßwasser zugeführt wird, als während anderer. Wie wir gesehen haben, können zwar solche Schwankungen zum Teil einen vorübergehenden Einfluß auf den Salzgehalt der Oberfläche selbst ausüben; im allgemeinen wird aber dieser Gehalt sowohl, wo es sich um die Oberfläche als um die tieferen Wasserschichten handelt, von ganz anderen Faktoren bestimmt. Sonst könnte nicht der Salzgehalt im Frühjahr, wenn der Schnee schmilzt und damit speziell große Mengen Süßwassers dem Hafen zugeführt werden, um vieles höher als im Sommer sein.

Wir müssen daher mit Hjort die Erklärung darin suchen, daß in den oberflächlichsten und damit süßesten (und damit zu gleicher Zeit auch am meisten verunreinigten) Wasserschichten Strömungen stattfinden, die zu gewissen Jahreszeiten dieselben im Hafen aufstauen, zu anderen Zeiten ihnen dagegen einen leichteren Abfluß aus dem Fjord hinaus gestatten.

Um diesen Fragen näher zu treten, haben wir ferner eine Reihe

#### b. Untersuchungen über die Strömungsverhältnisse des Hafens

ausgeführt. Es ist ohne weiteres klar, daß solche Untersuchungen ohne Rücksicht auf die obenstehenden Beobachtungen über den Salzgehalt von wesentlicher Bedeutung für die vorliegende Frage sein müßten. Denn falls die Richtung der Strömung der oberflächlichen Schichten des Hafenwassers in größerer Ausdehnung konstant den Fjord hinausgeht, wird das Hafen-

wasser nach dem, was bezüglich der Verunreinigung eben dieser Wasserschichten angeführt worden ist, sich ganz anders rein halten müssen, als wenn es eine solche Strömung nicht gibt und das Hafenwasser im wesentlichen als ein stillstehendes Bassin betrachtet werden muß. Da diese beiden Anschauungen häufig in der täglichen Diskussion der Bewohner von Christiania ausgesprochen werden, ohne dafs Beweise für die Richtigkeit der einen oder der andern derselben erbracht sind, haben wir auf verschiedene Weise diesen Punkt selbst aufzuklären versucht.

Leider haben wir diese Untersuchungen wegen fehlender Assistenz auf den Sommer 1900 beschränken müssen. Teils wurden sie während unserer gewöhnlichen Expeditionen auf dem Hafen ausgeführt, teils haben wir spezielle Exkursionen zu diesem Zwecke veranstaltet; sie wurden hauptsächlich vom ca. 18. Juli bis zum 20. August 1900 vorgenommen und wurden gewöhnlich mehrere Tage nacheinander und zu den verschiedensten Tageszeiten ausgeführt; zum Teile fanden sie am Abend und während der Nacht statt.

In allem Wesentlichen haben wir uns auf die Oberfläche des Hafenwassers beschränkt. Teils haben wir die Richtung beobachtet, nach welcher die Schaumblasen, kleinste Holzspäne u. dgl., die überall an der Wasseroberfläche herumschwimmen, hintreiben. Teils haben wir die Ortsveränderungen ausgeworfener hohler Glaskugeln und Holzklötze beobachtet; diese haben wir öfters durch längere Zeit von einem Boote aus beobachten müssen, weil sie sonst von Vorüberrudern den aufgefischt wurden. Aus den diesbezüglichen Untersuchungen ergeben sich folgende Schlüsse:

Die Strömungen der oberflächlichen Wasserschichten des Hafens Christiania werden im Sommer zum größten Teile ausschliesslich von der Windrichtung bestimmt. Ist der Wind südlich, ist die Richtung der Strömung eine nördliche, d. i. die oberflächlichen Schichten treiben nach den Quais zu; ist der Wind dagegen nördlich, geht die Strömung umgekehrt zum Fjord hinaus. Ein ganz schwacher Wind genügt, um diese Wirkung hervorzubringen; selbst wenn das Wasser ganz still scheint, genügt der schwache, südliche Luftzug, der dennoch während

eines Sommertages gewöhnlich verspürt wird, um alle Schaumblasen u. s. w. an der Oberfläche des Wassers in der Richtung der Quais zu treiben, und umgekehrt vermag der schwache nördliche Zug, der sich während der Sommerabende und -Nächte so oft einstellt, selbst wenn das Wasser spiegelglatt liegt, der Trift eine Richtung den Fjord hinaus zu geben. Schliesslich ist dies Verhalten um so ausgesprochener, je stärker der Wind ist; ist der Wind einigermaßen stark, so ist es nicht allein an der Oberfläche, sondern öfters auch bis mehrere Meter Tiefe, dass der Wind nachweisbar diesen Einfluss übt. Unter diesen Umständen muss es aber in Übereinstimmung mit Hjorts Schlüssen eine Folge werden, dass die oberflächlichen Wasserschichten des Hafens im Sommer, wenn südliche Winde vorherherrschend sind, nur zum geringsten Teil den Fjord hinaus Abfluss bekommen können; und ist dies der Fall, muss auch das Süßwasser und damit auch der Sielinhalt, der, wie erwähnt, eben diesen Wasserschichten beigemischt ist, zu dieser Jahreszeit im Hafen aufgehäuft werden.

Wir sind demnach auch mit Rücksicht auf die Strömungsverhältnisse im Sommer zum selben Resultat gekommen, welches sich aus den Bestimmungen des Salzgehaltes ergab, nämlich dass der Hafen sehr ungünstige Bedingungen für eine »Selbstreinigung« des Meerwassers darbietet.

Man kann indessen gegen einen solchen Schluss vielleicht erstens einwenden wollen, dass es im Hafen Christianias wenigstens eine konstante auslaufende Strömung gibt, nämlich diejenige, welche die Fortsetzung des Stromes der Mündung von Akerselven bildet. Eine solche Strömung hat u. a. seit lange der Stadtbaurat Andersen beobachtet, wie auch wir dieselbe haben feststellen können; sie setzt von der Mündung Akerselvens schräg<sup>1)</sup> über den östlichen Hafen (Björviken) ein und biegt dann in südlicher Richtung um, indem ein Zweig des Stromes in die früher besprochene Bucht an der Nordostseite Hovedøens

1) Diese schräge Richtung wird durch den Auslauf des Baches Loelvans verursacht; letzterer mündet etwas südlich vom Akerselven und senkrecht auf die Richtung der Mündung des letzteren.

einsetzt, während der Hauptstrom um die Nordwestseite dieser Insel umbiegt. An dem südwestlichen Ende der Insel läßt diese Strömung sich aber zufolge unserer Untersuchungen nicht mehr nachweisen, indem Holzspäne u. dgl., die bis hierher geführt sind, teils mit dem Winde zu treiben anfangen, wodurch sie, wenn er südlich ist, gegen die Stadt zu und besonders gegen den westlichen Hafen, Piperviken, getrieben werden; so wird es verständlich, daß Holzklötze, die wir in den Akerselv ausgeworfen haben, bei Filipstad im westlichen Hafen wieder gefunden sind.

Teils kann auch bisweilen im Sunde, welcher das südliche Ende Hovedøens von der Insel Lindøen trennt, eine Strömung auftreten, die vom Bundefjord schräg gegen den nordöstlichen Teil von Bygdø hinübersetzt, wo sie sich verliert, und der Wind für die Richtung der Trift wieder bestimmend wird.

Andere konstante Strömungen der Oberfläche des Hafengewässers haben wir nicht nachweisen können. Indessen wird man einen anderen Einwand gegen unsere Schlüsse erheben können, der auf den ersten Blick von großem Gewicht zu sein scheint, nämlich daß es doch im Hafen von Christiania auch Ebbe und Flut gibt, die durchschnittlich eine Höhe von ca. 30 cm erreichen. Daß dies an und für sich genügt, um große Wassermengen in Bewegung zu setzen, geht aus einer Berechnung hervor, die Herr Ingenieur Salicath gütigst vorgenommen hat.

Der Flächeninhalt desjenigen Abschnittes des Hafenbassins und dessen Umgebungen, der vom festen Lande und den Inseln Nakholmen, Gräsholmen, Blegøen und Sjursøen eingeschlossen wird, d. h. das gesamte innere Hafenterritorium, beträgt nach Abzug des Areals der Inseln ca. 7,6 qkm, d. h. wenn die Höhe der Ebbe und Flut die eben genannte (30 cm) ist, sollte diesem Teile des Hafens während der Flut ca.  $2\frac{1}{4}$  Millionen cbm Wasser aufsen vom Fjorde zugeführt werden, während umgekehrt bei der Ebbe dieselbe Wassermenge entleert werden sollte. Da nun in 24 Stunden zweimal Flut und Ebbe eintreten sollten, also in diesem Zeitraume durchschnittlich dem genannten Hafenabschnitte

in allem ca.  $4\frac{1}{2}$  Million cbm Wasser, welches als sehr rein angenommen werden darf, zugeführt werden. Gleichzeitig muß aber in demselben Zeitraume eine entsprechende Wassermenge den Fjord hinaus Abflus bekommen haben. Da nun ferner ein solches Wasserquantum dem Zehnfachen der durchschnittlichen Wasserführung von Akerselven in 24 Stunden (ca. 432000 cbm) entspricht, wird man sich vielleicht vorstellen können, dafs, wie es sich auch sonst mit den Strömungen verhält, diese Wassermengen mehr als genügend sein müssen, um den Sielinhalt, der sich in den Hafen entleert, immer stark zu verdünnen. Nach unseren Untersuchungen ist dies aber auch nicht richtig. Wenn Flut und Ebbe für die Verdünnung des Sielinhaltes Bedeutung haben soll, müssen nämlich zufolge der gegebenen Darstellung die daraus bedingten Strömungen die oberflächlichen Wasserschichten des Hafens betreffen; und eben dies ist nach unseren Beobachtungen während der Sommermonate nicht der Fall. Bei südlichen Winden war die Strömung der Oberflächenschichten des Hafenwassers immer nach der Stadt gerichtet, und war der Wind auch noch so schwach, hatte weder Ebbe noch Flut einen Einflufs auf dieses Verhalten. Umgekehrt ging die Strömung bei nördlichem Winde unter denselben Verhältnissen immer den Fjord hinaus.

Um dies näher festzustellen, haben wir erstens einen von Hjort angegebenen »Tiefenflotteur« verwendet; derselbe besteht aus zwei zirkulären Flügeln aus Segeltuch von ca. 1 m Diameter, die in zwei entsprechenden Ringen aus dünnem Kupferdraht befestigt und kreuzweise und senkrecht ineinander angebracht sind. Der Flotteur wird im Wasser zu verschiedenen Tiefen hinuntergesenkt, nachdem er mittels einer dünnen Schnur an eine auf der Oberfläche schwimmende, schmale, hölzerne Stange festgebunden und abbalanciert worden ist. Wenn wir von einem einzigen Male absehen, da ein starker Nordwind eine südwärts gehende Strömung an der Oberfläche hervorrief, während der Flotteur schon in einer Tiefe von einigen Metern sich in nördlicher Richtung bewegte — haben wir sonst regelmäfsig gefunden, dafs der Flotteur in wenigen Metern Tiefe sich in der

selben Richtung wie die Schaumblasen u. s. w. an der Oberfläche des Wassers bewegte; Ebbe und Flut waren insofern ohne Einfluss. In größeren Tiefen haben wir dagegen kein überzeugendes Resultat erhalten.

Dafs die oberflächlichen Wasserschichten unter gewöhnlichen Verhältnissen nicht von Ebbe und Flut beeinflusst werden, scheint auch aus einigen am 3.—7. September und 30.—31. August 1900 ausgeführten Untersuchungen über den Salzgehalt hervorzugehen (vgl. Tabelle 6 und 7<sup>a</sup>). Obgleich diese teils am Vormittage während der Flut, teils am Nachmittage während der Ebbe vorgenommen wurden, war das Resultat durchgehends ein und dasselbe, welches auch, wenn von der Wasseroberfläche abgesehen wird, bezüglich der Nachmittagsuntersuchungen in der Nacht, die am 10. August 1900 vorgenommen wurden, der Fall war.

(Siehe Tabelle 7 b auf S. 201.)

Möglicherweise wird man imstande sein, diese Verhältnisse mit einem neulich von Prof. Nansen konstruierten Strommesser näher festzustellen. Wir kommen demnach zu dem Resultate, dafs die oberflächlichen und somit am meisten verunreinigten Wasserschichten des Hafens Christiania im Sommer wegen der Windrichtung in der Hauptsache — wenn auch nicht wörtlich — als stillstehend zu betrachten sind; wenn sie z. B. von dem schwachen nördlichen Zuge, der, wie erwähnt, so oft während der Sommerabende und -Nächte verspürt wird, den Fjord hinaus in Trift gesetzt werden, wird der viel stärkere Südwind, der zu dieser Jahreszeit durchgehends am Tage herrscht, sie schnell wieder in den Hafen zurücktreiben.

Bevor wir diesen Abschnitt verlassen, müssen wir wieder betonen, dafs diese Untersuchungen über die Strömungen ausschliesslich dem Sommer gelten, d. h. der Jahreszeit, da die Verunreinigung des Hafens mit Rücksicht auf den Boden die weitaus größte Bedeutung für die Bevölkerung hat. Dafs die Resultate korrekt sind, wird auch durch einige Untersuchungen bestätigt, die Ekman im Monat April 1901 mit dem erwähnten, von Prof.



Tabelle VIIb.  
**Beobachtungen über Flut und Ebbe.**  
 Salzgehaltbestimmungen.

Datum	Tageszeit	Untersuchungsstation	Tiefe in m	Temp. des Wassers	Salz- gehalt pr. kg
1900				0° C.	
10./8.	6.30 Nachm. (Ebbe)	Boje westlich von Kavringen ca. 1 km von der Sielemündung in Piperviken)	0 3 5 10	— — — —	19,65 19,99 20,42 21,92
	12 Mitter- nacht (Flut)	— — —	0 3 5 10	— — — —	17,86 19,99 20,42 21,97
30./8.	Nachmittag (Ebbe)	Grønlien Hovedøen, N.-O.-Spitze Hågholmen Langø-Malmökalven S. Skjærholme Helvik (Näsodden) Näsodden-Snarøen Näsodden	0 0 0 0 0 0 0 0	18,5 18,7 17,9 18,2 17,9 17,8 17,9 17,8	16,22 19,63 19,63 20,17 20,69 20,62 20,29 20,42
31./8.	Vormittag (Flut)	Grønlien Hovedøen, N.-O.-Spitze Sjursøen-Kongshavn Hågholmen Hågholmen-Näsodden Näsodden Näsodden-Snarøen Snarøen Frognerkilen (Insel »Dron- ningen«)	0 0 0 0 0 0 0 0 0	16,9 17,3 17,4 17,2 17,3 17,6 17,6 17,6 17,5	17,93 19,51 20,17 19,37 20,22 20,29 20,17 18,71 19,42

Frithjof Nansen konstruierten Strommesser<sup>1)</sup> in der Lysakerbucht bei Christiania vorgenommen hat, und die auch zu dieser Jahreszeit den überwiegenden Einfluss des Windes auf die Richtung der Strömung an der Wasseroberfläche zu zeigen scheinen. Schon in Betracht der früher (S. 188) erwähnten Wirkung, welche die Strömung, die im Frühjahr längs der Südküste

1) V. Walfrid Ekman, On a new current-meter, invented by Prof. Frithjof Nansen. Nyt Magazin for Naturvidenskab. Bd. 39, H. 2. Christiania, 1901.

Norwegens westwärts geht, möglicherweise auf das Wasser im Christianiafjorde ausüben kann, möchten wir uns jedoch noch einmal dagegen reservieren wollen, daß die Windrichtung immer oder zu allen Jahreszeiten der einzige Faktor sei, der für die Strömungsverhältnisse des Hafens Christianias bestimmend ist.

Ferner haben wir ein Maß für die Verunreinigung des Hafenwassers zu gewinnen versucht durch

#### **B. Untersuchungen über den Bakteriengehalt des Hafenwassers.**

Wenn Bakterienzählungen in der Methodik der Untersuchungen auf Verunreinigung der Gewässer eine so große Rolle spielen, kommt dies daher, daß das Sielwasser so große Mengen Keime enthält, daß schon eine geringe Verunreinigung mit demselben genügt, um den Bakteriengehalt des Süßwassers und der See bedeutend zu erhöhen. So schwankt, wie bereits früher erwähnt, der Keimgehalt des Sielwassers zu Christiania zwischen einigen Hunderttausenden und 50 Millionen per Kubikcentimeter. Zum Vergleiche erwähnen wir, daß Fischer bei seinen genannten Untersuchungen in Kiel dreimal zwischen 2 und  $4\frac{1}{2}$  Millionen, einmal etwas über 1 Million und zweimal 190 000 bzw. 325 000 per Kubikcentimeter Kanalwasser nachwies.

Für die hier zu besprechenden Untersuchungen wurde uns meistens vom Herrn Hafenskapitän Bassøe in liebenswürdigster Weise ein kleines Dampfboot zur Verfügung gestellt. Nur auf diese Weise konnten wir nämlich die nötigen Apparate, u. a. einen kleinen Eiskühler, zum Erstarren der Gelatineplatten während des Sommers mitführen.

Im übrigen sei nur über das Verfahren bei diesen Untersuchungen erwähnt, daß die aufgehenden Kolonien immer nach 48 Stunden gezählt wurden. Die Ausflüge, die wir zu diesem Zwecke vorgenommen haben, gingen immer von dem Piperviksquai, in der unmittelbaren Nähe des öfter genannten Bisletsieles (westlicher Hafen) aus. Meistens haben wir uns auf folgende Route beschränken müssen: Wir fuhren durch die westliche Einfahrt des Hafens (d. i. längs der Südostseite Bygdø) bis nach der Spitze Näsoddens, d. h. 6 km in südwestlicher Richtung von

der Stadt; von diesem Punkte kehrten wir zurück durch die »östliche Einfahrt«, welche am Leuchtturm Hågholmen vorüber zwischen Hovedøen und Blegøen gelegen ist; gewöhnlich nach einem Abstecher nach Sjørsøen, Kongshavn und Grønlien, bezw. 1,7, 1,2 und 0,6 km südlich von der Mündung Akerselevens, fuhren wir dann über Bjørviken (östlicher Hafen) zurück zum Piperviksquai<sup>1)</sup>. In den Sommermonaten untersuchten wir zum Teil auch den Bundefjord, wie wir auch bisweilen die Verhältnisse bei Snarøen (7 km WSW. von der Stadt), bei Bygdø Seebad (ca. 6 km W. von der Stadt, von letzterer durch Bygdø getrennt) und im Frognerkilen u. a. a. O. untersucht haben. Ein einziges Mal, am 29. April 1900, sind wir auch so weit wie bei Drøbak (ca. 35 km) gewesen.

Auf diesen Ausflügen, die mit den verschiedenen Untersuchungsstationen auf der Karte II abgesetzt sind, schöpften wir stets Wasserproben an verschiedenen Punkten des Weges. Gewöhnlich wurden sie allein der Oberfläche des Wassers entnommen; zum Teil wurden sie aber auch aus verschiedenen Tiefen heraufgeholt, wozu die im vorigen Abschnitte beschriebenen Flaschen mit Kautschukpfropfen, die vorher sterilisiert waren, benutzt wurden.

Diese Flaschen bleiben zwar offen von dem Augenblicke an, da der Pfropfen herausgezogen ist; wenn sie sich aber in der betreffenden Tiefe gefüllt haben, was sich dadurch zu erkennen gibt, daß keine Luftblasen mehr durchs Wasser aufsteigen, riskiert man indessen nicht, daß der Inhalt während des Heraufholens mit den mehr oberflächlichen Wasserschichten des Fjordes verunreinigt wird, indem das Wasser unter einem desto größeren Drucke steht, je tiefer man kommt, und daher auch der Inhalt der Flaschen unter einem größeren Drucke steht als die Wasserschichten, durch welche sie aufgeholt werden.

Bevor wir die Ergebnisse dieser Untersuchungen besprechen, muß zuerst abgemacht werden, wie viele Bakterien gewöhnlich im reinen Meerwasser pro Kubikcentimeter vorkommen. Der einschlägigen Litteratur entlehnen wir, daß Fischer in 74% von 121 Untersuchungen an der Oberfläche des Atlantischen Meeres weniger als 250, in 21% mehr wie 500 und im ganzen 5% mehr wie 1000 per Kubikcentimeter fand (vgl.

1) Diese Route ist als »Haupttroute« auf Karte II mit einer roten Linie aufgezogen; die Stationen sind mit römischen Zahlen bezeichnet.

die früher citierte Arbeit in »Zeitschrift für Hygiene«, Bd. 23, S. 57). Um zu untersuchen, ob dieselben Verhältnisse in dem innern Teil des Christianiafjords wiedergefunden werden und dadurch eine Norm dafür zu gewinnen, welcher Gehalt, als auf eine Verunreinigung desselben deutend, angenommen werden muß, hat der Eine von uns — Schmidt-Nielsen — entsprechende Untersuchungen mitten in Dröbakssund vorgenommen; die Resultate derselben sind in Tabelle 8 wiedergegeben. Aus dieser ist ersichtlich, daß der Keimgehalt der Fjordoberfläche bei keiner der 15 Untersuchungen 62 per Kubikcentimeter überstieg; und wenn die Zahlen in der Tiefe — wie dies auch von Anderen beobachtet worden ist — etwas höher gefunden wurden, und der Gehalt hier sogar ein einziges Mal (in 10 m Tiefe) 10 000 erreichte, war es doch trotz zahlreicher Beobachtungen eine reine Ausnahme, daß die Zahl 240 überschritten wurde. (Außer den erwähnten 10 000 wurden nur einmal 540 und einmal 900 — in beiden Fällen in 15 m Tiefe — und schließlich einmal 420 [25 m] gefunden).

Tabelle VIII.

Keimgehalt des Meerwassers per cem in Dröbakssund; Sommer 1900.

Datum		Tiefe in m						
		0	2	3	5	10	15	25
14. Juli	1900	—	54	—	—	45	—	225
19. „	„	10	56	—	—	10 000	—	116
23. „	„	16	113	—	50	172	—	88
24. „	„	24	42	—	60	26	—	110
28. „	„	28	—	31	16	76	—	26
30. „	„	8	—	—	72	187	—	239
4. August	„	14	—	—	104	157	—	—
7. „	„	62	—	78	50	48	57	64
10. „	„	60	—	91	100	91	540 <sup>1)</sup>	—
18. „	„	6	—	16	—	105	68	233
25. „	„	32	—	—	—	—	—	—
30. „	„	32	—	56	34	—	34	135
31. „	„	20	—	148	130	112	—	163
8. September	„	39	—	51	86	104	900	72
22.	„	47	—	87	96	62	—	420

1) Genau 17 m.

Wir können diese Untersuchungen mit anderen Daten vervollständigen, indem Schmidt-Nielsen<sup>1)</sup> im Monat August 1898 an der Meeresoberfläche bei Jäderen (West-Norwegen) 20 bis 30 und im September desselben Jahres bei Frederiksvärn (südliches Ende des Christianiafjords) 20—30—90 Keime per Kubikcentimeter fand; im Oktober ds. Js. fand er an der Mündung des Langesundfjords (südlich vom Christianiafjord) an der Meeresoberfläche 20—30 per Kubikcentimeter. Ferner fand er in demselben Herbst im Drøbaksund mehrmals ca. 50 per Kubikcentimeter, während dagegen der Gehalt bei Drøbak im Herbst 1899 zum Teil etwas höher war, indem am 20. Oktober 361 und am 21. dess. Monats 168 per Kubikcentimeter (am 20. November und 17. Dezember dess. Js. bezw. 39 und 88) gefunden wurden: und am 1. Sept. 1900 wurden an derselben Stelle bezw. 345, 130 und 63 Keime gezählt. Mit Rücksicht auf diese letzteren Untersuchungen muß jedoch hervorgehoben werden, daß sie in der nächsten Nähe der Stadt Drøbak vorgenommen wurden, wo nicht unwahrscheinlich das Wasser mittels des Wellenschlages, durch Abfallstoffe, von der Stadt herrührend, verunreinigt sein kann. (Die in Tabelle 8 referierten, wie die sonst besprochenen Wasserproben wurden stets per Boot mitten im Sunde entnommen.) Schliesslich sei hinzugefügt, daß Schmidt-Nielsen an einem Tage im Oktober 1900 an der Biologischen Station von Drontheim 400 Keime per Kubikcentimeter an der Oberfläche des Meeres fand, während die entsprechenden Zahlen in 3, 4, 10, 15 und 25 m Tiefe bezw. 93, 96, 50, 161 und 20 m waren (am Tage vorher waren heftige Regengüsse eingetreten).

Diese Zahlen stimmen insofern mit den von Fischer und Anderen gefundenen, als sie zeigen, daß ein einmaliger Nachweis eines hohen Keimgehaltes im Meerwasser nicht für eine Verunreinigung desselben zu sprechen braucht. Anders dagegen, wenn ein verhältnismäßig hoher Bakteriengehalt sich durch wiederholte Untersuchungen während längerer Zeit nachweisen läßt; etwas Derartiges kommt nicht vor, wenn das Wasser rein ist, sondern nur, wenn etwas Abnormes, d. i. wenn eine Ver-

1) Vergl. Schmidt-Nielsen, Biologisches Centralblatt, 1901, Nr. 3.

unreinigung dem Wasser zugeführt worden ist; und eine solche kann man sich im Hafen Christianias nur durch Sielinhalt und ähnliche Stoffe entstanden denken. Vor allem wird dies der Fall sein müssen, wenn eine Verunreinigung des Hafenwassers mit Bakterien nachweisbar, um so mehr abnimmt, je mehr man sich von den Mündungen der Siele entfernt.

Wenn man nun fragt, welche Erhöhung des Keimgehaltes man als Ausdruck einer Verunreinigung betrachten soll, hat Fischer in der citierten Arbeit auf Grundlage eigener und Anderer Untersuchungen den Satz aufgestellt, »dafs das nicht verunreinigte Meerwasser an der Oberfläche in der Regel weniger als 500 Keime im Kubikcentimeter enthält, und dafs eine gröfsere Bakterienzahl den Verdacht einer stattgehabten Verunreinigung nahelegt, und zwar um so mehr, je höher sich der Keimgehalt erweist« (a. a. O. S. 59).

Auf unsere erwähnten Untersuchungen gestützt, müssen wir davon ausgehen, dafs diese Zahl, was den inneren Teil des Christianiafjords betrifft, zu hoch ist, indem hier **höchstens** schon ein Keimgehalt von mehr als **250 per Kubikcentimeter** auf eine Verunreinigung sowohl der oberflächlichen Wasserschichten als bis zu 25 m Tiefe herab deuten wird; d. h. unter der Voraussetzung, dafs ein solcher Gehalt sich nicht blofs ein einziges Mal, sondern mittels wiederholter Untersuchungen nachweisen läfst. Wie wir unten sehen werden, spielt doch dieser Unterschied von der Fischer'schen Norm für die Beurteilung der Verunreinigung des Hafens keine Rolle, aufser wo es gilt, einen Einblick darin zu gewinnen, wie sich die tieferen Wasserschichten verhalten.

Um nach dieser Einleitung zu unseren bakteriologischen Analysen des Hafenwassers überzugehen, fangen wir mit dem **Keimgehalte der Oberfläche** desselben an, indem eine Verunreinigung dieser, wie mehrmals früher berührt, in den Hafenstädten sich immer ungleich gröfser zeigt als in verhältnismäfsig geringer Tiefe unter der Oberfläche. Die diesbezüglichen Ergebnisse sind in Tabelle 9 wiedergegeben; diese ist der Übersicht wegen in

zwei Abschnitte geteilt, von denen der erste die Untersuchungsstationen unserer früher erwähnten Hauptroute umfaßt — von dem Bisletsiele des Piperviksquai (westlicher Hafen) durch die »westliche Einfahrt« des Hafens hinaus nach Näsodden und zum Ausgangspunkte durch die »östliche Einfahrt« über Björviken (östlicher Hafen) zurück. Hierzu kommt als ein zweiter Abschnitt die Untersuchungen an verschiedenen »Nebenstationen«, die teils an die westliche, teils an die östliche Einfahrt stoßen, teils im Bundefjorde gelegen sind. (Wenn Kongshavn unter den »Nebenstationen« aufgeführt ist, ist dies insofern fehlerhaft, als wir hier ebenso viele und mehr Untersuchungen als an manchen Stationen der »Hauptroute« vorgenommen haben. Wie die Tabelle geordnet ist, ist sie indessen mit den auf der Karte abgesetzten Stationen übereinstimmend.)

(Tabelle IX siehe Tafel IV.)

Aus der Tabelle geht hervor, daß der untersuchte Zeitraum sich in drei Perioden teilen läßt, von denen die erste den Frühling und Frühsommer 1900, die dritte den entsprechenden Zeitraum 1901, und die zweite Periode die Zeit zwischen den zwei vorigen umfaßt.

In der ersten Periode, d. h. im Frühling und Frühsommer — vom Anfang April bis Anfang Juni 1900 gerechnet — wird man sehen, daß der Keimgehalt der oberflächlichen Wasserschicht, sowohl der westlichen wie der östlichen Einfahrt, durchgehends schon in verhältnismäßig kurzer Entfernung von der Stadt niedrig oder mäßig gewesen ist. Zwischen Kavringen und Herbern (d. h. in einer Entfernung von ca. 1,5 km von der Mündung des Bisletsieles in Piperviken) wurde es z. B. bei 2 von 8, beim Leuchtturm Dyna (ca. 3 km vom selben Siele) bei 3 von 6 und zwischen Dyna und Näsodden (ca. 4,7 km) bei 4 von 6 Untersuchungen niedriger als die aufgestellte Norm für »reines« Meerwasser, d. h. 250 per Kubikcentimeter gefunden. Beim Leuchtturm Hågholmen (ca. 3 km von der Mündung Akerselvns) zeigte sich sogar in 4 von 5 Beobachtungen der Gehalt unter dieser

Norm und was Näsodden und die Strecke zwischen diesen Punkte und Snaröen betrifft (ca. 6,5 km), war dasselbe der Fall in 3 von 4 Untersuchungen, während in der vierten der Gehalt 400 war (Näsodden). Kommt nun hierzu, daß die Zahlen der gesamten Untersuchungsstationen in einer Reihe der übrigen Beobachtungen nur in verhältnismäßig geringem Grade die erwähnten 250 Keime per Kubikcentimeter überschreiten, gibt es einen augenfälligen Unterschied zwischen diesem Zeitraum und dem zweiten.

Periode von Ende Juni 1900 bis ca. Mitte März 1901. Wir finden hier durchgehends auf allen Stationen der westlichen und östlichen Einfahrt weit höhere Zahlen als im vorigen Zeitraum. Zwar können wir kein Gewicht darauf legen, daß im April—Juni 1900 außerhalb des Bisletsieles in Piperviken durchschnittlich allein etwas mehr wie 200,000 Keime per Kubikcentimeter gefunden wurden, während die entsprechenden Zahlen für die hier zu besprechende Periode zwischen ca.  $1\frac{1}{3}$  und  $19\frac{1}{2}$  Millionen schwankten; bei den wenigen Untersuchungen, die an diesem Orte im April—Juni ausgeführt wurden, gaben wir nämlich nicht darauf acht, die Wasserproben unmittelbar vor der Mündung des Sieles zu entnehmen. Auch wollen wir nicht in Betracht der verhältnismäßig wenigen Beobachtungen bei Kavringen (1,2 km vom genannten Siele entfernt) zu viel Gewicht darauf legen, daß der Keimgehalt daselbst während der vorigen Periode nur bis zu 5050 emporstieg, während er mit einer einzigen Ausnahme (8500) vom Juli an zwischen ca. 28 000 und 81 000 schwankte. Dagegen muß hervorgehoben werden, daß der Gehalt zwischen Kavringen und Herbern (2,5 km vom Bisletsiele entfernt), wo er in der vorigen Periode zum Teil niedriger als die Norm für »reines« Meerwasser gefunden wurde und sonst als Maximum 2054 betrug, in dieser Periode bei 6 von 18 Beobachtungen zwischen 1050 und 8500, in 4 Beobachtungen zwischen ca. 12 000 und 17 000 und bei den übrigen 8 Untersuchungen zwischen 29 500 und ca. 100 000 per Kubikcentimeter schwankte. Ähnliche Verhältnisse zeigen auch die übrigen Untersuchungsstationen der »westlichen« und »östlichen Einfahrt«;



u. a. erhellt aus der Tabelle, daß in diesem Zeitraume zwischen Dyna und Näsodden, wie auch bei Hägholmen nur bei einer einzigen von bezw. 17 und 18 Untersuchungen ein Keimgehalt, welcher der Norm für »reines Wasser« entsprach, gefunden wurde, während sonst zwischen einigen Tausenden bis 80 000 Bakterien per Kubikcentimeter zugegen waren. Ebenfalls ist zu bemerken, daß der Keimgehalt zwischen Näsodden und Snaröen bei 9 von 10 und bei Näsodden bei 7 von 13 Untersuchungen noch auf eine, wenn auch meistens mäfsige oder verschwindende Verunreinigung mit Siewasser deutet. (Diese Punkte sind beide ca. 6—6,5 km von der Stadt entfernt.)

Es läßt sich aber auch ein Unterschied zwischen den zwei Perioden an anderen Stellen des untersuchten Bereiches nachweisen. Man findet z. B. in der Tabelle durchgehends die Untersuchungsstationen Kongshavn Bad und zwischen Sjursöen (weiter südlich) und dem Festlande mit weit niedrigeren Zahlen während des ersten als während des zweiten der hier besprochenen Zeiträume aufgeführt; und was Grönlän (etwas nördlich von Kongshavn) betrifft, zeigt auch diese Station in der zweiten Periode durchwegs hohe Zahlen (bis ca. 220 000), die jedoch, da an diesem Orte in der ersten Periode nur eine einzige Untersuchung ausgeführt ist, keinen direkten Vergleich mit der letzteren erlauben. Bevor wir weiter gehen, sei noch erwähnt, wie weit die Verunreinigung bisweilen zur Sommerzeit den Bundefjord hinaus nachgewiesen werden kann. Aus der Tabelle 9 wird man sehen, daß bei Malmökalven Seebad (ca. 4,5 km von der Stadt) ein einziges Mal, den 20. Juni, 42 000 Keime per Kubikcentimeter nachgewiesen wurden, ein Verhalten, das neben den übrigen hohen Zahlen, die an diesem Tage gefunden wurden (21 500 bei Bydö Seebad, Nordwestseite Bydös — ca. 63 000 zwischen Bydö und Brandskjärene, mitten in der Einfahrt des Frognerkilen — ca. 36 000 bei Kavringen), dazu berechtigt, den 20. Juni zur zweiten Periode zu rechnen, wenn auch sonst eben an diesem Tage nur wenige Beobachtungen vorgenommen wurden. Aber auch sonst wird man aus der Tabelle sehen, daß zur Sommerzeit mehrmals im Bundefjorde eine, zwar in diesen Fällen

sehr oder relativ mäfsige Verunreinigung in beträchtlichen Entfernungen von der Stadt beobachtet worden ist (vgl. die Zahlen des 22. August), wie man auch in diesem Teil des Fjords den genannten Unterschied zwischen den zwei Perioden beobachten kann (vgl. den Sund zwischen Rambergö und Langö, Tabelle 9). Überhaupt ist aus der Tabelle ersichtlich, dafs der Keimgehalt während des hier besprochenen Zeitraumes in der Nähe der Stadt sehr oft so grofs gewesen ist, dafs die Verunreinigung als sehr bedeutend bezeichnet werden mufs — eine Anschauung, deren Richtigkeit vor allem einleuchten wird, wenn man auf die vielen hohen Zahlen bei Kongshavn und Grönlien mit den daselbst befindlichen städtischen Badeanstalten Rücksicht nimmt. Diese Zahlen entsprechen auch denjenigen bei Kavringen, wo man vor einiger Zeit eine Badeanstalt anlegen wollte, weil das Wasser daselbst als speciell rein vorausgesetzt wurde; hierzu fügen wir noch, dafs wir bei den Badeanstalten »Sölyst« und »Svömmeflaaten«, die am Fusse der Festung Akershus zwischen dem westlichen und östlichen Hafen gelegen sind, im vorigen Sommer zwischen 20 000 und 48 000 Keime per Kubikcentimeter gefunden haben.

Gehen wir nun zum dritten Zeitraum über, so entspricht er dem Frühling und Frühsommer 1900, in dem er mit dem 22. März 1901 anfang und noch andauerte, als unsere letzte Untersuchung am 15. Mai d. J., ausgeführt wurde. Aus der Tabelle geht hervor, dafs die Zahlen in diesem Zeitraum sich durchschnittlich bedeutend niedriger als in der Periode Juni 1900 bis 12. März 1901 gehalten haben. Wir verweisen insofern auf die Untersuchungen bei Kavringen mit einem Keimgehalte zwischen 1450 und 8450 gegen 8500—28 500 und 75 500 in der vorigen Periode; ferner vergleiche man die Zahlen bei Dyna, wo der Gehalt zwischen 1500 und 6250 gegen 2265—10 600—19 500—38 800—114 500 in der vorigen Periode schwankte; wir verweisen ferner auf die Resultate bei Hägholmen, wo der Keimgehalt in der vorigen Periode zwar einmal nur 60 war, sonst aber zwischen 2550—7900—11 150—38 750—79 500 schwankte,

während er in dem hier besprochenen Zeitraum nur 330—8300 betrug.

Insofern haben sich also die Verhältnisse denjenigen genähert, die zur selben Jahreszeit im Jahre 1900 vorhanden waren; doch sind sie mit letzteren keineswegs identisch gewesen, indem wir in diesem Frühlinge erst (bei 5 von 7 Beobachtungen) bei Näsodden (d. h. 6 km von der Stadt) einen Keimgehalt gefunden haben, der nicht die aufgestellte Norm für »reines Meerwasser« überschreitet; dies war aber im vorigen Frühjahr schon in einer größeren Nähe der Stadt häufig der Fall, wie der Keimgehalt sich damals auch sonst durchgehends viel niedriger hielt.

Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß auch der Keimgehalt der Oberfläche des Hafenwassers in einer wesentlichen Beziehung den Verhältnissen entspricht, die man zufolge der früheren Abschnitte dieser Darstellung erwarten sollte. Denn wenn der Keimgehalt eben im Frühjahr und Frühsommer an niedrigsten ist, entspricht dies der Jahreszeit, wo ein Steigen des Salzgehaltes darauf deutet, daß die oberflächlichen, mit Süßwasser und daher auch mit Sielinhalt am meisten beigemengten Wasserschichten in der größten Ausdehnung den Fjord hinaus getrieben sind. Und umgekehrt: wenn der Keimgehalt im Sommer sehr hoch ist, entspricht dies eben der Jahreszeit, da eine Abnahme des Salzgehaltes eine Aufstauung derselben Wasserschichten im Hafen zu erkennen gibt. Hierzu ist zwar zu bemerken, daß der Keimgehalt in diesem Frühjahr (1901) erst am 22. März abzunehmen anfing, während die Kulmination des Salzgehaltes schon am 12. desselben Monats eingetreten war (vergl. Tabelle 6, 5 m Tiefe); an letzterem Tage wurde aber der Keimgehalt besonders hoch gefunden. Doch darf dies nicht Wunder nehmen; denn, wie früher erwähnt, war gerade vorher ein Tauwetter eingetreten, welches dem Hafen von den Straßen der Stadt u. a. eine überaus große Verunreinigung zugeführt haben muß; dies Verhalten kann auch den geringen Salzgehalt, den wir eben am 12. März an der Oberfläche fanden, erklären.

Demnächst war uns auffällig, daß der Keimgehalt in diesem Frühjahr, wie schon oben erwähnt, obschon verhältnismäßig niedrig, doch erheblich höher als zur selben Zeit des Jahres 1900 gewesen ist. Auch dies ist indessen verständlich, indem die Temperatur der Monate April und Mai 1901 in Christiania viel höher war und in viel größerem Umfange von südlichen Winden begleitet wurde als die entsprechenden Monate des Jahres 1900.

Hiermit stimmt ja auch überein, daß der Salzgehalt im Laufe von April und Mai 1901 niedriger wie in den entsprechenden Monaten 1900 gefunden wurde. Was wir dagegen besonders hervorheben wollen, ist die Thatsache, daß der Keimgehalt vom 29. Oktober 1900 bis zum 11. Januar 1901 trotz der Zunahme des Salzgehaltes (vergl. Tabelle 6) ebenso hoch war, als wir im Laufe der Sommermonate beobachteten. Diese beträchtliche Verunreinigung der oberflächlichsten Schichte des Hafenwassers am Ende des vorigen und Anfang dieses Jahres haben wir noch nicht in befriedigender Weise erklären können.

Bevor wir weitergehen, wollen wir von dem Einflusse des **Windes** (sowohl Richtung, als Dauer und Stärke) auf den Keimgehalt noch folgendes bemerken: Wir haben am 29. April 1900 feststellen können, daß ein Nordwind von kurzer Dauer eine augenfällige Wirkung auf den Keimgehalt ausgeübt hat. An diesem Tage machten wir einen Ausflug bis nach Dröbak. Auf der Hinreise, am Vormittage, wehte wie am Tage zuvor ein frischer Südwind; wir fanden dann zwischen Kavringen und Herbern 2054, zwischen den Nordenden von Hovedøen und Blegøen 2880 und bei Hægholmen 564 Bakterien per Kubikcentimeter. Als wir indessen am Abend um 6—7 Uhr die Untersuchung an denselben Stellen wiederholten, hatten wir in einigen Stunden eine frische Brise von N. gehabt und fanden nun an denselben Stellen allein bezw. 199, 499 und 139 Keime per Kubikcentimeter (Tabelle 9).<sup>1)</sup> Daß dies darauf beruhte, daß die oberflächlichen, süßeren und somit mehr verunreinigten Wasserschichten den Fjord hinausgejagt waren, ergibt sich daraus, daß

1) Vergl. auch, daß der Keimgehalt zwischen Herbern und Kavringen in 3 m Tiefe am Vormittage 1392, am Nachmittage aber nur 425 war (Tab. X).

zu gleicher Zeit der Salzgehalt in 10 m Tiefe von 27,98 zu 31,69 ‰ gestiegen war, d. h. die oberflächlichen Schichten von weniger salzhaltigem Wasser hatten an Tiefe abgenommen. Es darf ferner erwähnt werden, dafs auch am 4. April und 14. Mai 1900, als der Keimgehalt ebenfalls niedrig gefunden wurde, ein frischer Nordostwind wehte, und dafs dasselbe auch ein paar Tage der Fall gewesen war, bevor die merkbare Abnahme des Keimgehaltes am 10. Mai 1901 bei Hågholmen, zwischen Hågholmen und Näsodden und zwischen Näsodden und Dyna beobachtet wurde; diese Brise hatte einige Stunden vor der Untersuchung am 8. Mai angefangen. Bei letzterer Untersuchung war der Bakteriengehalt dagegen höher; schon dies zeigt also, dafs ein kurzdauernder Nordwind keineswegs immer einen gröfseren Einflufs auf den Keimgehalt ausübt, — eine Erscheinung, die wir auch sonst, u. a. während der Sommermonate, öfters nachzuweisen Gelegenheit gehabt haben. Indessen müssen wir zugeben, dafs wir niemals bei sehr starkem Winde dieser Art untersucht haben.

Was sonst zu den Schwankungen des Keimgehaltes, die nach Tab. 9 zu allen Zeiten des Jahres beobachtet worden sind, beigetragen haben kann, darüber können wir uns zur Zeit nicht mit Bestimmtheit aussprechen. Vielleicht kommt hier auch die Höhe der Wellen in Betracht. Dieser Faktor war bei den Untersuchungen, die Cassedebat 1894 im Hafen von Oran in Algier ausführte, sehr augenfällig, wie er auch später von Fischer als Erklärung der Schwankungen des Keimgehaltes des Kieler Hafens hervorgehoben worden ist. Die Bedeutung der Wellenhöhe ist darin zu suchen, dafs die oberflächlichen und am meisten verunreinigten Wasserschichten mit den tieferen und weniger verunreinigten um so mehr gemischt werden, je höher die Wellen sind.

Unsererseits haben wir nur einmal eine besonders merkbare Wirkung dieser Art beobachtet, nämlich am 19. Juli 1900, den einzigen Tag im Hochsommer, als wir »reines Wasser« so weit nach der Stadt zu als bei Hågholmen und zwischen Dyna und Näsodden gefunden haben; an diesem Tage gingen die Wellen sehr hoch, — höher als wir sie bei unseren Untersuchungen sonst gehabt haben. Auch sonst haben wir hin und wieder geglaubt, einen etwas höheren oder niedrigeren Keimgehalt damit in Verbindung setzen zu können, dafs die Oberfläche des Fjords ruhig war oder nicht, ohne dafs wir indessen die Wirkung besonders hervortretend gefunden haben. — Schliesslich sei noch erwähnt, dafs der verhältnismäfsig hohe Keimgehalt, der auch während des Herbstes und Winters gefunden wurde, die Einwendung widerlegt, dafs der grofse Keimgehalt der Sommermonate

nur darauf beruht, daß die hohe Temperatur eine Vermehrung der Bakterien nach Entleerung des Sielinhalts in den Hafen begünstigt. Eine solche Anschauung wird übrigens auch dadurch widerlegt, daß auch die im Seewasser ursprünglich enthaltenen Keime keine Neigung zeigen, sich während des Sommers im Fjorde zu vermehren; vergl. z. B. die niedrigen Zahlen, die wir zu dieser Jahreszeit immer bei Dröbak fanden und öfters im Wasser des Bundefjords nachgewiesen haben.

Bevor wir diesen Abschnitt verlassen, muß noch kurz die Verunreinigung der **tiefen Wasserschichten** erwähnt werden. Wie mehrmals hervorgehoben, werden diese bei den entsprechenden Untersuchungen anderer Hafenstädte erheblich weniger verunreinigt als die Oberflächenschicht gefunden. Daß dies sich auch bezüglich des Hafens von Christiania wiederholt, geht aus der Tab. 10 S. 216 u. 217 hervor. Diese enthält nur Untersuchungen, die zwischen Herbern und Kavringen ausgeführt wurden; an anderen Punkten haben wir dagegen nur ausnahmsweise Beobachtungen dieser Art vorgenommen<sup>1)</sup>. Was diese Tabelle betrifft, genüge es, unter Berücksichtigung der entsprechenden Untersuchungen bei Dröbak, darauf aufmerksam zu machen, daß häufig, und besonders während der Sommermonate, in 5 m Tiefe eine mäfsige, wenn auch deutliche Verunreinigung nachgewiesen ist. Eine gröfsere Abnahme war in 10—20 m Tiefe zu spüren; im Gegensatze zur Keimzahl der Oberflächenschicht wurde der Keimgehalt in dieser Tiefe schon Anfang November bzw. am Ende des Jahres auffallend kleiner gefunden als während des Sommers. (Zwar überschritt der Gehalt auch im Sommer nur in geringem Grade die 250 Keime pro Kubikcentimeter, die wir als Norm für »reines« Seewasser aufgestellt haben.)

Wie die Bakterien diesen tieferen Schichten zugeführt werden — ob sie z. B. nur durch eine »Sedimentierung« von der keimreicheren Oberfläche heruntergesunken sind —, das müssen wir unentschieden lassen.

1) Von diesen erwähnen wir ein Paar, die in Übereinstimmung mit den Beobachtungen Anderer zeigen, wie stark der Keimgehalt schon unmittelbar vor den Sielöffnungen in geringer Tiefe unterhalb der Oberfläche abnimmt. Vor den Sielen des Thingvallaquais und in Filippstad (beide im westlichen Hafen) wurden am 18. April 1900 an der Wasseroberfläche 1 212 000 bzw. 330 000 Keime pro Kubikcentimeter gefunden; aber schon in 2 m bzw. 0,9 m Tiefe hatte der Gehalt auf 6000 und 60 000 per Kubikcentimeter abgenommen.

Tabelle X.  
Keimgehalt und Temperatur des Wassers.

Untersuchungsstation	9. IV. 1900	18. IV.	23. IV.	29. IV. Vorm.	29. IV. Nachmittag	14. V.	2. VI.	3. VII.	19. VII.	9. VIII.	18. VIII.	22. VIII.	28. VIII.	30. VIII.	31. VIII.	3. IX. Vorm.	4. IX. Vorm.
0 m	1800	1765	1 100	2 054	199	50	565	65 000	8500	44 000	86 250	12 500	3 750	16 500	3 960	1 700	30 000
			5,9° C.	6,2° C.	6,2° C.	6,5° C.	18° C.	18,8° C.	16° C.	20,4° C.	86 250	18° C.	18,2° C.	17,1° C.	17,6° C.	16,2° C.	15,8° C.
1 m	—	—	2 000	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3 m	—	—	1 700	1 352	425	67	—	—	—	—	3 450	15 400	3 450	5 100	—	—	—
			5,8° C.	5,95° C.	6,0° C.	6,3° C.	—	—	—	—	3 450	18,2° C.	17,5° C.	14,6° C.	—	—	—
5 m	1650	—	1 800	—	356	48	—	—	6500	—	5 100	7 035	750	900	940	2 885	2 885
			5,0° C.	—	—	6,1° C.	—	—	6500	—	5 100	17,0° C.	16,5° C.	16,6° C.	17,6° C.	16,1° C.	16,4° C.
10 m	—	870	80	37	36	58	—	—	—	—	3 123	1 410	690	630	1 145	435	785
			4,35° C.	4,6° C.	5,15° C.	5,4° C.	—	—	—	—	3 123	14,9° C.	13,6° C.	13° C.	14,8° C.	14,6° C.	14,9° C.
15 m	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1 410	2 855	405	1 155	625	595
			—	—	—	—	—	—	—	—	—	11,6° C.	10° C.	10,6° C.	12,4° C.	11,7° C.	11,1° C.
20 m	—	—	—	—	—	223	—	—	—	—	1 270	1 710	—	420	1 360	1 935	585
			—	—	—	5,7° C.	—	—	—	—	—	7,6° C.	—	9° C.	9,45° C.	1 935	9,5° C.
24 bis 25 m	—	—	—	—	91	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
			—	—	5,6° C.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Mitten zwischen Herbern und Kavtingen.

Tiefe in m	5. IX. Nachm. 1900	6. IX. Nachm.	7. IX. Nach- mittag	29. X. Urbel.	1. XI. XII.	18. XII.	28. XII.	11. I. 1901	12. III.	22. III.	16. IV.	2. V.	8. V.	10. V.	11. V.	15. V.
0 m	46 000 16,1° C.	81 400 14,8° C.	29 500 14,4° C.	7,2° C. 3 000	14 000 2,8° C.	1 050 2,8° C.	16 750 0,2° C.	101 000 1,5° C.	25 500 0,8° C.	8 200 3,5° C.	12 750 11,8° C.	6 000 9,4° C.	1 000 7,5° C.	2 500 9,6° C.	1 350 11,05° C.	
1 m	—	—	—	3 200 3 200	3 050	—	—	—	—	—	12 500 2 500	2 500	1 500 7,5° C.	1 380 9,5° C.	2 550	
3 m	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	900 5 800	—	7,0° C. 8,5° C.	2 650	275	
5 m	4 940 16,35° C.	2 200 15,75° C.	3 200 15,9° C.	555 9,1° C.	200 3,1° C.	1 000 2,6° C.	950 2,2° C.	375 3,5° C.	290 3,5° C.	1 660 3,8° C.	930 6,2° C.	1 120 5,8° C.	480 6,3° C.	780 8,1° C.	715 9,4° C.	
10 m	420 12,95° C.	545 12,2° C.	350 12,2° C.	430 9,8° C.	215 3,3° C.	290 3,3° C.	220 3,5° C.	255 5,2° C.	340 4,9° C.	70 4,8° C.	185 3,4° C.	160 4,7° C.	780 4,4° C.	380 5,0° C.	1 010 6,5° C.	305 6,7° C.
15 m	1 160 10,7° C.	845 10,3° C.	120 9,3° C.	—	—	1 900 4,1° C.	185 4,8° C.	210 6,7° C.	175 6,6° C.	90 5,3° C.	220 3,9° C.	205 4,7° C.	650 4,5° C.	285 4,6° C.	170 4,7° C.	145 4,9° C.
20 m	340 8,9° C.	1 120 8,5° C.	560 9,1° C.	—	255 7,4° C.	885 6,3° C.	95 7,2° C.	185 6,8° C.	265 6,6° C.	85 6,5° C.	105 5,7° C.	365 6,3° C.	1 350 5,5° C.	180 5,7° C.	175 5,5° C.	125 5,9° C.
24 bis 25 m	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	125 6,5° C.	190 6,7° C.	238 6,9° C.	

Mitten zwischen Herbern und Kavringen.

Untersuch-  
station



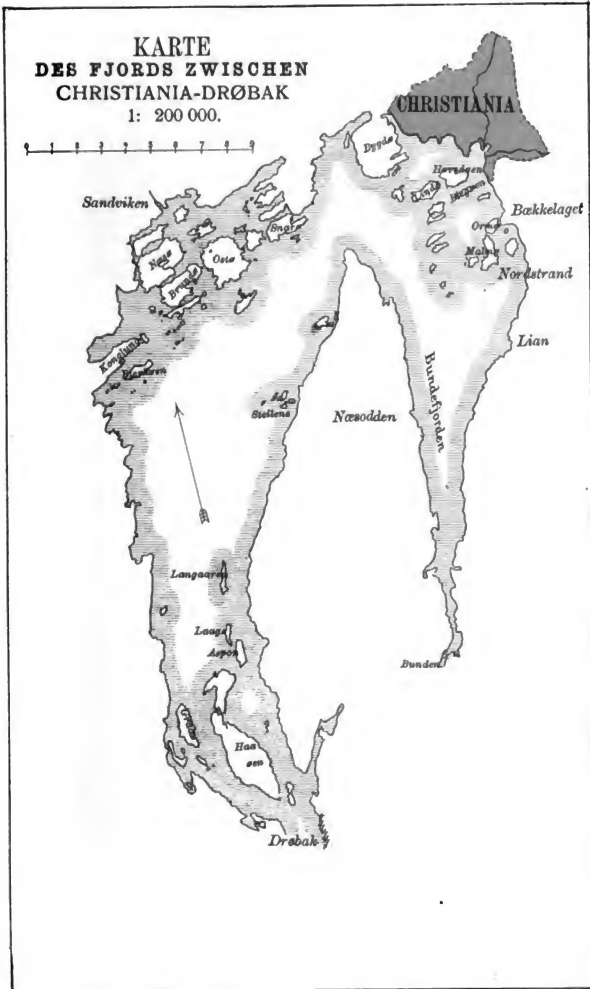
### Schluss.

Aus den voranstehenden Untersuchungen ziehen wir den Schluss, dass die Verunreinigung, die das Sielwasser Christianias dem Akerselv und Hafen zuführt, bedeutend ist, und dass die Bedingungen einer »Selbstreinigung« des Flufs- wie des Hafenwassers im ganzen sehr wenig günstig sind.

Insofern nämlich die Selbstreinigung in einer Sedimentierung der Schwebstoffe besteht, findet dieselbe im wesentlichen schon im Flusse oder im inneren Hafenabschnitte statt; hierdurch entstehen mitten in der Stadt und in den nächsten Umgebungen derselben ausgedehnte Fäulnisprozesse, die einen lästigen Gestank hervorrufen.

Insofern ferner die Selbstreinigung durch eine Verdünnung der gelösten Stoffe und Bakterien des Sielwassers geschieht, ist diese Verdünnung in Akerselven ganz ungenügend; und wenn man vom Frühling und Frühsommer absieht, findet dieselbe wegen der natürlichen hydrographischen Verhältnisse als Regel auch nicht im Hafenwasser in besonderer Ausdehnung statt.

KARTE I



==

5  
11



Tabelle  
 rfläche des

Tafel IV.

NO. S. S=O	S. S=V O.	S.	N.	N.	Stille	S.
22. VII. 1900	28. V. 1900	2. V. 1901	8. V. 1901	10. V. 1901	11. V. 1901	15. V. 1901
8 300 000	6 600 000	3 000 000	1 383 000	1 000 000	1 125 000	1 550 000
—	—	—	—	—	—	—
12 500	3 000	12 750	8 450	6 750	2 500	1 450
3 300	38 500	5 100	5 700	6 000	1 500	4 350
2 590	5 500	2 350	930	300	3 000	700
1 183	25	115	370	385	50	35
1 000	05	200	42	145	75	105
—	4 50	1 750	1 100	400	3 000	2 950
76 150	6 50	3 750	3 800	330	3 500	8 300
63 450	14 30	11 000	3 200	4 250	4 500	2 650
76 000	17 50	40 000	6 000	9 350	5 250	4 500
44 500	5 50	2 250	3 000	—	250	3 850
55 000	51 00	29 000	16 500	43 000	18 000	44 000
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
26 750	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	41	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
441	—	—	—	—	—	—
110	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
869	—	—	—	—	—	—
1 930	—	—	—	—	—	—
235	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—
1 760	—	—	—	—	—	—
25 000	50	2 000	—	1 250	—	2 500
68 309	00	750	4 000	500	—	550
—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—

# Über Buttersäuregärung.

(II. Abhandlung.)

Von

Dr. R. Grafsberger und Dr. A. Schattenfroh.

## A. Zur Morphologie des beweglichen Buttersäurebacillus.

Von Dr. R. Grafsberger,  
Assistent am Institute.

(Mit Tafel V—VIII.)

Die große Verbreitung der zuckervergärenden anaëroben Buttersäurebacillen in der Natur, die umfangreichen Zersetzungen und deren charakteristische Produkte, sowie gewisse höchst auffällige Veränderungen der Bakterienzellen während des Ablaufes der Versporung ließen von vornherein das Auffinden und Bestimmen von anaëroben Buttersäurebacillen nicht allzuschwierig erscheinen. Doch hat sich im Laufe der letzten Jahre herausgestellt, daß einmal die Zersetzungen der zuckerhaltigen Nährmedien durch Buttersäurebacillen auch bei Vorhandensein der gleichen Art durchaus nicht immer gleichartig, und keineswegs im Sinne einer im voraus bestimmten Gleichung ablaufen, — daß ferner die an der Buttersäuregärung der Kohlehydrate beteiligte Bakterienflora anscheinend aus einer, wenn auch kleinen, Zahl von verschiedenen, wohlcharakterisierten Arten besteht. Die Schwierigkeiten der Sichtung dieser Bakterienflora werden aber nicht unbeträchtlich durch den Umstand vermehrt, daß infolge weitgehender Vielgestaltigkeit der Formen und der kulturellen Erscheinungen einer und derselben Art, — wie sie gerade bei den Buttersäurebacillen angetroffen wird, — die Gefahr sehr nahe

liegt, natürlich Verwandtes zu trennen und dort mehrere Arten aufzustellen, wo es sich in der That nur um verschiedene Erscheinungsformen handelt.

Daraus erhellt bereits, daß nur auf Grund eines reichhaltigen Materials von Untersuchungen, welche sich sowohl auf die kulturell morphologischen als auch auf die chemisch-biologischen Eigenschaften der Buttersäurebacillen beziehen, eine erfolgreiche Sichtung dieser Bakterienarten angebahnt werden kann.

Schattenfroh und ich haben in unserer ersten ausführlichen Abhandlung (s. d. Archiv Bd. 37) unter dem Namen *granulobacillus saccharob. immob. liquefaciens* (unbeweglicher Buttersäurebacillus) eine sehr weitverbreitete anaerobe Bakterienart beschrieben, deren Stellung im System der Bakterien erst durch eingehende Studien erschlossen werden konnte.

An diese Bakterienart reiht sich ein anderes, lange bekanntes Stäbchen an, das von Gruber im Jahre 1887 zuerst in Reinkultur gezüchtet und beschrieben und später insbesondere von Beijerinck, dann von v. Klecki u. A. studiert wurde. Gruber hat diese Art »Amylobakter«, Beijerinck »Granulobakter saccharobutyricum«, v. Klecki »Bacillus saccharobutyricus« genannt.

Die vorliegende Arbeit soll nun die Resultate einer vergleichenden Untersuchung wiedergeben, welche mit den Stämmen dieser Autoren, sowie mit einer größeren Anzahl von Buttersäurebacillen angestellt wurden, die von Schattenfroh und mir aus verschiedenen Materialien gezüchtet und im Verlaufe der Prüfung als einer Art angehörig erkannt wurden. Und zwar soll es speciell meine Aufgabe sein, die kulturellen Erscheinungen zu schildern, welche dieser Bakterienart zukommen, sowie die morphologischen Bilder genauer zu beschreiben, welche bei dem Studium dieser ungemein pleomorphen Bakterienart zur Beobachtung kommen. Ich will zu diesem Zwecke mit der Schilderung der Kulturen auf den üblichen zuckerhaltigen Nährböden beginnen und erst an diese die mikroskopischen Befunde anschließen, unter welchen der Darstellung des Versporungsvorganges ein breiterer Raum gewidmet werden soll.

### Verhalten auf Gelatine.

Auf gewöhnlicher Nährgelatine ohne Zuckergehalt ist der bewegliche Buttersäurebacillus des Typus »Amylobakter« nicht zum Wachstum zu bringen. Gelatine mit Trauben- oder Rohrzucker bildet hingegen für denselben einen ausgezeichneten Nährboden, der insbesondere mit Vorteil zur sicheren Erzeugung von Sporen (s. w. u.) verwendet werden kann, wie dies bereits von Gruber hervorgehoben worden ist. Das Verhalten des beweglichen Buttersäurebacillus in Zuckergelatine ist insofern ein bemerkenswertes, als auf diesem Nährboden je nach besonderen Umständen ein sehr verschiedenes Aussehen der Vegetation zu beobachten ist.

Dieselbe kommt sowohl im Zuckergelatinestich als auch in Zuckergelatineplatten in dreierlei Typen zur Entwicklung. Bei einer Temperatur von 18—23° C. beobachtet man in hochgeschichteter Zuckergelatine oder in der im Buchnerrohr gehaltenen Epronvetté (sorgfältiges Auskochen bezw. Evacuieren der Gelatine hat stets unmittelbar vor der Impfung zu geschehen) nach 24 bis 48 Stunden das Auftreten von kugeligen oder knopfförmigen, längs des Stichkanals aneinandergereihten kompakten Vegetationen, die im weiteren Verlaufe etwas an Größe zunehmen; bald aber sistiert das Wachstum, die Vegetation kommt zum Abschluss, und es zeigt dann eine solche Kultur den Anblick eines aus knolligen oder scheibenförmigen Massen zusammengesetzten Stichfadens.

In manchen Fällen bilden sich nun als Übergang zum Typus 2, von dieser centralen Vegetation aus vereinzelt stachelige oder fadenförmige Ausstrahlungen. Kommt es im Verlaufe des Wachstums oder von vornherein sehr reichlich zur Entwicklung von solchen Ausläufern, so bieten die Gelatinekulturen ein sehr zierliches Bild. Der Nährboden zeigt sich dann durchsetzt von überaus zierlichen, langen, geschlungenen, mannigfach gedrehten, dickeren bis haarfeinen Gebilden, die oft in weitem Abstand vom centralen Stichfaden, von dem sie ausgehen, in bogenförmigen Windungen die Gelatine, welche keine Spur von Verflüssigung oder Erweichung zeigt, durchsetzen. Diese Vegetationen, ebenso wie der übrige Nährboden sind dann in wechselndem



Grade von Gasblasen durchsetzt. Diese Form der Gelatinevegetationen stellt den zweiten Typus vor. In wieder anderen Fällen kommt es schon in 48 Stunden nach der Aussaat zu einer ganz eigentümlichen Veränderung der Gelatine. Diese erscheint reichlich von Gasblasen durchsetzt, diffus getrübt, das Gesamtvolumen der Vegetation dadurch oft aufs Doppelte vergrößert, dabei aber tritt keine Spur von Verflüssigung auf. Man kann die Eprouvette umkehren, schütteln, es zeigt sich weder in den Gasblasen eine Bewegung noch sonst eine Veränderung, die auf Verflüssigung hinweisen würde.

Stellt man nun eine so veränderte Eprouvette, im Buchnerrohr verwahrt, auf 24 Stunden in den Brutschrank, so steigen naturgemäß nach der Verflüssigung der Gelatine die Gasblasen an die Oberfläche. Die Gelatine erstarrt aber in kürzester Zeit wieder in ihrer Gesamtheit, wenn die Eprouvette in kaltes Wasser gegeben wird und bleibt, bei Zimmertemperatur aufbewahrt, dauernd unverändert.

Hält man die Eprouvette durch viele Tage im Brutschrank, so beobachtet man allerdings eine herabgesetzte Erstarrungsfähigkeit der Gelatine, ein Umstand, der gewifs nicht in Erstaunen setzen kann, wenn man bedenkt, dafs es sich um langdauernde Einwirkung von Brutwärme auf eine durch die gebildete Buttersäure und Milchsäure stark sauer gemachte Leimlösung handelt. Jedenfalls darf man bei dieser Versuchsanordnung nicht ohne weiteres an die Einwirkung eines peptonisierenden Enzyms denken.

Von welchen Umständen hängt nun das jeweilige Auftreten einer der drei Typen des Wachstums auf Gelatine ab? Da wirft sich zunächst die Frage auf, ob sich zwischen den einzelnen Arten der untersuchten Stämme des beweglichen Buttersäurebacillus Unterschiede ergeben. Der Hinweis darauf, dafs jeder der untersuchten Stämme in allen drei Typen auf Zuckergelatine zur Beobachtung kommt, zerstört bereits alle Illusionen, welche darauf hinzielen, etwa mit Hilfe der Zuckergelatinekultur einzelne Stämme voneinander zu unterscheiden. Davon kann bei dem auferordentlich wechselnden Verhalten der Reinkultur jedes

einzelnen Stammes nicht die Rede sein. Es gelingt zwar durch Züchtung bei einer Temperatur, welche der Verflüssigungstemperatur der Gelatine sehr nahe kommt, häufiger die Form diffusen Wachstums zu erhalten, doch tritt diese andererseits auch bei sehr niedriger Temperatur (12—14°) gelegentlich auf. Die Konzentration des zugesetzten Zuckers ist belanglos; bei starker Herabsetzung des Zuckergehaltes werden die Bedingungen zum Anwachsen sehr ungünstige, die geimpften Eprouvetten bleiben oft steril, bei höherer als 2proz. Zuckerkonzentration bleiben die Resultate ebenso wechselnd wie bei Gelatine mit 2% Zucker. Ja man kann nicht selten bei Abimpfung von einer Reinkultur in eine Anzahl von Eprouvetten, die mit Nährboden derselben Bereitung gefüllt sind, das Auftreten von verschiedenen Wachstumstypen beobachten. Die Bedingungen für das wechselnde Verhalten der beweglichen Buttersäurebacillen in Zuckergelatine sind uns also im einzelnen Falle nicht bekannt. Auch durch Wasserzusatz, bezw. Gelatinegehalttherabsetzung kann keine sichere Beeinflussung erzielt werden, ebensowenig liefs sich ein Einflufs von seiten der ursprünglichen Nährbodenreaktion feststellen. Zweifellos ist der augenblickliche Charakter des überimpften Stammes, der wieder von den Wachstumsbedingungen der vorausgegangenen Generationen abhängt, von grofser Bedeutung, wie dies später noch auseinandergesetzt werden soll.

Im übrigen können wir nur vermuten, dafs es auferordentlich feine Differenzen in der Beschaffenheit des Nährbodens einerseits, in der augenblicklichen Wachstumsenergie der Keime andererseits sind, die in verschiedenen Impfungen, ja in einer und derselben Kultur zeitweise langsames, geschlossenes Wachstum, dann rasches, diffuses Durchwachsen des Nährbodens herbeiführen. Jedenfalls läfst sich kein Zusammenhang mit den Verhältnissen der Anaërobie feststellen.

Ganz analog wie das Verhalten des beweglichen Buttersäurebacillus in Gelatinestich ist dessen Wachstum auf Gelatineplatten. Auch hier kommt es gelegentlich, wenn auch seltener, zu einer diffusen, mit reichlicher Gasbildung verbundenen Vegetation, die sich mikroskopisch (50fach) als eine sehr feinkörnige

Trübung darstellt, meistens aber zeigen sich kompakte Kolonien, auch bei dichter Aussaat. Diese sind nun wieder entweder knollig, und die einzelnen Knollen oder deren Aggregate erreichen dann oft in sechs Tagen eine Größe von mehr als 2 mm Durchmesser, oder es treten bereits frühzeitig zahlreiche, zierliche Ausläufer auf, die sich bei schwacher Vergrößerung als korkzieherförmig gewundene, zopfartige oder strahlige, manchmal auch geldrollenförmig gestaltete Gebilde darstellen, welche die Gelatine nach allen Richtungen durchziehen.

Auch hier kommt es stellenweise zu diffuser, feinkörniger Infiltration; manchmal erscheint eine solche Ausbreitung, insbesondere in der Umgebung von Gasblasen unter dem Mikroskop als Geflecht von binsenförmig verzigten Fäden. So bieten diese verschiedenen Typen, welche in einer und derselben Platte in verschiedener Form zur Ansicht kommen, einen Anblick, der an die Vegetationen des *Proteus vulgaris* auf Gelatine täuschend erinnert.

Am ehesten bekommt man hier noch mit einiger Regelmäßigkeit knollige Kolonien ohne Ausläufer zu Gesicht, wenn man Oberflächenkulturen anlegt, indem man eine mit der Reinkultur beschickte Platinnadel auf der Oberfläche der Platte verstreicht, ein Verfahren, das unter den absolut anaeroben Verhältnissen unseres Kulturverfahrens auch bei Verwendung von sporenfreiem Ausgangsmaterial, einige Schnelligkeit beim Anfertigen und Verarbeiten der Kulturen vorausgesetzt, mühelos zum Ziele führt. Es hat dies insofern eine gewisse Bedeutung, als man derart besonders schöne, reichliche Clostridien in Reinkultur erzielen kann (s. u.).

Es läßt sich nämlich feststellen, daß in Kolonien, welche dem knolligen Typus entsprechen, die Menge der granuloseführenden und insbesondere der sporentragenden Stäbchen häufig eine auffallend große ist, während bei Vegetationen mit diffuser Infiltration fast regelmäßig Clostridien und Sporen in den Hintergrund treten. Dieses Verhalten steht in gutem Einklang mit der Beobachtung, daß auch unter anderen Umständen langsames Anwachsen und Sporenbildung einander nicht selten parallel gehen.

Auch hier hat man wieder den Eindruck, daß die günstigsten Bedingungen zur Sporenbildung regelmäÙig in den allerersten Zeiten des Anwachsens bereits vorhanden sein müssen, bezw. daß in Kulturen, die von vornherein sporenfrei vegetieren, in der späteren Zeit der Vegetation die Bedingungen zur Versporung keineswegs günstiger werden.

#### Verhalten auf Zuckeragar.

Im Zuckeragarstich ( $38^{\circ}$  C.) entwickelt sich mit ganz wechselnder Geschwindigkeit, je nach Nährbodenverhältnissen, nach Lebensfähigkeit und Menge der übertragenen Keime in wenigen Stunden bis zu einem Tage, eine Vegetation, die, dem Stichkanal folgend, keinerlei charakteristische Eigenschaften aufweist; es braucht wohl nicht erwähnt zu werden, dass es von der Agarkonsistenz, von der Entwicklungsenergie der übertragenen Kultur und von dem Grade der vorhergegangenen oder fortwirkenden (Buchner) Sauerstoffbefreiung des Nährbodens abhängt, ob in diesem Stadium der Stichfaden mit seiner oberen Grenze mehr oder weniger weit von der Oberfläche entfernt ist. Ebenso kommt die gewöhnlich bald auftretende Gasbildung unter den verschiedensten Intensitätsgraden zur Erscheinung. Hat man günstige Bedingungen getroffen, so zeigt sich bereits 10 Stunden nach der Impfung der Zuckeragar von Gasblasen ganz durchsetzt, dabei diffus getrübt, an der Oberfläche sammelt sich eine Flüssigkeit, die durch Bakterien reichlich getrübt, längs des Stichkanals und mit den Gasblasen nach oben geprefst wurde. Im ungünstigsten Falle erscheint die Vegetation noch nach 24 Stunden unter dem Bilde eines die Oberfläche nicht erreichenden, gleichmäÙig dicken oder unregelmäÙigen Fadens. Beim Öffnen der gut gewachsenen Zuckeragarkulturen macht sich ein mehr oder minder intensiver Geruch nach Buttersäure bemerkbar, Fäulnisgeruch wird stets vermifst. In gewöhnlichem Agar erfolgt ebenfalls ziemlich reichliches Wachstum, die Gasbildung ist *ceteris paribus* geringer. Das beim Wachstum in Zuckeragar und Agar zur Beobachtung kommende Verhalten hinsichtlich Granulose- und Sporenbildung wird später auseinandergesetzt werden. Die

anaeroben Zuckeragarplatten zeigen gewöhnlich bereits nach 12 Stunden in den ersten Verdünnungen reichlich Gasblasen. 24 Stunden nach der Aussaat zeigen sich tiefe Kolonien, wetzsteinförmig oder mit stacheligen Ausläufern, letztere besonders in den dichtbesäten Platten. Sehr selten, nur bei Aussaat von Rassen mit ganz ausgesprochener Neigung zur Versporung, beobachtet man Kolonien mit haarigen Ausläufern. Außerdem sieht man oft sehr zahlreich große Gasblasen, welche den Nährboden vom Glase abheben und in ihrer Randbucht mit trüber Flüssigkeit gefüllt sind. Diese Gasblasen mit Randinfiltration bieten die beste Gelegenheit, die rasche Beweglichkeit der hier unter anaëroben Verschlufs (durch die darüber liegende Agardecke) befindlichen Bakterien zu konstatieren, indem eine Beobachtung des Gasblasenrandes bei etwas stärkerer Vergrößerung über dieses charakteristische Verhalten sofort Aufschluß gibt (s. auch unsere erste Mitteilung). Voraussetzung ist, daß die Platten nicht älter als 24 Stunden sind. Denn in solchen älteren Kulturen ist sehr häufig die Beweglichkeit dieser Stäbchen, welchen eine sehr kurze Lebensdauer zukommt, vollständig erloschen, ein Umstand, der seine Analogie darin findet, daß auch Abimpfungen von älteren Kolonien häufig erfolglos bleiben. Dasselbe gilt von Kulturen, in denen überreichliche Granulosebildung von vorneherein einsetzt. Auch in solchen zeigen sich gelegentlich die meisten Stäbchen bereits nach 24 Stunden unbeweglich.

Es mag hier nebenbei erwähnt werden, daß anaëroben Zuckeragarplatten des beweglichen Buttersäurebacillus ebenso wie die des unbeweglichen, welche nach 24 Stunden noch keine Kolonien oder Gasblasen erkennen lassen, gewöhnlich auch dauernd steril bleiben; es handelt sich dann entweder um mangelhafte Anaërobiose oder um Verwendung von abgestorbenen Stäbchenvegetationen zur Aussaat.

Der schädliche Einfluß der Gegenwart von rasch wachsenden, fakultativ anaëroben Bakterien in Mischkulturen, welcher auch bei Verwendung von Ausgangsmaterial (flüssige Nährböden), das scheinbar überwiegend die Stäbchen des beweglichen Buttersäurebacillus enthält, zur Geltung kommt, macht

sich auch hier (Zuckeragar) in hohem Grade bemerkbar, eine Erfahrung, die von Wichtigkeit für die Beurteilung des Mengenverhältnisses verschiedener Arten von Gärungserregern in flüssigen Medien ist. Es mag hier hervorgehoben werden, dafs in vielen Fällen eine Isolierung des beweglichen Buttersäurebacillus aus flüssigem Material, das er in dem betreffenden Falle gärend beherrscht, durch das einfache Plattenverfahren ausgeschlossen ist. Damit soll ein Punkt von wesentlicher Bedeutung berührt werden: strengste Anaërobie, Wahl eines sonst günstigen Substrates (Zuckeragar), vermögen nicht die Nachteile aufzuwiegen, welche der feste Nährboden dem Anwachsen mancher Rassen der Buttersäurebacillen in Mischkultur entgegengesetzt, ja, man glaube nicht, im festen Nährboden durch Beimischung aërober Bakterien etwa ähnliche Wachstumsbegünstigungen herbeizuführen, wie dies in flüssigen Medien der Fall ist.

Es scheint uns, dafs dies trotz aller Erfahrungen der älteren bakteriologischen Zeit gerade in den letzten Jahren zu wenig berücksichtigt worden ist. Das angeführte Verhalten kann nun aber auch in umgekehrter Richtung zu folgensweren Irrtümern führen. Es kann nämlich der Fall eintreten, dafs bei Abimpfung von solchen fakultativ anaëroben Kolonien, Sporen des spezifischen Gärungserregers, welche im Nährboden zerstreut gelagert sind, nun neuerlich, wenn die Übertragung in flüssiges Material stattfindet, auskeimen, neuerlich Gärung verursachen und das Feld beherrschen, während die fakultativ anaëroben Bakterien zurücktreten. Damit liegt die Vermutung nahe, dafs ein Teil der rätselhaften Befunde, welche von Autoren angegeben werden, z. B. die Existenz von Organismen, die nur einmal oder einigemale spezifische Gärung verursachen, die sich dabei aus streng anaëroben Bakterien in morphologisch und biologisch ganz anders geartete Keime umwandeln, auf solche Fehlerquellen zurückzuführen ist. Eine Methode, die zum Teil die Nachteile des festen Nährbodens paralyisiert und damit auch unter sonst ungünstigen Bedingungen Rassen von Gärungserregern (welche unter gewöhnlichen Verhältnissen trotz strengster Anaërobie, trotz verhältnismäfsig reichlicher Gegenwart im flüssigen Ausgangs-

material etc. nicht züchtbar sind), über die Schwelle der Züchtbarkeit in festen Nährmedien hebt, soll von uns später mitgeteilt werden.

Ein sehr auffallender Unterschied zwischen den Kolonien des beweglichen und jenen des unbeweglichen Buttersäurebacillus ergibt sich in dem Aussehen der Oberflächenkolonien auf Zuckeragar.

Während sich in Reinkulturen des unbeweglichen Buttersäurebacillus auf Zuckeragarplatten fast regelmässig saftige, gut abgegrenzte, im gewissen Grade charakteristische Oberflächenkolonien entwickeln (s. unsere erste Abhandlung im Archiv für Hygiene), zeigen sich beim beweglichen Buttersäurebacillus die an die Oberfläche durchbrechenden tiefen Kolonien an der Durchbruchsstelle von einer schleierartigen, oder etwas dichteren Vegetation umgeben, die sich allmählich nach außen verliert. Unter dem Mikroskop läßt sich die mehr diffuse Ausbreitung dieser Vegetationen über die Oberfläche in weitem Abstand von dem Zentrum der Kolonien deutlich verfolgen, offenbar sind eben die Bedingungen für das Ausschwärmen der beweglichen Buttersäurebacillen in dem Kondenswasser, das sich unter den besonderen Bedingungen der Anaeröbiose leichter erhält, sehr günstige.

Dafür spricht auch der Umstand, daß man nicht selten an Kolonien, die auf der Höhe der Kuppe von Gasblasen durchbrechen, schärfer abgegrenzte, rundliche, etwas dichtere Oberflächenvegetationen bemerkt, die einigermaßen schlecht entwickelten Oberflächenkolonien des unbeweglichen Buttersäurebacillus gleichen.

Das Abfließen des Kondenswassers von der kuppenförmigen Wölbung der Oberfläche dürfte hier günstige Verhältnisse für ein mehr begrenzt bleibendes Wachstum herbeiführen.

Die mitgeteilten Befunde sollen durch die Angabe ergänzt werden, daß sich aus dem Studium der Zuckeragarkolonien keinerlei Unterschiede zwischen den einzelnen untersuchten Stämmen des beweglichen Buttersäurebacillus feststellen ließen.

Was die Gasbildung in Zuckeragarplatten betrifft, so zeigen sich dieselben meist reichlich von Gasblasen durchsetzt, welche teils von Kolonien ausgehen, teils sich im kolonienfreien Teil

des Nährsubstrats ansammeln, aber auch dann häufig vegetationsreiches Kondenswasser enthalten. Die Gasbildung ist im Zuckeragar überhaupt *ceteris paribus* gewöhnlich reichlicher, als dies beim unbeweglichen Buttersäurebacillus zur Beobachtung kommt.

Das Wachstum der Reinkulturen auf Kartoffeln, welche im Buchnerrohr oder in Scheiben zerschnitten in Petrischen Schalen verwahrt und unter strenger Anaerobiose bebrütet wurden, ist bei allen untersuchten Stämmen ein gleichartiges. Es bildet sich innerhalb 48 Stunden ein üppiger, schaumiger weißer Rasen aus, welcher die Oberfläche bedeckt, wobei die Kulturen stark nach Buttersäure riechen.

Das Wachstum auf Bouillon mit Zuckerzusatz tritt rasch ein, die Gärung verläuft hier unter den an anderer Stelle angegebenen Erscheinungen.

#### Morphologie der Individuen.

Eine einheitliche morphologische Beschreibung des beweglichen Buttersäurebacillus stößt auf große Schwierigkeiten. Denn der Umstand, daß bei diesem Bakterium der die Vielgestaltigkeit der Formen beherrschende Versporungsprozeß so überaus häufig zur Entwicklung kommt, macht die Bilder so außerordentlich wechselnd, daß es schwierig ist, das Gemeinsame hervorzusuchen und das Typische zu gruppieren. Diese große Neigung zur Versporung, bzw. zu den die Versporung auf unseren gebräuchlichen bakteriologischen Nährböden einleitenden Prozessen schafft eine wesentliche Differenz zwischen dem beweglichen Buttersäurebacillus und der unbeweglichen Art, die uns unter den üblichen Bedingungen fast stets unter dem Bilde der sporenfreien Stäbchenvegetation zu Gesichte kommt.

Andererseits wäre es falsch, dieser Differenz ein zu großes Gewicht beizumessen und sie etwa im Sinne einer sehr getrennten Gruppierung der beiden Arten im Rahmen des natürlichen Systems zu verwerten. Denn alle Erfahrungen zeigen, daß unter anderen Verhältnissen in den von der Natur gebotenen Substraten mit allen ihren besonderen Eigenschaften (Symbiose etc.) auch der unbewegliche Buttersäurebacillus regelmäßig, ja reichlich



versport (beständige Anwesenheit von Sporen im Darminhalt!). Es ist also eine Differenz, welche vor allem auf eine für den unbeweglichen Buttersäurebacillus durchaus nicht gleichgültige Änderung der natürlichen Bedingungen zurückzuführen ist, die wir hervorrufen, wenn wir ihn zwingen, in Reinkultur auf unseren Nährböden Besitz zu ergreifen. Andererseits aber kennen wir doch eine Reihe von Einflüssen, die bei beiden Arten parallel die Versporung im günstigen oder ungünstigen Sinne beeinflussen.

Was nun die Formen betrifft, unter welchen die Individuen des beweglichen Buttersäurebacillus erscheinen, so sind die Differenzen zwischen denselben insbesondere, soweit es sich nicht um eigentliche reine Degenerationserscheinungen handelt, durch die im wechselnden Grade erfolgende Ablagerung der stärkeartigen Substanz im Innern der Bakterienzellen, der sogenannten »Granulose« bedingt, viel mehr als durch die räumliche Veränderung, welche durch die Einlagerung der Spore selbst geschaffen wird.

Die quantitativ verschiedene Ablagerung der Granulose im Innern der Zelle — quantitativ im Sinne einer ganz bedeutenden Spielweite — veranlaßt, daß die beweglichen Buttersäurebacillen einmal als schlanke Stäbchen, ein anderes Mal als Clostridien auftreten, und alle Übergänge zwischen beiden, die sich so überaus häufig in einer und derselben Vegetation vereinigt vorfinden, lassen sich auf dieselbe Ursache zurückführen. Es soll gleich hier erwähnt werden, daß außer dieser spezifischen, auf wechselnder Granuloseablagerung basierenden Vielgestaltigkeit der Formen, auch der sonst bei allen Bakterien zur Beobachtung kommende Formenwechsel, teilweise unter uns bekannten Umständen erfolgend (Kapsel-, Scheinfädenbildung etc.), auftritt. Die große, ins Auge springende Differenz zwischen den Extremen »Stäbchen« und »Clostridium« hat einen Forscher, Beijerinck, veranlaßt, offenbar unter dem Eindrücke einer Reihe schwer zu erklärender Erscheinungen bei der Buttersäuregärung, die Theorie aufzustellen, daß es sich bei dieser Bakterienart (es handelt sich um das *gr. saccharobut.*) um zwei Formen, eine Sauerstoffform und eine anaerobe Form handle.

Bejerinck unterscheidet diese beiden Formen, indem er ihnen nicht nur morphologische Unterschiede zuschreibt, Sauerstoffform = schnell bewegliche Stäbchen, Körner enthaltend und zu Ketten verbunden, Clostridienform = die bekannten langsamer beweglichen, plumpen, granulosereichen Gebilde, sondern er vindicirt ihnen auch verschiedene biologisch-chemische Charaktere, indem er die schlanken, lebhaft beweglichen Stäbchen als Formen auffasst, die bei Gegenwart geringer Mengen von Sauerstoff auftreten, die überdies ihre Beweglichkeit in strenger Anaërobie einstellen, während die Clostridien sich im Gegensatze hierzu bei strenger Anaërobie entwickeln, und sich sowohl bei Gegenwart als bei Abwesenheit von Sauerstoff bewegen sollen: Ja, auch die quantitativen Verhältnisse der gebildeten Produkte sollen nicht unwesentlich voneinander abweichen, je nachdem es sich um die eine oder die andere Form handle. Es ist hier nicht der Platz, auf eine erschöpfende Kritik der Bejerinckschen Behauptungen einzugehen, da diese der Schlufsbesprechung am Anhang unserer fortlaufenden Untersuchungen vorbehalten bleibt. Wir wollen hier nur unserer Ansicht Raum geben, dafs wir einer derartigen Zweiteilung in anaërobie und aërobie Form dieser Bakterienart unter keinen Umständen beipflichten können. Wir haben uns stets überzeugen können, dafs auch die schlanken Stäbchen gegenüber dem Sauerstoff empfindlich sind, dafs Anaërobie und Auftreten der einen oder andern Form in gar keinem direkten Zusammenhang stehen. Unserer Ansicht nach sind die beweglichen Buttersäurebacillen Organismen, die zum Anwachsen stets der Abwesenheit des freien O bedürfen, gleichgültig ob diese durch unsere Manipulationen oder durch vorhergehende Sauerstoffbefreiung des Nährbodens unter dem Einflusse der Symbiose hergestellt wird.

Das häufige Auftreten von Clostridien in Mischkulturen, das häufige Fehlen von Clostridien in Reinkulturen, flüssige Nährböden gleicher Zusammensetzung vorausgesetzt, beziehen wir nicht auf die in Mischkulturen leichter erfolgende Sauerstoffbefreiung, sondern auf eine Alteration des Bakterienstoffwechsels durch die gleichzeitige Anwesenheit anderer Bakterien, sei es

dafs es sich um Einwirkung der von diesen gelieferten Stoffwechselprodukte oder um eine andere Art der Beeinflussung handelt, zum Teil auch auf den Umstand, dafs bei der Reinisolierung aus Mischkulturen in festen Nährböden häufig zunächst Abnahme der Neigung zur Versporung festzustellen ist. Wir wissen heute mit Bestimmtheit, dafs sowohl bei dem unbeweglichen als bei dem beweglichen Buttersäurebacillus die Sporenbildung auch durch die Gegenwart anderer streng anaerober Bakterien begünstigt wird.

Zum Studium der Stäbchen- und der Übergangsformen empfiehlt sich vor allem die Kultur in Zuckeragar.

Wegen der grossen Empfindlichkeit des beweglichen Buttersäurebacillus gegen freien Sauerstoff stellt man die ausgekochten, rasch erstarrten und mit einer Reinkultur geimpften Eprovetten, im Buchnerrohr verwahrt, in den Brutschrank.

Ist nach 16—20 Stunden üppiges Wachstum eingetreten, mit reichlicher Gasbildung etc., so öffnet man das Buchnerrohr und fertigt sofort einen hängenden Tropfen an, indem man mit der Platinöse eingeht und etwas Kondenswasser entnimmt. Es empfiehlt sich dies mehr, als das Vermischen von Vegetation mit einem Tropfen ausgekochter Bouillon, weil bei dieser Manipulation leicht reichlich Luft von der Flüssigkeit, in welcher die Aufschwemmung stattfindet, absorbiert wird, so dafs die Eigenbewegung der Bakterien erlischt, bevor man die Beobachtung im Mikroskop beginnt. In vielen Fällen kommen bei dieser Kulturmethode (Zuckeragar) die Buttersäurebacillen als schlanke, ziemlich lange Stäbchen zu Gesicht, die sich mit grosser Geschwindigkeit, lebhaft schlängelnd oder schiefsend durch das Gesichtsfeld bewegen. Dabei zeigt sich, dafs auch solche Individuen, welche bereits die Sporenanlage — gewöhnlich dem einen Ende nahe gerückt — aufweisen, gut beweglich sind.

Bald macht sich nun eine auffällige Erscheinung bemerkbar, indem die Stäbchen sich immer zahlreicher in Häufchen gruppieren, die Haufen immer dichter werden, immer weniger Bakterien sich beweglich zeigen, bis endlich, gewöhnlich im Verlaufe einer viertel bis halben Stunde nahezu sämtliche Stäbchen, in

Haufen gruppiert, regungslos verharren. Diese, unter der zunehmenden Sauerstoffabsorption der Flüssigkeit erfolgende Haufenbildung hat äußerlich große Ähnlichkeit mit den bekannten Agglutinationserscheinungen, welche bei Einwirkung von normalem, bezw. spezifischem Serum auf Bakterien gesehen werden. Auch makroskopisch beobachtet man leicht, daß der ursprünglich gleichmäßig trübe Tropfen seine diffuse Trübung verliert, bis endlich in der klaren Flüssigkeit feinste Flöckchen suspendiert sind.

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß die beschriebene Erscheinung, die sich in ähnlicher Weise auch bei einigen anderen anaeroben Bakterien zeigt, auf einer unter dem Sauerstoffeinfluß erfolgenden Veränderung der Leibessubstanz beruht, welche diese klebrig macht. Jedenfalls muß diesem Verhalten beweglicher anaerober Bakterien besondere Aufmerksamkeit zugewendet werden, wenn es sich um das Studium spezifischer Agglutination handelt. Die außerordentliche Empfindlichkeit gegen Sauerstoffzufuhr macht sich nun auch in der Weise bemerkbar, daß es nicht leicht gelingt, in der Deckglastropfenkammer bei Durchleiten von reinem Wasserstoff die Beziehungen der Stäbchen zur Sauerstoffanwesenheit oder -abwesenheit festzustellen. Manipuliert man nämlich bei dieser Versuchsanordnung so, daß man auch nur durch einige Zeit mit Luft gemengten Wasserstoff vorbeileitet, so erlischt die Beweglichkeit der Stäbchen unter dem Einfluß des vorbeistreichenden Sauerstoffes so rasch, daß die Stäbchen für immer ihre Beweglichkeit verlieren, und dann auch der beliebig lang fortgesetzte Aufenthalt in reiner Wasserstoffatmosphäre keine Änderung herbeiführt.

Hat man aber zuerst den Zufuhrschlauch durch längeres Durchleiten von reinem H ganz luftfrei gemacht, so läßt sich im Gegenteil eine außerordentliche Zunahme der Beweglichkeit, die lange unverändert anhält, leicht feststellen. Damit ist der Beweis erbracht, daß dasjenige, was *Bejerinck* als Sauerstoffform bezeichnet, allerdings in der morphologischen Beschaffenheit ganz dem von diesem Autor gegebenen Bilde entspricht, keineswegs aber biologisch — hinsichtlich der Resistenz oder dem Bedürfnis gegenüber Sauerstoff — der von demselben gegebenen Beschreibung gleichkommt.

Die Größen- und Formverhältnisse der Individuen des beweglichen Buttersäurebacillus, welche man in solchen jungen Kulturen zu Gesicht bekommt, sind außerordentlich wechselnd. Sie sind bei Reinkulturen desselben Stammes unter scheinbar denselben äußeren Verhältnissen äußerst verschieden, indem das Aussehen des Gesamtbildes, welches man bei Betrachtung einer geringen Menge der Vegetation unter dem Mikroskop erhält, ganz von dem Umstande abhängt, ob die Ansammlung der Granulose im Innern der Stäbchen eine geringe oder hochgradige ist, ob viele oder nur wenige Stäbchen mit Granulose beladen sind. Man hat es nun durchaus nicht in der Hand, im Einzelfalle das Maß der Granuloseentwicklung gleichmäßig zu beeinflussen; daraus erhellt bereits die Unmöglichkeit, einzelne Stämme etwa nach feineren morphologischen Differenzen als verschiedene Varietäten zu trennen. Auch unter den granulosefreien Stäbchen in einer solchen jungen Reinkultur machen sich allerdings geringere Differenzen in dem Dickendurchmesser der Zellen bemerkbar.

Die meisten granulosefreien Individuen im hängenden Tropfen aus jungen Zuckeragarkulturen stellen ziemlich gleichmäßig dicke, gerade oder schwach gekrümmte Stäbchen dar mit abgerundeten Enden, die entweder einzeln oder in kurzen Verbänden, zu 2 oder 3 sich mit ziemlich großer Geschwindigkeit durch das Gesichtsfeld bewegen.

Das Plasma erscheint entweder gleichmäßig hell oder leicht fleckig, nicht selten trifft man insbesondere Doppelstäbchen an deren freie Enden eine bei hoher Einstellung helle, bei tiefer Einstellung dunklere Partie erkennen lassen.

Die Stäbchen sind etwa 3—5  $\mu$  lang, 0,6—1,0  $\mu$  breit. Sieht man scheinbar längere Exemplare, so handelt es sich wohl meist um Doppelstäbchen mit undeutlicher Trennung der Individuen.

In solchen Dimensionen bewegen sich die granulose- und sporenfreien Individuen. Hat man nun, was allerdings selten geschieht, eine Zuckeragarkultur vor sich, in welcher die Ablagerung von Granulose in Stäbchen, die Versporung ganz ausgeblieben ist, so zeigen sich die Formen nach dem Mitgeteilten

ziemlich regelmäfsig, insbesondere ist der Dickendurchmesser der Individuen ein ziemlich gleichartiger.

Diese sporenfreien Stäbchen sind offenbar insbesondere gegen die schädliche Einwirkung der sauren Produkte bei höherer Temperatur (37°) sehr widerstandslos. Solche Kulturen sind oft, selbst wenn sie im Buchnerrohr verschlossen, nur 48 Stunden im Brutschrank verweilten, bereits nicht mehr übertragbar. Mikroskopisch erkennt man aufer rasch abnehmbarer Färbbarkeit und Auftreten einer nicht spezifischen Plasmakörnung (degenerativ) keine auffallende Veränderung.<sup>1)</sup>

Wir haben bereits erwähnt, dafs uns die näheren Bedingungen für Auftreten oder Ausbleiben von Granulose in Zuckeragar-kulturen im Einzelfalle nicht bekannt sind. In sicheren Reinkulturen unter scheinbar sonst ganz gleichartigen Verhältnissen zeigen sich die wechselndsten Mengen von granulose tragenden Stäbchen, wie es auch für den unbeweglichen Buttersäurebacillus zutrifft.

Nach unseren Erfahrungen und Anschauungen hängen Granulosebildung und Versporung bei den Buttersäurebacillen in dem Sinne zusammen, dafs in der Regel die Granulosebildung als einleitender Prozeß im Stäbchen der Versporung vorangeht. (Siehe auch unsere Abhandlung über den unbeweglichen Buttersäurebacillus.) Der Umstand, dafs bei der Granulosebildung im Gegensatz zum gewöhnlichen Stoffwechsel der lebhaft gärenden Zellen die Kohlehydrate nicht zersetzt werden, sondern im Gegenteil, wenigstens Anteile derselben, polymerisiert und abgelagert werden, spricht für eine wesentliche Alteration des Lebensprozesses der Bakterien. Die Granulose wird nun in auferordentlich wechselndem Grade in der Zelle abgelagert. Gewisse Bilder, von denen später die Rede sein soll, beweisen, dafs Anteile dieser Granulose auch in die sich bildenden Sporen übertreten. Es könnte zunächst fraglich bleiben, ob dies — im Sinne einer Ablagerung von Reservesubstanz — nicht regelmäfsig stattfindet und ob nicht

---

1) Sehr häufig beobachtet man, dafs sich granulose- und sporenfreie Stäbchen mit Jod intensiv gelb färben. Dieser Zustand dürfte der Granuloseentwicklung vorausgehen.

etwa durch eine vorhergehende weitere Veränderung der Granulose der Nachweis dieser Substanz mit Jod in der Spore versagt, oder ob andererseits der Zusammenhang Granulose und Versporung in dem Sinne aufzufassen ist, daß die Granuloseablagerung in dem Stäbchen nur ein Ausdruck des geänderten Stoffwechsels ist, der zur Sporenbildung führt, ohne daß die Substanz »Granulose« selbst ein wesentlich wichtiges Baumaterial für die Spore darstellt.

Wie dem auch sei (siehe später), das Maß der Granulose-Entwicklung im Stäbchen selbst beherrscht das morphologische Verhalten der Individuen im hohen Grade. Selbstverständlich trifft man in einer und derselben Kultur meist alle Stadien der Entwicklung dieses merkwürdigen Prozesses. Noch bevor sich an den Stäbchen im ungefärbten Zustande schärfer abgegrenzte Sporenanlagen erkennen lassen, findet man reichlich solche, die bei erhaltener Stäbchenform gleichmäßig oder etwas ungleichmäßig verdickt erscheinen (0,9 bis 1,3  $\mu$  Durchm.); färbt man mit Jodlösung, so zeigen sich sehr häufig diese Stäbchen ausgedehnt intensiv braun oder blau gefärbt. Die Form, in welcher die Granulose abgelagert ist, ist wechselnd, doch scheint es am häufigsten in diesen jungen Stadien zu einer solchen Ablagerung in der Zelle zu kommen, daß diese in ihrem einen Ende vollständig von dieser Substanz erfüllt ist, während das andere freie Ende keine Granulose aufweist. Infolge des außerordentlich häufigen Auftretens von Doppelstäbchen in den Kulturen findet man dann fast regelmäßig längere Stäbchen, die scheinbar in der Mitte Granulose tragen, während die beiden Enden frei von dieser Substanz sind. (Auch das entgegengesetzte Verhalten findet sich nicht selten.)

Bei genauerem Zusehen erkennt man, daß es sich um Verbände von zwei Stäbchen handelt, die mit ihrem granulosetragenden Ende zusammenstoßen, während die freien Enden ungefärbt sind.

Der granuloseerfüllte Anteil des Stäbchens ist sehr verschieden groß, geradlinig, bogenförmig oder unregelmäßig gegen das Ende abgegrenzt; oft zeigen sich nur geringe Ansammlungen dieser Substanz in Form von körnigen oder fleckigen Gebilden,

oft ist nahezu die ganze Zelle gleichmäßig hiervon durchsetzt, wenn auch in der Regel stets ein Anteil an dem einen Ende ungefärbt erscheint.

In manchen Fällen, insbesondere dann, wenn die Granulose nur spärlich zur Entwicklung gekommen ist, färbt sich diese Substanz mit Jod nicht blau oder schwarz, sondern bräunlich oder rötlich.<sup>1)</sup>

In den weitaus meisten Fällen ist die Färbung so intensiv, daß es nicht möglich ist, in den blaugefärbten Partien nähere Struktureigentümlichkeiten festzustellen.

Tritt in Verbänden von drei oder mehr Individuen Granulose auf, dann erscheinen diese nicht selten blau gebändert oder gefleckt.

Kommt es nun zu einer noch reichlicheren Ansammlung der Granulose im Zelleib, dann geht eine auffällige Formveränderung mit demselben vor sich, indem die Wandung der Zelle offenbar unter dem Drucke der sich ansammelnden Massen ausgedehnt wird, wobei die ganze Zelle Eiform annimmt. So entsteht jenes Gebilde, das sich auf den ersten Anblick so auffällig von den typischen Stäbchen unterscheidet.

Auch diese granulose-reichen Eiformen lassen in der Regel, selbst dann, wenn noch keinerlei differenzierte Spore mit Hof zu erkennen ist, an einem Ende einen granulosefreien Abschnitt erkennen. Über die Gestalt dieses granulosefreien Abschnittes soll später berichtet werden.

Die eiförmigen Formen kommen auch in Verbänden zu drei und mehreren zu Gesicht. Länge und Dicke sind sehr verschieden.

Im hängenden Tropfen zeigen sie sich gut beweglich, die Bewegungen sind, entsprechend der sich der Kugel nähernden Gestalt, häufig rollend oder drehend und wackelnd.

Bei allen den bisher beschriebenen granulose-tragenden Stäbchen und Eiformen kann es sich um solche Exemplare handeln, bei denen sich ohne Jodfärbung, im ungefärbten Präparat keinerlei Differenzierung im Sinne einer entwickelten Sporenanlage erkennen läßt.

1) Kommt bei allen untersuchten Rassen vor.



Das Plasma erscheint in solchen dicken Stäbchen und Clostridien (ungefärbtes Präparat) gleichmäßig feinkörnig. Jedenfalls beweist aber auch hier das Freibleiben eines Abschnittes der Zelle von Granulose, eines Abschnittes, welcher der regelmäßigen Sporenlage entspricht, daß schon bei dem ersten Auftreten der Granulose auch die Sporenanlage eingeleitet wird. Aber es kann die weitere Ausbildung der Spore im Gegensatz zu der Granuloseablagerung in der Zelle zurückbleiben, so daß der Prozeß mit einer excessiven Granuloseablagerung endgültig abschließt.

Dieses Verhalten — excessive Granuloseablagerung — mangelhafte Sporenausbildung — kann in manchen Fällen das ganze Bild einer Vegetation beherrschen.

Es führt insbesondere in älteren Zuckerbouillonkulturen, welche mit hartnäckig sporulierenden Rassen geimpft sind, zur Entstehung abenteuerlicher Gebilde.

In sehr vielen Fällen aber beginnt sich schon frühzeitig die Spore in dem früher geschilderten granulosefreien Anteil der Zelle (Stäbchen oder Clostridium) als stark lichtbrechender, ovaler Körper zu differenzieren, der oft durch einen deutlichen, scharf abgegrenzten Hof vom übrigen Zellinhalt getrennt ist. Hat sich die Bildung der Spore in einer Zelle vollzogen, die infolge verhältnismäßig bescheidener Granuloseablagerung den Stäbchencharakter gewahrt hat, so erscheint die Spore als endständig gelagertes Gebilde, freilich nicht immer streng endständig, insofern noch Plasma zwischen freiem Ende und Spore vorhanden sein kann. Hat sich aber inzwischen oder von vornherein so reichlich Granulose abgelagert, daß die Zelle Clostridienform angenommen hat, so entwickelt sich gewöhnlich folgendes Verhalten.

Die Spore liegt dem einen Ende näher, sehr häufig mit ihrer Achse nicht parallel zur Zellachse, sondern in mehr oder minder starkem Winkel zu derselben. So kommt es, daß bei der Betrachtung im hängenden Tropfen, wenn es sich um noch bewegliche sporentragende Clostridien handelt, infolge der Rotation der Clostridien der täuschende Anschein entsteht, als ob sich die Spore beständig in einer weichen Inhaltsmasse des Clostridiums umherbewegte (s. Beijerinck).

Bei näherem Zusehen zeigt sich aber, insbesondere an solchen Exemplaren, die durch ihre Stellung im Verband die rotierende Bewegungsart erkennen lassen, daß die Spore ihre Stellung zum Clostridium nicht verändert. In manchen Exemplaren von Clostridien nimmt die Spore einen Platz nahe der Mitte des eiförmigen Gebildes ein, auch hier oft excentrisch gelagert. Der Sporenhof ist in den Clostridien oft besonders deutlich entwickelt.

Sporentragende Clostridien zeigen im ungefärbten Zustande häufig eine auffälliger grobe Plasmagranulierung.

Bei der Färbung mit Jod erscheint es als gewöhnliches Verhalten, daß die Spore samt Hof von dem granulosetragenden Plasma der Zelle mantelförmig umscheidet wird, derart, daß oft nur ein kleiner Abschnitt des Clostridiiums, entsprechend dem aus dem Granulosemantel hervorragenden Sporenteil ungefärbt bleibt, ja oft grenzt sich bei mit Jod gefärbten Clostridien der granulosetragende Körper gegen die granulosefreie Spitze infolge dieses Verhaltens wallartig ab. In ungefärbten Präparaten sieht man von einer solchen Form der Abgrenzung nichts, es ist deshalb wahrscheinlich, daß es sich um ein Kunstprodukt, durch Anschwellen des Zellinhalts bei der Jodimprägnierung handelt.

Die allermannigfachsten Bilder entwickeln sich nun, wenn an Individuen im Verbande alle die bisher beschriebenen Veränderungen vor sich gehen. So beobachtet man häufig, daß von zwei verbundenen Stäbchen das eine zum Clostridium wird und eine Spore enthält, während das zweite nur Granulose ablagert. So entsteht oft, wenn die Individuen kurz und die Zellgrenzen schwer feststellbar sind, der Anschein eines Stäbchens mit endständiger Auftreibung samt Spore in diesem, während es sich um einen Stäbchen-Clostridiumverband handelt. Daneben finden sich selbstverständlich alle Übergänge von Stäbchen zu Clostridien, Verbände von Stäbchen oder Clostridien mit solchen Übergangsformen etc.

Zum Schlusse soll noch erwähnt werden, daß man auch gelegentlich, allerdings selten, in zuckerhaltigen Nährboden auf Präparate stößt, die den Vorgang der Granulosebildung in sehr

geringem Maße erkennen lassen, und trotzdem zahlreiche Stäbchen mit je einer bereits deutlich endständigen Spore zeigen. Hier handelt es sich also um Zurückbleiben der Granuloseanhäufung trotz fortschreitender Sporenbildung. Ja, es gelingt sogar mit Sicherheit auf sterilen Nährböden, die neben Spuren von Zucker natives Eiweiß enthalten, vollkommen granulosefreie, lebhaft versporende Vegetationen zu erhalten.

Wichtig erscheint es nun, zu verfolgen, wie sich im Verlaufe des Versporungsvorganges das Plasma der Zellen gegenüber Anilinfarben verhält.

Junge, granulosefreie Stäbchen färben sich leicht, intensiv und gleichmäßig mit diesen Farbstoffen. In Stadien, welche bei Jodfärbung Granulose an den einander zugekehrten Enden von Doppelstäbchen erkennen lassen, zeigen sich die Stäbchen an den freien Enden fast regelmäßig intensiver gefärbt, während der übrige Zellinhalt blasser, häufig leicht fleckig gefärbt erscheint.

In manchen Fällen ist die mit Anilinfarben (Fuchsin) stärker färbbare endständige Partie kappenförmig abgegrenzt.

Die Clostridien sind fast regelmäßig mit Fuchsin nur schwach tingierbar.

Sehr häufig findet man an dem einen Pole, seltener an beiden Polen, eine kappenförmig gestaltete, intensiv rot gefärbte Partie. Derart verhalten sich Clostridien, in denen im ungefärbten Präparat noch keine Spore erkennbar ist.

Färbt man sporenhaltige Clostridien mit Fuchsin, dann erhält man gewöhnlich eine noch schärfere Differenzierung, indem sich die ungefärbte Spore samt Hof scharf gegen den blafsrot gefärbten übrigen Zellinhalt abgrenzt. Auch hier zeigt sich häufig an dem der Spore entgegengesetzten Ende eine kappenförmig gestaltete, dunkler gefärbte Partie.

Der Geißelfärbung unterzogen, zeigen die beweglichen Buttersäurebacillen eine Anzahl von peritrichen Geißeln, und zwar 6—20 und mehr; in gut gefärbten Präparaten von Clostridien läßt sich deutlich erkennen, daß die Geißeln, unmittelbar sich verbreiternd, in die Hülle der Bakterienzelle übergehen. Die Tatsache, daß Clostridien gewöhnlich arm begeißelt sind, dürfte

auf einen mit der Formveränderung vor sich gehenden Verlust an Geißeln zurückzuführen sein.

Gegenüber der Färbung nach Gram verhalten sich die beweglichen Buttersäurebacillen sehr wechselnd. Junge, sporen- und granulosefreie Stäbchen bleiben nach Gram gefärbt, wenn man die Entfärbung mit Alkohol nicht allzulange fortsetzt. Granulose tragende Stäbchen, Clostridien sind gegenüber der Entfärbung sehr empfindlich, ein Teil wird rasch völlig entfärbt, andere bleiben fleckig oder körnig gesprenkelt. Berücksichtigt man den Umstand, daß die beweglichen Buttersäurebacillen an und für sich die Gramsche Färbung nicht sehr fest halten, überdies ihre Resistenz gegenüber dem Alkohol bei der Granulosedifferenzierung weiter abnimmt, dann erklären sich die sehr wechselnden Bilder in einfacher Weise.

Die freien Sporen der beweglichen Buttersäurebacillen sind oval, manchmal leicht unregelmäßig, bohnenförmig oder ähnlich gestaltet. Ihre Länge beträgt ca. 1,8—2,3  $\mu$ , ihr Querdurchmesser 1,3—1,7  $\mu$ .

In Präparaten, welche reichlich freie Sporen enthalten, sieht man häufig solche, welche noch in den zerfallenden Stäbchen stecken oder noch aus dem einen offenen, wie zerfaserten Ende der von der Mutterzelle dargestellten Hülle hervorragen.

Der Formenkreis, welcher auf Gelatinekulturen zur Beobachtung kommt, entspricht im ganzen und großen dem Bilde der Zuckeragarkulturen. Das wichtigste über die Sporenbildung wurde bereits eingangs mitgeteilt.

In älteren (10 Tage alten) Gelatinekulturen sieht man besonders reichlich lange Scheinfäden, welche mehr als 50  $\mu$  lang und entweder dünner, 0,5—0,8, oder (und dann meist unregelmäßig) dick und mit Granulose streckenweise erfüllt sind. Stäbchen und Scheinfäden bewahren in solchen alten, gut verschlossen aufbewahrten Gelatinekulturen lange Zeit ihre Beweglichkeit.

In alten Gelatinekulturen (44 Tage) sieht man oft folgendes Bild: Neben reichlichen granulosefreien Stäbchen und Scheinfäden, reichlich freie Sporen, Clostridien, dann Stäbchen, die an einem Ende etwas Granulose enthalten, nahe der Mitte eine Spore

(ohne Hof, wie denn überhaupt die Ausbildung des Sporenhofes sehr inconstant ist). Bei vielen Clostridien und granulose tragenden Stäbchen zeigt sich die Granulose in, oft in Reihen geordneten rundlichen Körnern, ja man sieht freie Haufen von solchen braunviolettgefärbten winzigen Körnchen, die oft noch durch die Form des Haufens erkennen lassen, dafs sie ursprünglich in einem Clostridium, dessen Zellwand vollständig aufgelöst wurde, enthalten waren.

Stärkeagar verhält sich hinsichtlich Granulosebildung und Versporung nicht wesentlich anders als Zuckeragar. Eine Reihe von Versuchen, die darauf angestellt wurden, ob der von Haus aus im Nährboden vorhandene Alkalescenzgrad auf die Versporung von Einfluss sei, zeigte, dafs zwar anscheinend einigemal in alkalischen Nährböden Granulosebildung und Versporung besser vor sich gingen, doch liefs sich keine konstante Beeinflussung durch willkürlich abgestufte Alkalescenz erkennen, wie dies für den unbeweglichen Buttersäurebacillus zuträfe.

Flüssige Nährböden, insbesondere zuckerreiche, bilden hinsichtlich Granulose-Entwicklung und Versporung auch bei Kreidezusatz an sich kein besonders geeignetes Substrat, wenn nicht besonders hartnäckig sporulierende Vegetationen verimpft wurden (die blofse Aussaat von Sporen genügt nicht!). Man findet sehr häufig, z. B. in Milch oder in Zuckerbouillon mit Kreide, welche, mit Reinkultur geimpft, wochenlang in Gärung war, nur wenige granulose tragende Stäbchen und oft fehlen Sporen vollständig. Dieses Verhalten bezieht sich, was hier besonders hervorgehoben werden soll, allerdings nur auf Reinkulturen im strengen Sinne. Sehr reichlich findet man in solchen flüssigen Kulturen kommaförmige oder s-förmig gekrümmte, mit Jod und Anilinfarben schlecht färbbare, granulosefreie Stäbchen mit körnigem Plasma und Verbände von solchen.

Auf Kartoffeln wachsen die beweglichen Buttersäurebacillen, wie schon erwähnt, gut an, und entwickeln sich auf diesem Nährboden reichlich Granulose und Sporen. Eine besondere Neigung zur Bildung abnormer Formen dieser Bakterienart, scheint diesem

Nährboden nicht zuzukommen (vgl. den unbeweglichen Buttersäurebacillus).

Ganz auffällige Neigung zur Bildung reichlicher Mengen von Granulose und Sporen zeigt sich oft in Kulturen (und hier sind es gerade zucker- oder stärkereiche flüssige Nährböden), in welchen neben dem beweglichen Buttersäurebacillus noch andere Bakterienarten, aërobe oder anaërobe zur Entwicklung gelangen. Es gelingt nicht regelmäfsig, durch künstliches Zusammengeben von Reinkulturen die Bedingungen für diese besondere Granulosebegünstigung zu erzielen. Einmal scheinen nicht alle Bakterienarten in gleichem Grade hierzu geeignet zu sein, dann hängt aber das Gelingen offenbar auch davon ab, in welchem Verhältnis die beiden Bakterien von vornherein vorhanden sind, resp. im Verlaufe der ersten Vegetation zur Entwicklung kommen. Aus zahlreichen Experimenten geht weiters hervor, dafs sich diese Beeinflussung des Versporungsvorganges durch Symbiose vor allem darin bemerkbar macht, dafs bei der Reinzüchtung aus Bakteriengemischen, insbesondere dann, wenn aus flüssigen Nährböden Zuckeragarplatten gegossen werden, die auf den Platten zur Entwicklung kommenden Kolonien sehr häufig sporenarm sind, ja dafs die Generationen, welche von solchen sporenarmen Kolonien weiterhin unter verschiedensten Verhältnissen angelegt werden (auf flüssigen und festen Nährböden) oft geringe Neigung zur Versporung beibehalten. Ist das Versporungsvermögen noch nicht völlig verloren gegangen, so lassen sich durch reichliches Überimpfen von Material, z. B. in Zuckeragar, und bei mehrmaliger Wiederholung des Vorganges unter fortlaufender mikroskopischer Kontrolle und Auswahl sporenreicher Vegetationen zur Weiterimpfung Vegetationen erzielen, die ihrerseits wieder unter Umständen die Neigung zur Versporung mehr oder minder hartnäckig festhalten, ja selbst unter Verhältnissen, die sonst der Versporung ungünstig sind. Bei diesem Wiederanzüchten von Neigung zur Versporung macht es keinen Unterschied, ob man in dem Material, das man zu Überimpfungen verwendet, die vegetativen Formen durch Erhitzen abtötet oder nicht. Berücksichtigt man die soeben mitgeteilte Thatsache, dafs bei der Reinzüchtung oft zunächst

Vegetationen mit geringer Neigung zur Versporung entstehen, dafs ferner durch geeignete Züchtung Neigung zur Versporung erworben, bezw. verloren gehen kann, dafs überdies die einzelnen Stämme, die man in Reinkultur erhält, sich in der genannten Richtung, je nach den Bedingungen, unter welchen die vorausgegangenen Generationen gestanden waren, graduell sehr verschieden verhalten, so wird es leicht verständlich erscheinen, dafs man bei der Differenzierung von Racen etc. der Buttersäurebacillen gar nicht genug vorsichtig sein kann.

Ebenso wird es auch angezeigt erscheinen, bei der Beurteilung des Einflusses, welchen verschiedene Nährbodenzusammensetzung und Wachstumsbedingungen auf kulturelle und morphologische Erscheinungen äufsern, sehr skeptisch zu sein, da diese Bedingungen oft weniger ins Gewicht fallen als der eben vorhandene ererbte Zustand der überimpften Generationen.

In Mischkulturen kommt es nun besonders oft zu einer Form excessiver Einlagerung von Granulose, wie wir sie in Reinkulturen bisher nur in Zuckergelatinen und auch dann nur recht selten beobachten konnten.<sup>1)</sup> Das Charakteristische besteht hier darin, dafs in der freien Spore Granulose nachweisbar ist.

Wir wollen in folgendem die Bilder beschreiben, wie wir sie an einem fortlaufend beobachteten Stärkebouillonkolben, der mit *B. saccharobuty.* Klecki und einem sehr zarten anaëroben Bacillus mit Köpfchen-Sporen geimpft worden war, wahrnahmen.

Alle die Bilder, welche hier in der Reihenfolge der Entwicklung geschildert werden, fanden sich auch in zwei Gelatine-reinkulturen der beweglichen Buttersäurebacillen, überdies war durch die charakteristischen morphologischen Verhältnisse der künstlich zugesetzten fremden Art jede Verwechslung ausgeschlossen:

Bereits 14 Stunden nach der Impfung lebhafte Gärung, mikroskopisch neben den schlanken Stäbchen der fremden Art, sehr reichlich Individuen des Kleckischen Bacillus. Letztere ausschliesslich in der Clostridiumform. Clostridien sehr dick.

1) In neuester Zeit konnten wir bei allen Stämmen auch in Reinkultur das Vorkommen dieser Erscheinung feststellen.

Bei Jodfärbung zeigt sich in fast allen Clostridien das typische Bild der Granuloseansammlung mit Freilassung eines scharf abgegrenzten ovalen Raumes an einem Pole der Zelle. In diesem granulosefreien Raume ist central ein mit Jod blau gefärbtes kleines Korn sichtbar. In einigen Clostridien ist bereits die junge Spore zu sehen. In diesem Falle zeigt sich, daß das kleine Granulosekorn in das Innere der Spore selbst zu liegen kommt.

Die mikroskopischen Präparate, welche aus den Kolben in den nächsten 24 Stunden angefertigt wurden, zeigten im wesentlichen dasselbe Bild, am dritten Tage waren aber bereits reichlich freie Sporen sichtbar und die meisten derselben, oval und regelmäßig geformt, von entsprechender Größe zeigten im Innern (bei Jodpräparaten) je ein deutlich abgegrenztes blaues Körnchen. Dieses Granulosekorn ist in vielen Sporen ganz central gelagert, in anderen etwas excentrisch, immer läßt sich erkennen, daß es in der Spore selbst liegt. Das Körnchen ist, soweit sich bei der Kleinheit des Gebildes erkennen läßt, entweder rundlich oder unregelmäßig umrandet. Bei der Betrachtung im ungefärbten Präparat zeigen sich die Sporen von normalem Glanz, gegenüber Anilinfarben verhalten sie sich wie gewöhnliche Sporen, insbesondere erfolgt hier auch bei gewöhnlicher Färbung im Centrum keinerlei Farbstoffaufnahme. Eine Prüfung der Resistenz wurde wegen der gleichzeitigen Gegenwart anderer, normaler Sporen nicht vorgenommen.

Auffallend erscheint es, daß in diesen Fällen bei der bekannten Widerstandsfähigkeit gegenüber Färbung Sporen so leicht das Jod in das Innere eindringen ließen.

Die Sache liegt hier wohl so, daß das Jod überhaupt die Sporenmembran leichter durchdringt als dies Anilinfarben thun, und hier bei dem Vorhandensein einer mit Jod charakteristisch färbbaren Substanz in der Spore besonders zur Geltung kommt.

Ich stehe nicht an, diesen Versporungsvorgang<sup>1)</sup> als einen abnormen, krankhaften zu bezeichnen, wie denn auch die charakteristische Überproduktion von Granulose als eine erbliche

1) Es hat den Anschein, als ob bei der gewöhnlichen Clostridienversporung alles darauf ankommt, daß der granulosefreie Teil des Plasmas



Erkrankung der Buttersäurebacillen anzusehen sein dürfte, von der diese so oft befallen werden, wenn sie sich zur Versporung anschicken.

Besonders bemerkenswert sind weiterhin auffällig kleine, oft kreisrunde, granulose-erfüllte Gebilde, die bei gleichzeitiger reichlicher Versporung dann zur Beobachtung kamen, wenn den zuckerhaltigen Flüssigkeiten nennenswerte Mengen von inaktiver Milchsäure bezw. milchsaurem Kalk von vornherein zugesetzt wurden. Die Untersuchungen über diesen Gegenstand sind noch nicht abgeschlossen, doch kann es nach den bisherigen Befunden keinem Zweifel unterliegen, daß — in Analogie zu sichergestellten ähnlichen Beobachtungen bei Stämmen, die zur Gruppe des unbeweglichen Buttersäurebacillus gerechnet werden müssen — die Gegenwart von Milchsäure hier eine besondere Rolle spielt.

Was die Widerstandsfähigkeit der Sporen<sup>1)</sup> des beweglichen Buttersäurebacillus vom Amylobaktertypus gegen Erhitzen betrifft, so konnten wir in einer Reihe von Versuchen feststellen, daß dieselben ihre Lebensfähigkeit bereits nach drei Minuten langem Aufenthalt im 100° Dampf einbüßen, sie erscheinen demnach bedeutend weniger resistent als die Sporen des unbeweglichen Buttersäurebacillus. Weitere Untersuchungen sollen feststellen, ob den unter verschiedenen Bedingungen (Versporung mit oder ohne Granulose etc.) entstandenen Sporen eine verschieden hohe Widerstandsfähigkeit gegen Erhitzen zukommt.

sich möglichst frühzeitig und scharf von dem mit Granulose beladenen Restplasma sondert, während hier der Plasmaanteil, welcher sich zur Sporenanlage differenziert, bereits in diesem Zeitpunkt mit einem nicht mehr austofsbaren Anteil von Granulose behaftet ist.

1) Die angeführten Versuche wurden mit Sporen aus Zuckergelatinekulturen angestellt.

## Erklärung der Lichtdrucktafeln.

---

Die vorliegenden Abbildungen sollen in möglichst vollständiger Weise einen Überblick über den Formenkreis des beweglichen Buttersäurebacillus vom Typus des Amylobakter bringen. Vorausgeschickt soll werden, daß sämtliche Präparate von strengen Reinkulturen angefertigt wurden mit Ausnahme des Bildes Nr. 6 (s. u.). Es wurde überdies kein Bild in die Tafeln aufgenommen, das sich nicht bei säutlichen untersuchten Stämmen durch geeignete Züchtung hervorrufen liefs. Um jedoch anderseits die Pleomorphie des einzelnen Stammes zum Ausdruck zu bringen, wurden fast für alle Bilder Präparate verwendet, die aus Kulturen des Gruberschen Originalstammes angefertigt wurden. Die absolute Reinheit der Kulturen erscheint dadurch garantiert, daß immer wieder von einzelnen Kolonien des Originalstammes oder dessen Abkömmlingen ausgegangen wurde. Dabei wurde es sogar vermieden, von Gasblasen mit Randinfiltration abzuimpfen.

Fig. 1 zeigt uns das mikroskopische Bild einer 20stündigen, kräftig gewachsenen Kultur des Amylobakter auf Zuckeragar, wie es außerordentlich häufig zur Beobachtung kommt, wenn man Stämme verwendet, die nach der Behandlung, welche frühere Generationen erfuhren, ihre Neigung zur Versporung verringert haben. Das Präparat ist vorsichtig fixiert, mit Lugolscher Lösung gebadet und liegt bei der photographischen Aufnahme in derselben Lösung. Die ausgesprochen dunklen Partien entsprechen solchen, welche sich mit Jod violett bis blau färben.

Man sieht die Stäbchen (häufig Doppelstäbchen) mit Granulose gefleckt, sehr ungleich dick, auch Stäbchen, die keine charakteristische Jodfärbung annehmen, zeigen Unregelmäßigkeiten im Plasma, sie färben sich überdies mit Jod sehr wenig gelb. Schon finden sich einzelne Übergänge zu Clostridien.

Fig. 2 zeigt denselben Stamm auf demselben Nährboden, ebenfalls 20 Stunden alt, jedoch mit anderer Vorgeschichte (insofern die früheren Generationen wiederholt auf Zuckerbouillon reichliche Clostridien gebildet hatten und von einer solchen Zuckerbouillon zuletzt auf Zuckeragar abgeimpft wurde).

Hier finden sich bereits ausgesprochene Clostridien, auch solche, die eine deutlich ausgebildete Spore tragen. Die Neigung zur Bildung von Scheinfäden, sowie zur Bildung von in Ketten gereihten kurzen, vollständig mit Granulose erfüllten Formen ist bemerkenswert.

Fig. 3 und 4 zeigen Präparate aus einer und derselben Kultur (Zucker-gelatine 3 Tage, s. Fig. 14). Fig. 3 gibt das Bild des in Lugolscher Flüssigkeit, Fig. 4 dasjenige des in wässriger Fuchsinlösung eingebetteten Präparates. Hier sieht man fast nur Clostridien, die Granulose erfüllt den einen Teil der Zellen, das mit Fuchsin gut färbbare Plasma (Fig. 4) nimmt das Ende der Zellen in Beschlag. Die Ausbildung der Spore ist noch nicht erfolgt (in solchen Kulturen bleibt oft der größte Teil der Clostridien auf diesem Stadium stehen).

Fig. 5 zeigt das Bild einer Reinkultur des *B. s. Klecki* auf Zucker-gelatine (5 Tage), welche sich durch eine überaus reichliche Granulosebildung auszeichnet; hier ist es fast in allen Clostridien zur Bildung eines Granulose-kornes im Sporenteil des Plasmas gekommen. Dies führt unter geeigneten Verhältnissen zu merkwürdigen Bildern. Die freien Sporen nehmen in einer central oder mehr peripher gelagerten Partie Jodfärbung an.

Präparat 6, welches derartige Sporen in besonders reichlicher Zahl aufweist, entstammt einem Kolben (siehe Text der Abhandlung), der mit *B. s. Klecki* und einem sehr zarten anaëroben *Bacillus* geimpft war. Die Stelle rechts unten verrät die Anwesenheit dieses Stäbchens, sie zeigt zugleich (Vergrößerung = 2000!) die Feinheit desselben.

Die Versporung ist nicht unbedingt mit Granulosebildung verbunden, oder, richtiger gesagt, es muß nicht stets im Verlaufe der Versporung Granulose nachweisbar sein. Dies zeigt Fig. 7 (*Amylobakter* auf sehr zucker armem Nährboden mit leicht angreifbarem, nativem Eiweiß, 20 Stunden). Das Jodpräparat zeigte (hier nicht abgebildet) nirgends Granulose, das Präparat ist nach Gram gefärbt, eine weitgehende Pleomorphie hinsichtlich Lage der Spore und Gestalt der versporenden Stäbchen ist unverkennbar, beachtenswert ist die verschieden intensive Färbung der Stäbchen, der Besitz von Kapseln. Wie anders verläuft hier die Versporung im Vergleich zu Bild 2! Dort fast völlige Scheidung des Zellinhalts in Plasma und Granulose, hier dagegen bildet sich die Sporenanlage inmitten des noch gut färbbaren Zellplasmas, ja selbst bei reifer Spore ist der übrige Teil des Zellinhalts mit Anilinfarben intensiv färbbar. (Diese granulosefreie Versporung konnten wir mit absoluter Sicherheit bei allen Stämmen nachweisen.) Überimpft man von dieser Kultur auf Zuckeragar (Bild 8, 20stündige Kultur, Gram), so bilden sich reichlich Clostridien.

Wie verhalten sich die extremen Degenerationsformen clostridienreicher Vegetationen? Fig. 9 zeigt uns Centrifugenrückstand einer 2 Tage alten Zuckerbouillon von *Amylobakter* Gruber, abenteuerlich gequollene, mit Granu-

lose vollgestopfte Gebilde, daneben reichlich mit blaufioletten, feinsten Körnern gefüllte Clostridienschatten, überdies reichlich zerfallende Stäbchen und detritus, auch freie Sporen.

Gelingt es etwa regelmäßig, durch Übertragung in zucker- (bzw. stärke- etc.)freies Medium granulosefreie Versporung zu erhalten?

Fig. 11 zeigt den Effekt einer solchen brusken Übertragung in Bouillon (gewöhnl. Zusammensetzung), nach 6 Stunden zentrifugiert. Die Ausgangskultur entsprach etwa dem Bilde 4. Massenhafte Kettenbildung, mit ganz kurzen Elementen, zum Teil mit Granulose vollgestopft (rasche Zellteilung und Vorhandensein durchwegs degenerativer Individuen gehen hier parallel!). Von dieser Kultur wurde auf Agarplatte (ohne Zucker) oberflächlich geimpft, dieselben wurden sofort in den Botkin'schen Apparat (siehe Archiv Bd. 37) gebracht, stürmisch Wasserstoff durchgeleitet etc., nach 20 Stunden oberflächliche Rasen, das Präparat Fig. 12 (in wässriger Fuchsinlösung) zeigt regelmäßige Formen, das Plasma jedoch leicht fleckig, dabei ist mit Jod keine Granulose nachweisbar. Solche granulosefreie Vegetationen kommen in anderer Form zu Gesicht, selbst bei Gegenwart von Zucker, wenn man ganz junge Bouillonkulturen oder noch besser die eben besprochenen jungen Rasen sofort nach dem Herausnehmen aus den anaeroben Behältern auf tadellos ausgekochte und erstarrte Zuckergelatine überimpft. Siehe Fig. 10 (4 Tage alte Zuckergelatinekultur vergl. Bild 20). Die Vegetationen sind mit Fuchsin zum großen Teil gut färbbar, im extremen Falle granulosefrei, sie zeigen aber Wachstum in Scheinfäden.

Geht man wiederholt in der bei Beschreibung von Fig. 12 geschilderten Weise vor (diese Versuche stammen aus der jüngsten Zeit), so gelingt es mühelos, die regelmäßigesten und schönsten, vollkommen granulosefreien Stäbchen zu erzielen, die Präparate lassen Scheinfäden fast vollkommen vermissen. Die Stäbchen sind ganz außerordentlich lebhaft beweglich, ihre Bewegung im hängenden Tropfen hält oft durch länger als eine Stunde an, nicht weil sie eine besondere Form des B. sind, sondern weil sie am lebenskräftigsten sind. Die nach der Ermenghem'schen ausgezeichneten Methode angefertigten Geißelpräparate zeigen den Geißelreichtum dieser Stäbchen, für ihr gesundes Plasma spricht die außerordentlich leichte Beizbarkeit der Bakterienleiber. (Clostridien sind arm begeißelt, auch das Plasma schwer beizbar.) Man kann entweder durch Modifikation der Beizen und Färbemittel oder durch Auswahl von Nährböden und Züchtungsverfahren, welche Bakterienzellen mit normalem Plasma garantieren, gute Geißelpräparate erzielen. Der letztgenannte Weg scheint mir der sicherere.

Kommen diese Extreme: einerseits Fig. 21 bzw. 12, 10 — andererseits 3, 4, 9 auch im Bilde der Kulturen zum Ausdruck? Diese Frage entscheidet das Aussehen der Vegetationen auf Zuckergelatine. Reichliche Clostridien finden sich in Zuckergelatine-Kolonien (anaerobe Platten), die Fig. 13, 14 u. 15 entsprechen (Zuckergelatineestich Fig. 18); solche Kolonien färben sich mit Jod intensiv schwarz. In Fig. 16 resp. 19 sind Vegetationen zu sehen, in welchen spontan der Charakter der Kulturen sich zu ändern beginnt, es dringen korkzieherförmige Ausläufer in die Gelatine ein. Fig. 20 und 17

endlich entsprechen den rasch beweglichen, granulosefreien Stäbchen, die in die Gallerte störmisch einwachsen. Fig. 20 entspricht einer 2 Tage (!) alten Zuckergelatine-Stichkultur (abgeimpft von Kultur siehe Bild 21).

Besonders charakteristisch ist die Zuckergelatineplatte Fig. 17. Man sieht reichlich Gasblasen (die lighthofschleierfreie Platte hat für die Darstellung hier leider etwas zu gut gearbeitet) und um diese eine schleierartige Trübung, das ist die Vegetation.

Fig. 27 zeigt das Aussehen der Milchkulturen (viele Wochen alte Kultur). Das Caseingerinnsel ist vollkommen ungelöst.

Fig. 25 zeigt eine tiefliegende Kolonie in Zuckeragar (20 Stunden alte Zuckeragarplatte). Fig. 26 eine ebenso alte Kolonie in zuckerfreiem Agar (Aussaat: erhitztes Sporenmateriale). Fig. 24 zeigt eine Stelle aus dem Präparat Fig. 8 bei 2500 facher Vergrößerung. Man sieht in zahlreichen Clostridien, wabige Räume begrenzende Plasmastränge. In diesen Hohlräumen liegen die (hier ungefärbten) Granuloseballen, ein Verhalten, das ebenso bei der weiterhin auftretenden Lösung der Granulose in der Lagerung der einschmelzenden Granuloseballen zum Ausdruck kommt. Das Plasma der normalen, granulosefreien Zellen zeigt im extremen Fall keinerlei Differenzierung.

Überblickt man die vorliegenden Tafeln, so läßt sich am besten durch Kombination einer Anzahl von Bildern ein Einblick in den merkwürdigen Formenkreis des Amylobakter gewinnen. Will man ihn in seinem granulosefreien Entwicklungsgang verfolgen, so reihe man Fig. 21 (22—23), 17, 20, 10, 7 aneinander, im anderen Falle (Versporung mit Granulose) Bild 1, 3, 4, 9, 13—15, 18.

Die Photographie habe ich im Vereine mit Herrn Universitätslehrer Hinterberger in dessen musterhaft eingerichtetem Privatlaboratorium angefertigt.

Fig. 1—5, 7—12, 21—23 Vergr. = 1000,

Fig. 6 Vergr. = 2000,

Fig. 24 Vergr. = 2500,

Fig. 13—16 Vergr. = 14,

Fig. 25 und 26 Vergr. = 21,

Fig. 18, 19, 20, 27 Vergr. =  $1\frac{1}{2}$ ,

Fig. 17 natürliche Größe.



Fig. 1.

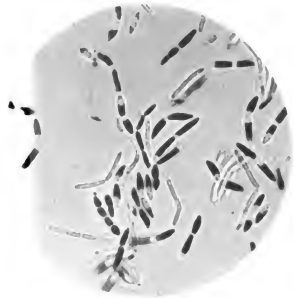


Fig. 2.



Fig. 3.



Fig. 4.

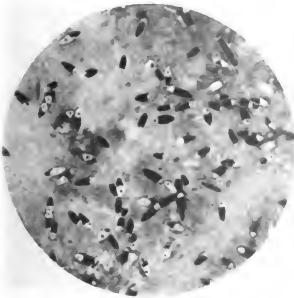


Fig. 5.



Fig. 6.



Fig. 7.



Fig. 8.

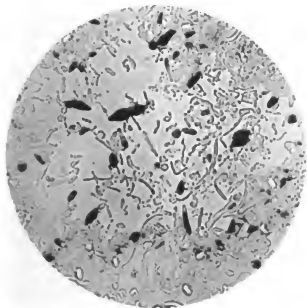


Fig. 9.



Fig. 10.



Fig. 11.



Fig. 12.

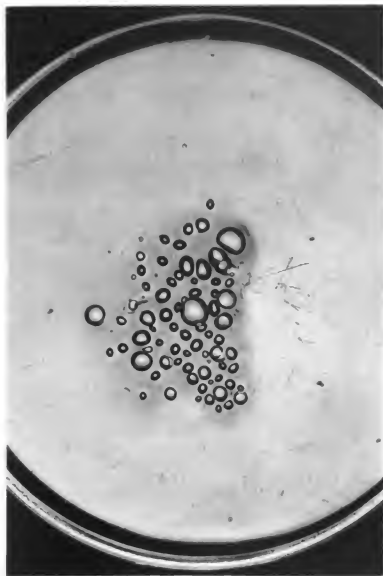


Fig. 17.

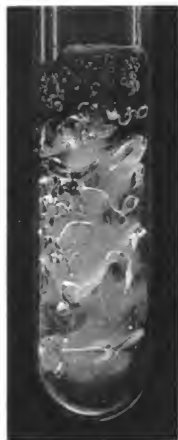


Fig. 20.

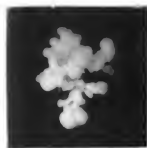


Fig. 14.

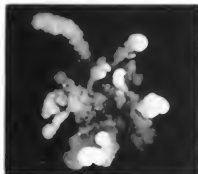


Fig. 15.



Fig. 13.

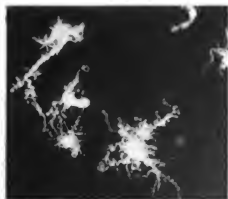


Fig. 16.



Fig. 18.



Fig. 19. by Google







Fig. 27



Fig. 24.

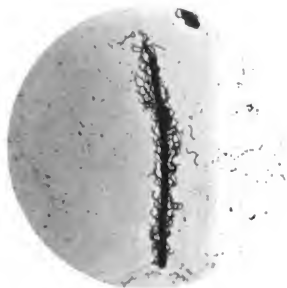


Fig. 23.



Fig. 22



Fig. 25.

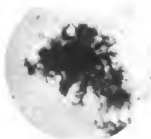


Fig. 26.



Fig. 21.

## B. Biologisches Verhalten und Verbreitung des beweglichen Buttersäurebacillus.

Von Dr. A. Schattenfroh,  
Assistent am Institute.

Im ersten Teile dieser Abhandlung wurden die verschiedenen Formen des beweglichen Buttersäurebacillus, wie sie im Verlaufe der Versporung und im sporenfreien Entwicklungskreise zur Beobachtung kommen, ausführlich beschrieben, es wurde auch hervorgehoben, daß derselbe ein streng anaërobes Bakterium ist und stets, auch bei völligem Sauerstoffmangel des Mediums, Eigenbewegung zeigt.

Es erübrigt noch, über sein sonstiges biologisches Verhalten, insbesondere aber über die Zersetzungen zu berichten, die er durch seine Gärthätigkeit in den Kulturflüssigkeiten bewirkt.

Was die zum Gedeihen des beweglichen Buttersäurebacillus notwendige Temperatur betrifft, so wäre hervorzuheben, daß die Grenzen, innerhalb deren seine Entwicklung möglich ist, ziemlich weit gezogen sind. Er vermehrt sich zwar am üppigsten — auch die Gärerscheinungen sind hier am stürmischsten — bei Bruttemperatur, doch findet er auch — günstige Nährbedingungen und strenge Anaërobiose vorausgesetzt — bei wesentlich niedrigeren Temperaturen sein Auskommen. Wir sahen sogar im Kühlschrank bei ca. 10° C. und darunter ein wenn auch verzögertes und langsames Wachstum desselben bei gleichzeitiger Vergärung des Substrates — ein Verhalten, das wir in der letzten Zeit auch bei zur Gruppe des unbeweglichen Buttersäurebacillus gehörigen Stämmen konstatieren konnten.

Während nun die bei niedriger Temperatur langsam angewachsenen Kulturen — stets dauernd anaëroben Verschlufs vorausgesetzt — lange übertragungsfähig bleiben, sind die bei höheren Temperaturen rasch und üppig gewucherten Generationen gewöhnlich wenig widerstandsfähig und gehen oft schon in wenigen Tagen zugrunde. Dies konnten wir besonders häufig bei Zuckeragarplatten beobachten, deren Kolonien, wenn die Kulturen mehrere (2—4) Tage alt waren, meist nicht mehr überimpfbar waren. Besser konservierten sich die Zuckeragarstich- und Bouillonkulturen, doch war auch in solchen Kulturen, selbst dann, wenn Sporen gebildet waren, die Lebensdauer der Vegetationen keine sehr lange, wenn nicht für besonders exakten Abschluß des Luftsauerstoffs gesorgt war. In solchen Fällen — z. B. behufs Aufbewahrens der Stämme — wendeten wir auch stets die Grubersche Evacuationsmethode an, die die einzige ist, bei welcher unbegrenzte Zeit die Kulturen sauerstofffrei bleiben.

Der bewegliche Buttersäurebacillus stellt gewisse Anforderungen an die Zusammensetzung des Nährsubstrats, so daß er durchaus nicht in allen gebräuchlichen Nährböden wächst. Vor allem ist für ein lebhaftes Wachstum desselben die gleichzeitige Anwesenheit von organischen, stickstoffhaltigen Substanzen, unter denen er die Eiweißstoffe bevorzugt, und löslichen, vergärbaren Kohlehydraten unerläßlich. So wie der »unbewegliche« Buttersäurebacillus vermag er in kohlehydratfreien Nährlösungen, wie Peptonbouillon, nicht oder nur kümmerlich zu wachsen, ebenso wie er in »künstlichen Nährlösungen«, die nur anorganischen Stickstoff enthalten, selbst bei Anwesenheit von Kohlehydraten nur ausnahmsweise die Bedingungen zur Entwicklung findet; wir sahen ein einzigesmal in Ushinskyscher Lösung, die 2% Traubenzucker enthielt, eine kurzdauernde Vermehrung desselben eintreten<sup>1)</sup>, meist blieben jedoch die Versuche, ihn in so einfachen Medien zu züchten, erfolglos.

1) Betont soll werden, daß die ausgeführten Verhältnisse für die Reinkultur des Buttersäurebacillus gelten.

Der bewegliche Buttersäurebacillus ist ein echter Gärungs-erreger. Gleichzeitig mit seinem Wachstum in den Nährlösungen wie auf den festen Nährböden kommt es daher zu intensiven Zersetzungen in denselben, die sich jedoch entsprechend der schon früher gegebenen Definition des Begriffes »Buttersäuregärung« auf die Kohlehydrate beschränken. Die Eiweißkörper, deren er zum Aufbau des Leibesplasmas so dringend bedarf, greift der bewegliche Buttersäurebacillus in ausgiebigerem Maße nicht an, so daß es in seinen Kulturen niemals zu tiefergreifenden Veränderungen derselben kommt. Man vermißt daher in den Gärflüssigkeiten auch alle jene Stoffe, die auf Eiweißfäulnis deuten, ebenso wie die sinnfälligen Erscheinungen derselben (s. w. u.).

Von Kohlehydraten vergärt der bewegliche Buttersäurebacillus Mono- und Disaccharide, ebenso Stärke, während er Cellulose nicht angreift. Neben den Kohlehydraten unterliegen dann noch eine Reihe verwandter Stoffe seiner Gärung, so insbesondere das Glycerin, das er viel leichter angreift und zersetzt, als beispielsweise der stammverwandte unbewegliche Buttersäurebacillus.

Mannit blieb in unseren Versuchen unzersetzt, doch möchten wir mit einem endgiltigen Urteile über diesen Punkt bei der kleinen Zahl derselben und im Hinblick auf die positiven Resultate Beijerincks zurückhalten, indem es möglich wäre, daß in unseren Versuchen die günstigen Bedingungen zum Zustandekommen dieser Gärung fehlten.

Milchsaure Salze werden von seiner Reinkultur nach unseren bisherigen Erfahrungen gleichfalls nicht angegriffen, wenngleich eine Beeinflussung des Formenkreises, hauptsächlich in Bezug auf das Eintreten der Versporung und das Aussehen der granuloseführenden Individuen, zweifellos konstatiert werden konnte (s. I. T.).

Wir sind übrigens noch mit Studien über diesen Punkt beschäftigt und gedenken später noch einmal darauf zurückzukommen, wenn wir die Gärungserreger der Milchsäure beschreiben.

Die Untersuchungen der Gärprodukte nahmen wir in ähnlicher Weise vor, wie wir es in unserer ersten Abhandlung

beschrieben haben. Wir versetzten demnach Fleischwasser, Peptonbouillon oder »künstliche Nährlösung«, die einen Zusatz von Pepton erfahren hatte, mit den zu untersuchenden Substanzen in solchen Mengen, daß Konzentrationen von 2—4 % resultierten (s. Protokolle) und nahmen die Verarbeitung des Materiales eine bis mehrere Wochen nach der Aussaat im wesentlichen nach derselben Vorschrift vor, die wir früher eingehalten hatten. Es wurde dementsprechend auf flüchtige und nichtflüchtige Säuren, auf Alkohole, auf Zersetzungsprodukte der Eiweißstoffe geprüft, und gegebenenfalls wurden diese Stoffe quantitativ bestimmt; weiters wurden gelegentlich die bei der Gärung stets reichlich gebildeten Gase nach der exakten Analyse untersucht.

Hierbei stellte sich nun heraus, daß aus Dextrose, Saccharose und Laktose, sowie aus Stärke (verkleistert und in löslicher Form) und Glycerin regelmäÙig Buttersäure, Milchsäure, Kohlensäure und Wasserstoff gebildet werden.

Alkohole, die von manchen Autoren als konstantes Gärprodukt des beweglichen Buttersäurebacillus gefunden wurden — es handelte sich im wesentlichen hierbei stets um Butylalkohol — fanden wir ein einziges Mal in größerer Menge bei der Analyse der Gärprodukte eines frisch aus Erde gezüchteten Stammes vor, wobei sich beim Absättigen des Destillats mit Pottasche etwa 4 ccm eines bei 118° C. übergehenden Alkohols abschieden; wir waren jedoch nicht imstande, bei mehrfacher Wiederholung des Versuchs ein gleiches Resultat zu erzielen.

Das Mengenverhältnis der gebildeten Gärprodukte ist kein konstantes, sondern hängt von einer Reihe von Einflüssen ab. Wenngleich bei den Gärungen des beweglichen Buttersäurebacillus — im Gegensatz zur unbeweglichen Art — stets verhältnismäÙig große Mengen von Buttersäure gebildet werden, was zunächst hervorgehoben werden soll, ist doch innerhalb gewisser Grenzen das Verhältnis der Buttersäure und Milchsäure zu einander ein recht wechselndes, indem von letzterer bald nur kleine Mengen, bald ansehnliche Quantitäten gebildet werden. In den meisten Fällen entstehen aus den Kohlehydraten durch den beweglichen Buttersäurebacillus zwar größere Mengen

von Buttersäure als Milchsäure, doch sehen wir ausnahmsweise das Verhältnis von Buttersäure und Milchsäure sich umkehren, so daß neben beträchtlichen Mengen von Milchsäure nur kleine Mengen von Buttersäure gebildet werden.

Diese aufsergewöhnlichen Befunde entziehen sich vollständig einer zutreffenden Erklärung, wie überhaupt zugegeben werden muß, daß wir nur einen Teil der Einflüsse kennen, welche für den Ausfall der Gärung bedeutungsvoll sind. So ist es zweifellos, daß der Milchzucker zum größten Teile in Buttersäure übergeführt wird und nur ein sehr kleiner Rest desselben zu Milchsäure vergärt. Ganz besonders tritt dies in Milchkulturen hervor, in denen wir nur ausnahmsweise Spuren von Milchsäure nachweisen konnten.

Es ist dies wieder ein übereinstimmendes Verhalten beider bisher beschriebenen Buttersäurebacillen, daß von ihnen in Milch absolut und relativ die größten Mengen Buttersäure gebildet werden.

Die übrigen untersuchten Zucker, sowie die Stärke zerfallen in Buttersäure und Milchsäure ohne gesetzmäßige Regelmäßigkeit in dem Mengenverhältnisse der Säuren. Wir haben daher auch in diesem Falle von dem Aufstellen einer Gärungsgleichung Abstand genommen und registrieren einfach die Thatsache.

Beide Säuren entstehen nach unserer Auffassung aus dem Zucker direkt; daß Buttersäure durch nachträgliche mehr oder minder vollständige Vergärung der Milchsäure in statu nascendi zustande kommt, ist uns unwahrscheinlich, da Milchsäure, den Nährböden zugesetzt, wie schon erwähnt, vom beweglichen Buttersäurebacillus anscheinend nicht angegriffen wird.

Die Modifikation der Milchsäure ist bei den einzelnen Racen des beweglichen Buttersäurebacillus eine verschiedene, indem von einer Reihe von Stämmen inaktive, von anderen Rechts-Milchsäure gebildet wird. Es scheint dies, soweit unsere Beobachtungen reichen, konstant zu sein, wenigstens konnten wir Ausnahmen nicht konstatieren. Die einzelnen Stämme entsprechend der Modifikation der Milchsäure voneinander zu

trennen, ist uns nicht gelungen, so daß wir das diesbezüglich abweichende Verhalten derselben nur als eine Stammeseigentümlichkeit ansehen können.

Über die Milchkultur hätten wir noch einiges zu bemerken. Vor allem, daß nicht alle untersuchten Stämme sich in diesem Nährboden gleich verhielten. Alle jene, welche wir nach Botkins Vorschrift in Milch angereichert hatten, zeigten in derselben auch in Reinkultur das typische Bild, wie wir es für den unbeweglichen Buttersäurebacillus beschrieben haben: Stürmische Gasbildung, Gerinnung des Caseins und Entführung des Coagulums an die Oberfläche durch die entweichenden Gase. Andere Stämme, die wir auf andere Weise isoliert hatten (s. u.) wuchsen aber langsamer in Milch an, in ganz vereinzelt Fällen blieb die geimpfte Milch steril, oder das Wachstum der eingesäten Bakterien stand, bevor es noch zu sinnfälligen Veränderungen der Milch gekommen war, still. Wenn Wachstum in Milch eingetreten war, blieb das Caseingerinsel andauernd ungelöst; die beweglichen Buttersäurebacillen produzieren daher in Milch ebensowenig wie ihre unbeweglichen Verwandten peptonisierende Enzyme. Dies ergab sich außer der makroskopischen Betrachtung der Milchkultur auch noch aus dem Stickstoffgehalt der Molke (nach Kjeldahl bestimmt); derselbe erhob sich auch in alten Kulturen nicht über 0,13% und blieb vom Tage der Ausfällung des Caseins an konstant.

Dem Fehlen der peptonisierenden Enzyme entsprechend, konnten auch Phenol, Indol, Schwefelwasserstoff und Ammoniak in der Molke nicht nachgewiesen werden, so daß weitergehende Zersetzungen des Milcheiweißes wohl füglich ausgeschlossen sind. Weiter wahrscheinlich machen konnten wir dies durch die Konstatierung der Thatsache, daß der bewegliche Buttersäurebacillus — wir konnten für den unbeweglichen den Versuch nachholen — in reinen Caseinlösungen trotz reichlicher Aussaat nicht wächst.

Die in Milch gebildeten Gärprodukte sind daher ebenso wie beim unbeweglichen Buttersäurebacillus zum überwiegenden Teile aus dem Milchzucker entstanden. Eine vollständige Zersetzung



desselben konnte jedoch niemals beobachtet werden; stets blieb ein Rest von mindestens  $2\frac{1}{2}\%$  noch nach Wochen unvergoren.

Der bewegliche Buttersäurebacillus bildet in den Kulturen diastatische Enzyme. Doch stiefs der Nachweis auf grössere Schwierigkeiten, und wir können heute nur die regelmässige Bildung von Amylase behaupten, während die Sucrase trotz aller Bemühungen nur ein einziges Mal — und da nicht völlig einwandfrei — nachgewiesen werden konnte.

Die Technik dieser Versuche soll bei einer späteren Gelegenheit besprochen werden.<sup>1)</sup>

Ob Milchzucker invertierende Enzyme bei der Gärung in Milch entstehen, haben wir nicht näher untersucht; jedenfalls aber ist in solchen Kulturen, wie die Gärprobe mit Dextrosehefe ergab, keine Dextrose gebildet.

Labenzyme entstehen, wie zu erwarten, in den Milchkulturen nicht; die Gerinnung des Caseïns erfolgt durch Säurewirkung. Man darf sich durch den Umstand nicht irreführen lassen, dafs auch in Milchkulturen, die Kreide enthalten, Caseïnfällung eintritt; es setzt sich die durch das Sterilisieren geballte Kreide eben nur allmählich mit den entstandenen Säuren um, so dafs die Reaktion der Milch und später der Molke stets eine deutlich saure ist.

#### **Giftigkeit und Pathogenität.**

Der »bewegliche« Buttersäurebacillus vom Typus »Amylobakter« ist nach unseren bisherigen Erfahrungen für Meerschweinchen nicht pathogen. Wir glauben, dafs, wenn bewegliche Buttersäurebacillen als Krankheitserreger beschrieben werden, es sich um Bakterien handelt, die einer anderen Gruppe zugehören. Hierüber soll später noch ausführlich die Rede sein.<sup>2)</sup>

1) Auch der unbewegliche Buttersäurebacillus bildet — wie wir uns nachträglich durch bessere Methodik überzeugen konnten — in den Kulturen Diastasen, und zwar sowohl Amylase als auch Sucrase.

2) Über die pathogenen Varietäten des unbeweglichen Buttersäurebacillus bezw. die Zugehörigkeit des Gasphlegmonebacillus und des Rauschbrandbacillus zur Gruppe desselben, ist an anderer Stelle bereits kurz berichtet worden (Münch. med. Wochenschr., 1900 u. 1901).

**Verbreitung des beweglichen Buttersäurebacillus.**

Der bewegliche Buttersäurebacillus scheint so wie der unbewegliche Buttersäurebacillus in ganz allgemeiner Verbreitung in der Natur vorzukommen, indem er in den verschiedensten Ausgangsmaterialien, wie in Erde, in Wasser (Wiener Hochquellwasser), in verschiedenen Käsesorten, in einer Reihe von Mehlproben — ausnahmsweise auch in Marktmilch — aufgefunden wurde.

Am besten hält man sich bei seinem Nachweise an das Beijerincksche Rezept, das sich auch uns gut bewährt hat.

Man übergießt in einem enghalsigen Gefäße 5 g Glykose und 5 g feingemahltes Fibrin (oder auch Pepton) mit 100 g Wasser und bringt die Mischung zum Sieden; in die siedende Flüssigkeit trägt man das zu prüfende Material, wie Gartenerde, Schlamm, Mehl von Cercalien etc. in kleinen Mengen ein. Am nächsten Tage ist in der bei 37° gehaltenen Probe lebhaft Gärung eingetreten, die fast stets durch den beweglichen Buttersäurebacillus hervorgerufen ist.

Weniger häufig gelang uns seine Anreicherung, wenn wir die Ausgangsmaterialien in steriler Milch erhitzen, ähnlich wie wir behufs Gewinnung des unbeweglichen Buttersäurebacillus verfahren waren.

Verschiedene Gründe sind wohl dafür maßgebend, daß in solchen Fällen der unbewegliche Buttersäurebacillus meist die Oberhand gewann. Einmal dürften bei dem Botkinschen Verfahren (Erhitzen durch 10—30 Minuten im strömenden Dampfe) die wenig widerstandsfähigen Sporen des *Granulobacillus mobilis* in den meisten Fällen zu Grunde gehen, dann ist aber wohl weiters der Schluß berechtigt, daß eine Proliferation derselben bei diesem Verfahren deshalb meist ausbleibt, weil für viele Varietäten der beweglichen Art die Milch keinen günstigen Nährboden vorstellt (s. o.). Daß der unbewegliche Buttersäurebacillus in den nach Beijerincks Angabe angelegten Vorkulturen niemals seinen beweglichen Verwandten zu verdrängen vermag, kann darin seinen Grund haben, daß letzterem die Dextrose in

besonders hohem Maße zusagt; doch konnten wir in den Dextrose-Reinkulturen beider Arten Unterschiede in der Gärungsintensität nicht wahrnehmen.

Die in der vorliegenden Abhandlung gegebene Beschreibung des »beweglichen« Buttersäurebacillus läßt erkennen, daß wohl manche Beziehungen ihn mit dem unbeweglichen Buttersäurebacillus verbinden, daß aber genügend Unterschiede vorhanden sind, die die Aufstellung einer eigenen Art rechtfertigen und geboten erscheinen lassen.

Sind schon für den Fernerstehenden eine Reihe von leicht kenntlichen Verschiedenheiten gegeben, wie vorhandene oder fehlende Beweglichkeit, Peptonisierung der Gelatine und der Mangel einer solchen, anderes Aussehen der Kolonien u. s. w., so ist für denjenigen, der sich lange und viel mit dieser Gruppe von Bakterien beschäftigt hat, der Gesamtcharakter derselben, welcher sich unter wechselnden biologischen Bedingungen stets unverkennbar ausprägt, vor allem maßgebend und entscheidend.

Wir möchten auf letzteren Umstand besonderen Wert legen, hauptsächlich auf Grund von Erfahrungen aus der letzten Zeit, die uns belehrten, daß manche bis dahin für charakteristisch gehaltene Eigenschaft der »unbeweglichen« Art verloren gehen, eine fehlende Fähigkeit zeitweise auch erworben werden kann, ohne daß die Zugehörigkeit zum Typus hierdurch auch nur im geringsten zweifelhaft würde.

Die Einzelheiten hierüber zu bringen, ist einer späteren Abhandlung vorbehalten, in ihr soll auch von den Übergangsformen zwischen »beweglichen« und »unbeweglichen« Buttersäurebacillen die Rede sein.

### Protokollauszüge.

#### Verbreitung.

1. Milch in Originalflasche aus Breslau eingesandt; 15 Minuten im strömenden Dampfe sterilisiert. Typische Gärung. Auf Zuckeragarplatten wetzsteinförmige Kolonien mit Gasblasen; hiervon Reinkultur des beweglichen Buttersäurebacillus.

2. Milch aus Wien, nach 12 Min. langem Erhitzen im Dampftopfe gären (aërobe Milchsäurebakterien?); im Brutschranke deutliche Gärung mit Buttersäuregeruch; auf den Platten Reinkultur von beweglichen Buttersäurebacillen.

3. Sterile Milch mit 20 ccm Wiener Hochquelleitungswasser versetzt, hierauf 5 Min. im strömenden Dampfe erhitzt; stürmische Gärung; bewegliche Buttersäurebacillen, anscheinend in Reinkultur.

4. Sterile Milch, mit einem linsengroßen Stück Schweizerkäse beschickt; 15 Min im Dampftopf erhitzt; neben aëroben Bakterien und unbeweglichen Buttersäurebakterien Isolierung von beweglichen Buttersäurebacillen.

5. Sterile Milch mit »Schmierkäse« geimpft; typische Gärung. Neben unbeweglichen Buttersäurebacillen auch bewegliche reingezüchtet.

6. Rohrzuckerbouillon mangelhaft sterilisiert, bei der Prüfung im Thermostaten stürmisch vergoren; bewegliche Buttersäurebacillen in praktischer Reinkultur.

7. Sechs Proben mit Gartenerde, nach Beijerinck (s. o.) angesetzt. Nach 48 Stunden Zuckeragarplatten; überall bewegliche Buttersäurebacillen.

8. Fünf Proben, ähnlich wie 7., doch statt Fibrin Pepton zugesetzt. Roggen- und Hafermehl; in allen Proben bewegliche, granulose tragende Buttersäurebacillen.

9. Peptonbouillon mit 1% milchsaurem Kalk. Sehr fette Gartenerde eingebracht. Nach 48 Stunden sehr schwache Gärung; neben dünnen, beweglichen Stäbchen auch granuloseförende, bewegliche Buttersäurebacillen daraus isoliert.

#### Untersuchung der Gärprodukte.

Die Methoden gleichen völlig den in der ersten Abhandlung ausführlich beschriebenen, weshalb hier nicht darauf eingegangen wird. Kleine Abweichungen vom gewöhnlichen Analysengang sind in den Protokollauszügen verzeichnet.

1. Milch  $2\frac{1}{3}$  l; frei von Milchsäure; Kreide. Mit »Breslauerstamm« geimpft; Bunsenventil. Nach 14 Tagen 2400 ccm in Arbeit genommen; in gewöhnlicher Weise verarbeitet. 16 g Barytsalz der flüchtigen Säuren; keine fixen Säuren, keine Alkohole. Barytgehalt des Salzes = 46,2% Ba (noch kohlen sauren Baryt enthaltend). Milchzuckergehalt der Molke = 2,65%; Eiweißgehalt der Molke = 0,71%.

2. Milch 2 l. Kontrolle frei von Milchsäure. »Breslauerstamm«. Bunsenventil, Kreide. Nach 12 Tagen verarbeitet. 18 g buttersaures Ba, keine fixen Säuren, keine Alkohole. Der größte Teil des Barytsalzes wird mit Schwefelsäure zersetzt und im Schacherl'schen Apparate mit Äther extrahiert. Absättigen mit Baryt, fraktioniertes Fällen mit Silbernitrat.

Erste Fraktion = 1,6172 g; hiervon wurden 1. 0,3971 g abgewogen und verascht; Gewicht des metallischen Silbers = 0,2215 g, entsprechend einem Silbergehalt von 55,9%; 2. 0,2676 g Silbersalz gaben beim Veraschen einen Rückstand von 0,1493 g Silber; der Silbergehalt dieser Probe betrug = 55,8%.

Zweite Fraktion = 2,9137 g; 0,3804 g Salz geben nach dem Veraschen einen Silberrückstand von 6,2140 g = 56,2%.

Das Filtrat von der zweiten Fraktion schwärzte sich in kürzester Zeit. was auf Ameisensäure schließen läßt.

3. Milch. Buttersäurebacillus aus Hochquellwasser. Wie 2. 12 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine Alkohole, keine fixen Säuren.

4. Milch. Buttersäurebacillus aus Schweizerkäse. 11,8 g Ba-Salz der flüchtigen Säuren, keine Alkohole, keine fixen Säuren.

5. Milch. Kontrolle frei von Milchsäure. Buttersäurebacillus aus Schmierkäse. 10 g buttersaurer Baryt; keine fixen Säuren und Alkohole.

6. Milch. Bejerinckscher Stamm. Paraffinverschlufs. Kreide. Erst nach 4 Tagen Gärung geronnen. 7,6 g Barytsalz der flüchtigen Säuren; geringe Mengen fixer Säure.

7. 30 g Milchzucker in künstlicher Nährlösung und 10 g Pepton. »Breslauer Stamm«. 13 g buttersaures Ba, geringe Mengen fixer Säure.

8. Wie 7. Paraffinverschlufs. Bejerinckscher Stamm. 12 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, keine fixen Säuren.

9. Wie 7. Ein von v. Hibler in Innsbruck als *B. sporogenes* Klein übersandter Stamm. 15 g buttersaures Ba, geringe Mengen Milchsäure.

10. Wie 7. Stamm »Hochquell«. 15 g buttersaures Ba, geringe Mengen Milchsäure.

11. 40 g Dextrose (kryst. Kahlbaum) in Peptonbouillon (2 l) mit Paraffinverschlufs. Kreide. »Breslauer Stamm«. Nach 4 Wochen verarbeitet. Zucker vollständig vergoren. 25 g buttersaurer Baryt, 5 g milchsaures Calcium, (Ca-Gehalt = 18,1%), keine Alkohole.

12. Wie 11. »Breslauerstamm«. 12 g buttersaures Ba, 5 g milchsaures Ca.

13. 30 g Dextrose in 1 l Peptonbouillon (Paraffinverschlufs), Kreide. Aus spontan vergorener Rohrzuckerbouillon isolierter Stamm. Zucker nicht vollständig zersetzt. 7,5 g buttersaurer Baryt; 3,2 g Kalksalz der fixen Säuren in großen Drusen aus der wässrigen Lösung krystallisierend.

14. 30 g Dextrose in 1 l Peptonbouillon und Kreide. Paraffinverschlufs; Bejerinckscher Stamm. 7,2 g Barytsalz der flüchtigen Säuren, 5,3 g Kalksalz der fixen Säuren. Alkohole dem Geruche nach vorhanden, doch nicht aussalzbar.

15. 30 g Dextrose in 1 l künstlicher Nährlösung mit Pepton und Kreide. Bejerinckscher Stamm. In der Botkin-Glocke durch 7 Tage gehalten. 14 g Barytsalz flüchtiger Säuren, 1,3 g Kalksalz fixer Säure, keine Alkohole.

16. 30 g Dextrose in 1 l künstlicher Nährlösung mit Pepton und Kreide. Bejerinckscher Stamm. 11 g Barytsalz flüchtiger Säure. Von den fixen Säuren etwa  $\frac{1}{3}$  verloren; der Rest mit pulv. Zinkcarbonat gekocht = 1,9 g milchsaures Zink; zwei Krystallisationen, beide optisch aktiv.

17. 30 g Dextrose in 1,5 l Bouillon und 15 g Pepton und Kreide. Paraffinverschlufs. *Bacillus saccharobutyricus* Klecki. 10,4 g Barytsalz flüchtiger Säure, 13,2 g Kalksalz fixer Säure. Keine Alkohole.

18. 30 g Dextrose, künstliche Nährlösung und Pepton; Paraffin. Kleckischer Stamm; 7 Tage alte Kultur. 4,7 g Barytsalz flüchtiger Säure, 2,3 g Kalksalz fixer Säure. Letzteres durch Ausäthern der angesäuerten wässerigen Lösung und Kochen mit  $ZnCO_3$  ins Zinksalz übergeführt; zweimal umkrystallisiert. Starke Linksdrehung der Lösung.

19. Wie 17. In gleicher Weise verarbeitet; das Kalksalz der fixen Säure ins Zinksalz übergeführt; zweimal umkrystallisiert, starke Linksdrehung der wässerigen Lösung.

20. 30 g Dextrose, 1 l Peptonbouillon und Kreide, Paraffinverschluss. Zehntägige Kultur von *Amylobakter Gruber*. 9 g Barytsalz der flüchtigen Säure, 6,7 g Kalksalz der fixen Säure, keine Alkohole.

21. 30 g Dextrose in künstlicher Nährlösung mit Pepton und Kreide, Paraffinverschluss. *Amylobakter Gruber*. 13 g Barytsalz flüchtiger Säure, 0,9 g Kalksalz fixer Säure.

22. Wie 21. *Amylobakter Gruber*. 5 g buttersaures Ba; 2 g milchsaures Zink, optisch inaktiv.

23. 30 g Dextrose in 1 l künstlicher Nährlösung mit Pepton und Kreide, Paraffinverschluss. Beweglicher Buttersäurebacillus aus Schmierkäse. 11 g buttersaures Ba; 3,2 g Zinksalz der fixen Säure. Optisch inaktiv.

24. 30 g Dextrose. Wie 23. Buttersäurebacillus »Hochquell«. 11 g buttersaures Ba, 3 g Zinksalz der fixen Säure. Erste Krystallisation wiederholt gereinigt, optisch inaktiv. Mutterlauge mit Alkohol-Äther gefällt. Keine Alkohole.

25. 30 g Dextrose. Wie 23. »*B. sporog. Klein*« (v. Hible). 12 g buttersaures Ba; 3,1 g milchsaures Zink (optisch inaktiv).

26. 30 g Saccharose (käuflich, krystallisiert) in künstlicher, mit Pepton versetzter Nährlösung; mit Paraffin überschichtet. Beijerinck'scher Stamm. Nach 12 Tagen verarbeitet. 11 g buttersaures Ba. Die fixen Säuren mit Kreide abgesättigt und nach dem Verjagen des Wassers in heissem Methylalkohol gelöst; mit Äther gefällt. 1,5 g Ca-Salz. Im Rest Kalkbestimmung gemacht, die einen Gehalt von 0,67 g Milchsäure berechnen liefs. Im ganzen demnach 1,87 g Milchsäure. (Diese Methode der Reindarstellung des milchsauren Kalkes wurde später aus verschiedenen Gründen wieder verlassen.)

27. 30 g Saccharose. Wie 26. »*B. sporogenes Klein*« (v. Hible). 17 g buttersaures Ba; Kalksalzkrystallisation der fixen Säure aus Methylalkohol hochgradig hygroscopisch und zerfließend. Die wässrige Lösung des Kalksalzes mit etwas mehr als der theoretischen Menge Oxalsäure versetzt und das Filtrat mit  $ZnCO_3$  gekocht. Beim Eindampfen Krystallisation. Erste gereinigte Krystallisation = 1,2 g. Optisch inaktiv. Krystallwasser gehalt (Krystalle 5 Tage an der Luft getrocknet, offenbar schon etwas verwittert) = 17,3% (18,3% = 3 Moleküle Krystallwasser). Zinkgehalt 33,2% (0,236 g Substanz — 0,0784 g  $ZnO$ ).

28. 30 g Saccharose. Wie 26. Beweglicher Buttersäurebacillus aus Schmierkäse. 10 g buttersaures Ba; 1,98 g milchsaures Ca. Keine Alkohole.

29. 30 g Saccharose. Wie 26. Stamm »Hochquell«. 9 g buttersaures Baryum; zwei Krystallisationen des Zinksalzes der fixen Säure, beide inaktiv.

30. 30 g Saccharose, künstliche Nährlösung mit Pepton und Kreide. Paraffinverschluss. Amylobakter Gruber. Der Kolbeninhalt wird im Vacuum eingedampft, dann angesäuert und mit Äther extrahiert. (9 Tage.) Nach dem Verjagen des Äthers wird der Rückstand in Wasser gelöst und destilliert; die flüchtigen Säuren werden mit Baryt, die nicht flüchtigen mit  $ZnCO_3$  abgesättigt. 10 g buttersaures Ba, 2,1 g milchsaures Zn

31. 30 g Saccharose. Wie 26. Aus Rohrzuckerbouillon gezüchteter Stamm. Geringe Mengen buttersaures Ba (2,3 g), 9,7 g milchsaures Zink. Starke Linksdrehung der Krystalle. Keine Alkohole. (Das Mengenverhältnis der fixen und flüchtigen Säuren in diesem, völlig einwandfreien Versuche ist ein analoges wie beim unbeweglichen Buttersäure bacillus. Wir waren später nie mehr in der Lage, bei einem beweglichen Buttersäurebacillus eine ähnliche Zersetzung zu beobachten; auch derselbe Stamm, in Rohrzuckerbouillon ein zweites Mal untersucht, wies dieses Verhalten nicht mehr anf.)

32. 30 g Saccharose. Wie 26. Ein aus Erde gezüchteter Stamm. 5 g buttersaures Ba, 4,2 g milchsaures Zink. Außerdem circa 4 ccm eines zwischen 115 und 118° C. übergehenden Alkohols, der demnach als Butylalkohol anzusehen ist.

(Der gleiche Stamm bildete in zwei weiteren Versuchen, in denen wir nur auf Alkohole geprüft haben, keine Alkohole und ist dieser Versuch somit als der einzige in einer großen Reihe anzusehen, in welchem uns der Nachweis größerer Alkoholmengen gelang)

33. 20 g Saccharose in 1,5 l Peptonbouillon. »Breslauerstamm«. 10 g buttersaures Ba, 4,7 g Ca-Salz der fixen Säure.

34. 30 g Saccharose in künstlicher Nährlösung mit Pepton und Kreide. Ein aus Fitzschem Sporenkalk gezüchteter Stamm. 5 g buttersaures Ba; 2,1 g milchsaures Zink, keine Alkohole. (Linksdrehung der Lösung)

35. 40 g verkleisterter Stärke in Peptonbouillon. Breslauerstamm. 15 g buttersaures Ba, 2,8 g Kalksalz der fixen Säure, keine Alkohole.

36. 50 g verkleisterter Stärke in künstlicher Nährlösung und Pepton. Bejerinckscher Stamm. Im Filtrat Zuckerreaktion. 10 g buttersaures Ba, keine Alkohole, 2,7 g milchsaures Ca.

37. 30 g verkleisterter Stärke in künstlicher Nährlösung und Pepton; in der Botkinglocke gehalten. Stamm »Hochquell«. 19 g buttersaures Ba, 2,9 g milchsaures Zn.

38. 35 g verkleisterter Stärke in künstlicher Nährlösung und Pepton. (Paraffinverschluss). »B. sporogenes Klein« (v. Hübner). 11 g buttersaures Ba, 3,78 g milchsaures Zink.

39. 30 g verkleisterter Stärke in künstlicher Nährlösung und Pepton. Paraffinverschluss. Kleckis Stamm. 9 g buttersaures Ba, 1,8 g milchsaures Zink; letzteres stark linksdrehend.

40. 40 g Glycerin in einfacher Nährlösung und Pepton. In der Botkinglocke 20 Tage gehalten. »Breslauerstamm«. Bei der Destillation

schwacher Geruch nach Aldehyden. Die flüchtigen Säuren, mit Baryt neutralisiert, erst durch kleine Mengen salpetersaures Silber von Salzsäure befreit, hierauf mit überschüssiger Silberlösung gefällt. Der entstandene Niederschlag, abgesaugt, gewaschen, getrocknet (4,2 g), enthielt 56,2% Ag. (0,8304 g Substanz, 0,4667 g Silber). Keine Alkohole; kleine Mengen fixer Säuren gebildet (eine Krystallisation, Mutterlauge mit Alkohol-Äther gefällt).

41. 30 g Glycerin in 1 l einfacher Nährlösung mit Pepton und 5 g Liebig'schem Fleischextrakt. (Paraffinverschluss.) Beijerinck'scher Stamm. 7 g Barytsalz der flüchtigen Säuren. Kleine Mengen fixer Säuren (wegen des Gehaltes der Lösung an Fleischextrakt nicht ohne weiteres als Gärprodukt zu deuten). Keine Alkohole.

42. 30 g Dextrose in 1 l peptonfreier Bouillon. Botkin'sche Glocke. Amylobakter Gruber (der gewaschene Bodensatz einer Pepton-Dextrose-Kultur). Stürmische Gärung, nach 48 Stunden einsetzend. Nach 14 Tagen untersucht. Keine Alkohole. 8 g buttersaurer Baryt, 3 g milchsaures Zink (inaktiv).

43. Gasanalyse. Amylobakter Gruber. 30 g Dextrose in künstlicher Nährlösung und 10 g Pepton. Dickwandiger Kolben, seitlicher Ansatz am Gasenbindungsrohr zur Verbindung mit der Wasserstrahlpumpe (Sieden im Vacuum). Auffangen der Gase im Eudiometer über Wasser. Analyse der Gase nach Ansammlung von etwa 300 ccm Gas. Abmessen von 100 ccm in der Hempelschen Burette. Überleiten in die Kalilauge-Pipette.  $\text{CO}_2 = 10\%$  des Gasgemenges. Von dem entkohlensäurten Gas wird ein Teil in ein graduiertes Eudiometer mit Niveaugefäß (Hg) gesaugt = 21,5 ccm. Nach Hinzuleiten von Sauerstoff aus geschmolzenem chlor-sauren Kali, Volumen = 37,4 ccm; nach der Explosion = 20,2 ccm. Nach abermaligem Überleiten in die Kalilaugepipette und Zurückführen = 20,1 ccm. Nach Überleiten in die Pyrogallolpipette und Zurückführen = 8,4 ccm. Das analysierte Gasgemenge bestand demnach aus 10% Kohlensäure, 47,97% Wasserstoff und 42,03% Luft. (Schlechte Dichtung des Apparates! Höherer Stickstoffgehalt der analysierten Luft [86,6% N] als der Zusammensetzung der Atmosphäre entspricht, wegen selektiver Absorption durch das Sperrwasser.)

Die Gärungsgase bestanden demnach aus 17,25% Kohlen-säure und 82,75% Wasserstoff.

Sumpfgas wurde keines gebildet.



# Beitrag zur Biologie der Rattentrypanosomen.

Von

Oberarzt Dr. **Jürgens.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Für die genauere Kenntnis der Flagellaten, welche seit dem Nachweis ihrer Bedeutung für die Nagana, Surra und Dourine-Krankheit lebhaft an Interesse gewonnen haben, erscheint das Studium der scheinbar nicht pathogenen Trypanosomen des Rattenblutes nicht unwichtig. Auf Veranlassung von Herrn Stabsarzt Dr. v. Wasielewski wurde daher die Prüfung einer Reihe von Fragen über das Verhalten dieser Parasiten innerhalb und außerhalb des Tierkörpers vorgenommen.

Die ersten erfolgreichen Übertragungsversuche der Rattentrypanosomen auf andere Ratten wurden von Koch ausgeführt. Zwar berichtet schon Lingard (1895) über gelungene Überimpfungen auf Kühe, Pferde, Affen und Feldmäuse, doch kann man diesen positiven Versuchen keinen allzu hohen Wert beilegen, weil die Erreger der Surra-Krankheit und die anscheinend harmlosen Rattenblutparasiten nicht scharf auseinander gehalten werden. Auch geben sämtliche späteren Untersucher übereinstimmend an, daß eine Übertragung auf andere Tiere als nicht infizierte Ratten mißlingt.

Robert Koch (1898) erkannte den Unterschied zwischen Rattentrypanosomen und den Parasiten der Surra-Krankheit und überimpfte einwandfrei Rattentrypanosomen mit positivem Erfolg auf nicht infizierte Ratten, während ihm die Übertragung auf andere Tiere als Ratten nicht gelang.

Genauere Studien über die uns beschäftigenden Organismen sind dann von Rabinowitsch und Kempner (1898), sowie von v. Wasielewski und Senn (1900) angestellt worden. Es wurde parasitenhaltiges Rattenblut, mit steriler Kochsalzlösung oder Bouillon vermischt, dem Versuchstier in die Bauchhöhle gespritzt. Am 3. oder 4. Tage nach der Impfung traten spärliche Parasiten in dem Blut des geimpften Tieres auf, und zwar sahen v. Wasielewski und Senn anfangs stets nur erwachsene Exemplare, während Rabinowitsch und Kempner fast nur »Entwicklungsformen« am 1. und 2. Tage ihres Auftretens im Schwanzblut fanden, darunter allerdings einige wenige ausgewachsene Parasiten. Die Inkubationszeit dauert also, wie übereinstimmend angegeben wird, etwa 3—7 Tage, selten kürzere oder längere Zeit, und nur in Bezug auf die Form der ersten Ankömmlinge im Schwanzblut der geimpften Ratten stehen sich zwei Beobachtungen gegenüber und geben Veranlassung, die Frage nach der Hauptentwicklungsstätte der Parasiten verschieden zu deuten. Rabinowitsch und Kempner glauben aus ihren Beobachtungen schliessen zu müssen, daß die Parasiten in der Bauchhöhle zur Entwicklung kommen und als Entwicklungsformen in die Blutbahn vordringen, während v. Wasielewski und Senn die Hauptentwicklung im Blute vor sich gehen lassen und glauben, daß eine Überwanderung hauptsächlich von den erwachsenen und jungen Parasiten ausgeführt wird, während die in Entwicklung begriffenen durch ihre GröÙe verhindert werden, durch die Lymphbahnen ins Blut überzutreten. Bei der Besprechung meiner eigenen Versuche komme ich auf diese Frage zurück.

Mesnil und Gazeau (1901) verwendeten bei ihren Impfungen defibriniertes Blut oder nahmen einen Zusatz von Oxal- oder Citronensäure. Sie konstatierten bisweilen schon am 1.—3. Tage nach der Impfung das Auftreten der Parasiten im Blut, aber immer erst nach dem 3.—5. Tage fanden sie eine gröÙere Anzahl, welche dann innerhalb von 24 Stunden stark zunahm. Während dieser Zeit gelang es ihnen dann auch, alle Entwicklungsstadien aufzufinden.

Das Ausgangsmaterial, womit ich meine eigenen Versuche anstellte, bildeten zwei wilde graue Ratten, welche ziemlich zahl-

reiche Trypanosomen beherbergten. Die Übertragung der Parasiten auf weiße Ratten gelang in allen 47 Fällen. Es wurde etwas Blut vom Schwanz der infizierten Ratten entnommen, mit etwa der gleichen Menge Kochsalzlösung vermischt und dem Versuchstier in die Bauchhöhle gespritzt. Der erste Nachweis der Parasiten im Schwanzblut des geimpften Tieres gelang meistens am 3. oder 4. Tage, selten später. Die Beobachtung von Mesnil und Gazeau, daß sich öfters schon am 1.—3. Tage Parasiten im Blute finden, wird durch meine Versuche bestätigt, doch gelingt ein so frühzeitiger Nachweis nur nach der Impfung mit großen Dosen. In allen Fällen, wo erwachsene Tiere mit 0,1 ccm oder mit noch kleineren Mengen geimpft wurden, konnten nie vor dem 3. Tage Trypanosomen im Blute aufgefunden werden. Wurden dagegen kleine Tiere mit 0,5—1,0 ccm trypanosomenhaltigem Blute geimpft, so erschienen stets nach wenigen Stunden, in einzelnen Fällen bereits nach 20 Minuten, Parasiten im Schwanzblut des geimpften Tieres. Eine merkliche Vermehrung der Flagellaten machte sich aber niemals von diesem Moment des ersten Auftretens im Blut bis zum 3. oder 4. Tage nach der Impfung geltend; erst nach dieser Zeit trat ziemlich plötzlich eine Überschwemmung des Blutes mit Trypanosomen ein. Offenbar handelt es sich hier nicht um eine abgekürzte Inkubationszeit, sondern um ein Überwandern der eingeimpften Parasiten in die Blutbahn. Denn unter diesen so frühzeitig im Blute auftretenden Trypanosomen fanden sich niemals Vermehrungsformen oder kleine, junge Exemplare; stets waren es alte erwachsene Parasiten, die den eingeimpften genau glichen. Erst am 3. Tage oder noch später erschienen neben diesen ausgewachsenen Formen plötzlich ganz kleine, junge und große, sich zur Vermehrung anschickende; und am nächsten Tage waren dann Vermehrungsformen und alle Entwicklungsstadien im Blute zu finden. Auch Gazeau und Mesnil fanden niemals vor dem 3. Tage eine größere Menge Parasiten, und Vermehrungsformen sahen sie ausschließlich nur nach dem 4. Tage. Wenn man also unter der Inkubationszeit diejenige Zeit versteht, welche vom Moment der Impfung bis zum Auftreten einer neuen

Parasiten-Generation im Blut verstreicht, so beträgt diese Inkubationszeit in der Regel mindestens drei Tage. Auf einen Fall, der von Rabinowitsch und Kempner berichtet wird und gegen diese Regel zu sprechen scheint, komme ich weiter unten zurück.

Da es nahe liegt, anzunehmen, daß die Anzahl der verimpften Parasiten auf den Nachweis des ersten Auftretens im Schwanzblut von merklichem Einfluß ist, wurden in dieser Richtung Versuche angestellt und Ratten mit verschiedenen großen Dosen trypanosomenhaltigen Blutes geimpft. Es zeigte sich ein ähnliches Verhalten, wie es Mesnil und Gazeau bei den Erregern der Nagana beobachtet haben, daß nämlich die Quantität der überimpften Parasiten keinen merklichen Einfluß auf die Inkubationszeit ausübt. Differenzen von 0,5 und 0,0005 ccm machten sich für die Inkubationszeit überhaupt nicht bemerkbar, und erst ganz bedeutend kleinere Mengen (0,000005 ccm) bewirkten eine Verzögerung um 1—2 Tage. Diese kleinen Dosen wurden durch Verdünnung mit Kochsalzlösung derart hergestellt, daß zunächst 0,1 ccm Blut mit neun Teilen Kochsalzlösung verdünnt wurde, davon dann wiederum ein Teil mit neun Teilen vermischt und so fort bis 1 ccm der Lösung die gewünschte Menge Bluts enthielt. Durch diese allmählich vorgenommene Verdünnung erhält man eine ziemlich gleichmäßige Verteilung des Blutes in der Kochsalzlösung und damit eine genauere Dosierung. Andererseits muß man aber auch möglichst rasch arbeiten, und nach Herstellung der beabsichtigten Verdünnung das Impfmaterial dem Versuchstier sofort in die Bauchhöhle spritzen, damit die schädigende und selbst lähmende Wirkung, welche durch die Konzentrationsänderung des die Parasiten umgebenden Mediums verursacht wird, nicht allzulange bestehen bleibt.

Eine derartige Verzögerung des ersten Nachweises der Flagellaten im Schwanzblut tritt auch ein bei Überimpfung von alten, lange Zeit im Eisschrank aufbewahrten Trypanosomen. Laveran und Mesnil (1900) konnten bei Übertragung von 47 Tage altem Blut erst am 6.—7. Tage die ersten Parasiten im Schwanzblut nachweisen. Die von mir vorgenommenen Infizierungsversuche

mit 32 und 53 Tage altem Blut ergaben dasselbe Resultat. Da in solchem, Wochen und Monate im Eisschrank gestandenen Blut sich gewöhnlich nur sehr wenige Trypanosomen lebensfähig erhalten, so erscheint die Ähnlichkeit mit dem Verhalten sehr kleiner Dosen nicht wunderbar.

Einen merkwürdigen Einfluss auf die Inkubationszeit zeigte das Entwicklungsstadium der überimpften Parasiten. Wurde nämlich zur Übertragung das Blut einer solchen Ratte verwendet, welche noch Entwicklungsstadien beherbergte, so dauerte die Inkubationszeit bei dem Versuchstier nicht die üblichen 3—4, sondern nur 1—2 Tage. Bereits 24 Stunden nach der Impfung erschienen Parasiten im Schwanzblut und schon am nächsten oder spätestens übernächsten Tage fand die Überschwemmung des Blutes mit Trypanosomen statt. Während also bei einer Impfung mit alten erwachsenen Flagellaten sich erst nach 3—4 Tagen frühestens eine Vermehrung der eingeführten Parasiten bemerkbar machte, geschah dies bei Impfungen mit Entwicklungsstadien oder Jugendformen zwei Tage früher. Augenscheinlich gebrauchen die alten überimpften Trypanosomen in der Bauchhöhle oder im Blut des neuen Wirtes eine gewisse Zeit, bevor sie sich zur Vermehrung anschicken. Der Vorgang der Impfung, sowie die Einflüsse des neuen Wirtes scheinen auf die alten erwachsenen Formen entwicklungshemmend einzuwirken, während die Jugend- und Vermehrungsformen in ihrer Entwicklungsenergie weniger gestört werden und die hemmenden Einflüsse leichter zu überwinden vermögen.

Auf diese Weise erklärt sich nun auch die oben erwähnte, von Rabinowitsch und Kempner einmal beobachtete eintägige Inkubationszeit. Das Versuchstier (Ratte Nr. 19) wurde mit dem Blut einer Ratte geimpft, welche erst seit zwei Tagen Parasiten in ihrem Blute hatte, also ohne Frage Entwicklungsstadien beherbergte.

Hier ist der Ort, um auf die Frage nach der Hauptentwicklungsstätte der Trypanosomen zurückzukommen. Wie schon oben erwähnt, sprechen die Beobachtungen von Rabinowitsch und Kempner für die Entwicklung in der Bauchhöhle,

die von v. Wasielewski und Senn für eine solche im Blut. Zunächst bestätigen meine Beobachtungen die von den letztgenannten Verfassern gemachte Angabe, daß unter den ersten Ankömmlingen im Schwanzblut einer geimpften Ratte sich niemals Teilungsformen finden. Es wurden in jedem einzelnen Fall immer eine ganze Reihe von Präparaten in frischem und gefärbtem Zustand genau durchmustert, aber stets fanden sich nur junge oder ausgewachsene schlanke Exemplare, niemals Teilungsformen. Wenn nun diese Beobachtung schon sehr dafür spricht, daß die Überwanderung aus der Bauchhöhle in die Blutbahn nicht von den Vermehrungsformen, sondern von erwachsenen und jungen Individuen ausgeführt wird, so läßt sich diese Frage experimentell direkt durch Überimpfung von großen Mengen Teilungsformen zur Entscheidung bringen. Da nämlich die Parasiten sofort nach der Impfung anfangen, aus der Bauchhöhle ins Blut überzuwandern, so daß sie bei großen Dosen schon nach wenigen Stunden im Schwanzblut nachzuweisen sind, so müßten nach einer Impfung mit Entwicklungsstadien nach der Theorie von Rabinowitsch und Kempner viele Teilungsformen im Schwanzblut erscheinen, während das Fehlen dieser Formen und das Auftreten von jungen und schlanken erwachsenen Individuen für die Richtigkeit der v. Wasielewskischen Annahme sprechen würde. Es zeigte sich nun in der That, daß bei diesen Versuchen immer nur erwachsene und junge Trypanosomen ins Blut überwanderten, manchmal fand sich auch wohl ein dicker, sich zur Teilung anschickender Parasit, aber nie wurden Rosetten oder andere Teilungsstadien gefunden, die doch im verimpften Material so zahlreich vertreten waren. Ihre größeren Dimensionen lassen augenscheinlich den Übertritt ins Blut durch die Lymphgefäße nicht zu.

Die in die Bauchhöhle gebrachten Parasiten schreiten also hier nicht gleich zur Entwicklung, sondern einige von ihnen wandern sofort ins Blut und beginnen dort erst nach 2—3tägigem Aufenthalt sich zu vermehren. Das plötzliche Auftreten von jungen Formen am 3. Tage nach der Impfung neben diesen erwachsenen Parasiten beweist, daß inzwischen auch in der Bauch-

höhle eine Vermehrung stattgefunden hat und Jugendformen ins Blut übergewandert sind. Die am 3.—4. Tage im Blut vorhandenen Trypanosomen sind demnach zum Teil sofort nach der Impfung aus der Bauchhöhle ins Blut übergewandert, zum Teil haben sie sich bereits aus den eingepflichten in der Bauchhöhle entwickelt und sind dann als Jugendformen ins Blut übergetreten. Es besteht demnach die v. Wasielewskische Annahme zu Recht, daß nämlich die nach 4—5 Tagen im Blute vorhandenen zahlreichen Kolonien herrühren:

1. von den direkt übergewanderten, im Blute bereits in zweiter Generation geteilten Parasiten,
2. von den in einer Generation in der Bauchhöhle zur Teilung geschrittenen, als Jugendformen ins Blut übergetretenen und hier in einer neuen Generation vermehrten Parasiten.

Ohne Frage bildet also das Blut den günstigsten Nährboden und den Hauptvermehrungsort. Merkwürdig erscheint es nur, warum nicht alle eingepflichten Trypanosomen gleich aus der Bauchhöhle ins Blut überwandern, denn ein mechanisches Hindernis schaffen sie sich ja erst selbst durch ihre Größenzunahme nach zweitägigem Verweilen. Noch wunderbarer aber wäre es, wenn sie nach der Beseitigung dieses selbstgeschaffenen Hindernisses, nämlich nach vollendeter Teilung und Loslösung der einzelnen Jugendformen aus der Peritonealflüssigkeit völlig verschwinden würden, wie dies Rabinowitsch und Kempner angeben. Über einen ähnlichen Befund berichtet übrigens neuerdings auch Schilling bei der Surra-Krankheit der Pferde. In den ersten  $3 \times 24$  Stunden nach der intraperitonealen Impfung sollen sich im Peritonealexsudat massenhaft Trypanosomen und zahlreiche Teilungsformen gefunden haben, während das periphere Blut erst am 5. Tage die erwachsenen Formen beherbergte. Am 19. Tage soll dann das Peritonealexsudat wieder frei von Parasiten gewesen sein, während im peripheren Blut massenhaft Trypanosomen angetroffen wurden. Indessen hatte schon v. Wasielewski nach einer mir mündlich gemachten Mitteilung bei einer am 25. Tage nach der

Infektion gestorbenen Ratte noch zahlreiche Parasiten im Peritoneum gefunden, und, gestützt auf diesen Befund, versuchte ich durch eigene Untersuchungen mir über diese Frage Rechenschaft zu geben. Diese Beobachtung ergab nun, daß die Flagellaten keineswegs einige Tage nach der Impfung aus der Bauchhöhle verschwanden. Auch nachdem die Vermehrung der Parasiten im großen und ganzen beendet und die Höhe der Infektion überschritten war, fanden sich noch zahlreiche Trypanosomen in der Peritonealflüssigkeit, und ein völliges Verschwinden derselben aus der Bauchhöhle trat erst mit dem Ende der Infektion ein.

Die Untersuchung des Peritoneums in den ersten Tagen nach der Impfung ergab Resultate, welche von den Berichten von Rabinowitsch und Kempner, sowie von den neuesten Untersuchungen von Laveran und Mesnil<sup>1)</sup> abweichen. Es wurden vier junge Ratten mit je 0,3 ccm trypanosomenhaltigen Blutes geimpft. Am nächsten Tage hatten bereits alle vier schlanke erwachsene Parasiten im Schwanzblut, und die Peritonealflüssigkeit einer zu diesem Zwecke getöteten Ratte zeigte dieselben Parasiten ohne Andeutung von beginnender Vermehrung. Auch am 2. und 3. Tage nach der Impfung zeigte das Schwanzblut und in gleicher Weise die mittels Kapillarröhrchen entnommene Peritonealflüssigkeit nur schlanke erwachsene Trypanosomen ohne Teilungsformen. Um die Peritonealhöhle genauer durchsuchen zu können, wurde am 2. wie am 3. Tage je eine Ratte getötet, aber bei der darauffolgenden Untersuchung wurden in der Peritonealflüssigkeit noch keine Vermehrungsformen gefunden. Erst am 4. Tage, als auch im Blute die beginnende Vermehrung

1) Anm.: Nachdem diese Arbeit bereits zum Drucke gegeben war, erhielt ich Kenntnis von den neuesten Untersuchungen von Laveran und Mesnil: *Recherches morph. et expériment. sur le Trypanosome des rats.* (Annales de l'Institut Pasteur), Sept. 1901. Die Beobachtungen dieser Forscher über das Verhalten des Trypanosomen in der Bauchhöhle und das völlige Verschwinden aus derselben nach der Vermehrungsperiode können durch meine Untersuchungen nicht bestätigt werden.

Ich werde Gelegenheit nehmen, auf diese Frage sowie auf einige andere Punkte der erwähnten Arbeit später näher einzugehen.



zu erkennen war, fanden sich in der Bauchhöhle einzelne in Teilung begriffene Parasiten, und als am 10. Tage im Schwanzblut keine Vermehrungsstadien mehr angetroffen wurden, fehlten sie auch in der Peritonealflüssigkeit, dagegen waren noch zahlreiche erwachsene schlanke Exemplare vorhanden.

Über die Dauer der Entwicklung der Parasiten ist nichts genaueres bekannt. Aus dem Schicksal der in die Bauchhöhle eingespritzten Trypanosomen läßt sich natürlich für die Dauer der Entwicklung nichts folgern, weil sich hier, wie wir oben gesehen haben, entwicklungshemmende und andere störende Einflüsse geltend machen. Die weiter unten erwähnten Beobachtungen im hängenden Tropfen bei Brutschranktemperatur zeigen indessen, daß die Entwicklung der sich zur Teilung vorbereitenden Parasiten bis zur beendeten Teilung und Loslösung der Jugendformen bei diesen offenbar nicht sehr günstigen Aufsenbedingungen in 12—24 Stunden beendet sein kann. Wahrscheinlich geht die Teilung in wenigen Stunden vor sich, sonst wäre auch ein so plötzliches Anwachsen der Parasitenzahl am 4. und 5. Tage nach der Impfung kaum zu erklären.

Die Höhe der Infektion wird bereits 2—3 Tage nach dem Auftreten der ersten Vermehrungsformen im Blut erreicht, und zwar ist die Stärke der Infektion unabhängig von der Quantität der eingepfunden Parasiten, wie dies Mesnil und Gazeau auch für die Erreger der Nagana angeben. Sie erreicht in diesen Tagen oft eine außerordentliche Stärke. Mesnil und Gazeau fanden bisweilen ein Verhältnis der Parasiten zu den roten Blutkörperchen wie 1 : 1—2 und selbst wie 2—3 : 1. Es ist jedoch nicht ersichtlich, ob nur in einzelnen Präparaten oder Gesichtsfeldern dieses Verhältnis angetroffen wurde oder im Durchschnitt. Beurteilung einzelner Gesichtsfelder führt natürlich zu Täuschungen, da die Erfahrung zeigt, daß die Verteilung im Blut keineswegs gleichmäßig ist. Für die Entscheidung dieser Frage würde weiter in Betracht zu ziehen sein, daß wahrscheinlich auch ein Unterschied in den verschiedenen großen Gefäßen, sowie im arteriellen und venösen Blut zu finden ist. In meinen Präparaten fanden sich bisweilen auch außerordentlich zahlreiche

Parasiten. Doch übertraf auch bei der stärksten Infektion die Zahl der Trypanosomen niemals die der roten Blutkörperchen. Genauere Zählungen wurden nicht ausgeführt.

Am 4. Tage nach dem ersten Auftreten fanden Rabinowitsch und Kempner keine Vermehrungsformen mehr, sondern fast ausschließlich wieder isolierte, ausgewachsene Individuen. Auch nach den Untersuchungen von v. Wasielewski und Senn verschwinden die Teilungsstadien etwa am 8.—10. Tage nach der Impfung, und Mesnil und Gazeau sahen nach dem 8. Tage keine Entwicklungsstadien mehr. v. Wasielewski wirft die Frage auf, ob in der That mit diesem Zeitpunkt die Vermehrung aufhört oder ob sie nur so spärlich wird, daß sie gegenüber der Unzahl erwachsener Formen zurücktritt. Er entscheidet sich für die letztere Annahme, und in der That konnte ich bei manchen Ratten nach langem Suchen noch in der 3. Woche nach der Impfung vereinzelte Teilungsformen auffinden, bei einigen jungen Tieren mit deutlichen Krankheitssymptomen traten zu dieser Zeit Vermehrungsformen sogar noch in beträchtlicher Zahl auf.

Über die Dauer der Infektion liegen sehr verschiedene Beobachtungen vor. Rabinowitsch und Kempner berichten, daß die weißen Ratten ihre Parasiten im allgemeinen nach 4 bis 6 Wochen wieder verlieren, in einzelnen Fällen bereits nach 1—2 Wochen und mitunter noch früher. Nur zwei weiße Ratten hatten noch nach 3 und 4 Monaten Trypanosomen. v. Wasielewski und Senn konnten noch  $5\frac{1}{2}$  Monaten nach der Injektion bei einigen weißen Ratten Flagellaten reichlich nachweisen, und kein Versuchstier verlor vor der 6. Woche seine Parasiten. Mesnil und Gazeau sahen wiederum in einigen Fällen schon am 7. oder 8. Tage das Ende der Infektion, bei anderen Ratten erst nach 4—5 Monaten. Meine Versuchstiere beherbergten ihre Blutparasiten in der Regel 1—2 Monate, selten etwas länger; nur in zwei Fällen konnten noch nach 7 Monaten zahlreiche Trypanosomen gefunden werden. Kürzere Zeit als einen Monat dauerte die Infektion nur ein einziges Mal. In diesem Falle verschwanden die Parasiten ganz plötzlich am 3. Tage nach dem

Auftreten der ersten Vermehrungsformen. Das Tier brachte am nächsten Morgen acht Junge zur Welt. Die Annahme, daß diese beiden Ereignisse in ursächlichem Zusammenhang stehen, liegt sehr nahe. Auch Rabinowitsch und Kempner erklären zwei Fehlversuche bei intraperitonealer Infektion zweier trächtiger Ratten mit der veränderten und in verschiedenen Organen vermehrten Blutcirculation.

Die beiden grauen, natürlich infizierten Ratten verloren ihre Parasiten nach drei- und fünfmonatlicher Gefangenschaft.

Erneute Übertragungsversuche nach einmal überstandener Infektion ergaben stets ein negatives Resultat, auch selbst bei Ratten, welche bereits vor 7 Monaten ihre Trypanosomen verloren hatten.

Wurden die Wiederimpfungen mit großen Dosen ausgeführt, so wanderten zwar einige Parasiten ins Blut über und konnten hier am nächsten und übernächsten Tage nachgewiesen werden, am 3. oder 4. Tage nach der Impfung waren aber diese Parasiten wieder verschwunden und weder im Blute noch in der Bauchhöhle konnten Flagellaten gefunden werden.

Die Trypanosomeninfektion wird im allgemeinen von den weißen Ratten sehr gut vertragen. Mattigkeit, geringe Frefslust, vorübergehende geringe Gewichtsabnahme: Das sind die einzigen Krankheitserscheinungen, welche Rabinowitsch und Kempner bei ihren weißen Ratten konstatieren konnten. Keine davon ging an der Infektion zu Grunde. Bei den grauen Ratten vermifsten sie jeden Unterschied zwischen gesunden und spontan infizierten Tieren. Doch beobachteten sie bei künstlich infizierten grauen Ratten zuweilen schwere Krankheitserscheinungen, an deren Folgen sogar einige Tiere eingingen. Leider fehlt jede Andeutung über die Art der Erkrankung und eine Mitteilung über den histologischen und pathologischen Befund ist bisher noch nicht erfolgt.

v. Wasielewski berichtet über den Tod eines jungen Tieres am 25. Tage nach der Impfung. Bei der Sektion zeigte sich die Blase stark mit blutigem Urin gefüllt, im übrigen wurde aber kein Anhalt für die Ursache des Todes gefunden.

Mesnil und Gazeau fanden Temperatur, Körpergewicht, Allgemeinbefinden und Aussehen ihrer Versuchstiere nicht beeinflusst, nur in einigen Fällen fanden sie bei starker Infektion junger Ratten (Verhältnis der Trypanosomen zu den roten Blutkörperchen wie 2—3:1) eine Gewichtsabnahme, die aber allmählich wieder ausgeglichen wurde und den Tieren keinen dauernden Schaden brachte.

Es sind also bisher bei weissen infizierten Ratten nur sehr selten geringe Krankheitserscheinungen wahrgenommen worden. Um so auffallender war es daher, das von meinen Versuchstieren sehr viele erkrankten und anscheinend der Trypanosomeninfektion erlagen. Von 47 weissen Ratten erkrankten 16 etwa am 4—7. Tage nach der Impfung. Sie zeigten ein struppiges Aussehen, waren nicht so munter wie vorher und nahmen an Gewicht bedeutend ab. Temperaturmessungen wurden anfangs zwar vorgenommen, da es sich jedoch zeigte, das auch bei gesunden, nicht geimpften Tieren die Temperatur im Rektum grossen Schwankungen ausgesetzt war, wurde weiterhin von Messungen Abstand genommen. Die Ratten wurden einige Tage später dyspnoisch, bekamen Ödeme an den Hinterbeinen, zum Teil mit Blutungen ins Unterhautbindegewebe, und starben dann sämtlich, gewöhnlich etwa in der 2. Woche nach der Impfung. Zwei Ratten starben bereits am 4. Tage, eine erst am 25. Tage nach der Impfung. Auffallend war es, das nur junge Ratten erkrankten. Bei alten erwachsenen Tieren konnten nie, auch nicht nach Impfung mit sehr grossen Dosen (2 ccm), und mit Teilungsformen Krankheitserscheinungen wahrgenommen werden. Da aber nicht alle jungen Ratten erkrankten, so wurde durch Impfungen mit sehr grossen und sehr kleinen Dosen, mit alten erwachsenen Parasiten und mit Teilungsformen festzustellen versucht, ob die Dosis und die Beschaffenheit des Impfmaterials den schweren Verlauf der Infektion bedingte. Es liess sich jedoch kein Grund finden, warum die einen erkrankten und starben, die andern die Infektion ohne merkliche Störung überstanden.

Die Sektion ergab in allen Fällen dasselbe Bild. Die Lungen waren im allgemeinen ziemlich blutreich und zeigten

mehrere erbsen- bis bohnenförmige dunkelrote Stellen, die stets bis zur Pleura reichten und sich ziemlich derb anfühlten, so daß sie an pneumonische Herde erinnerten. Auf dem Durchschnitt erschien die Schnittfläche jedoch völlig glatt, und im mikroskopischen Präparat sah man starke blutige Infiltrationen im Gewebe und Austritt von Blut in die Alveolen. Trypanosomen fanden sich in auffallend großer Anzahl in der Lunge. Die linke Herzkammer stand in der Diastole. Die Milz war außerordentlich stark vergrößert und die Lymphdrüsen geschwollen. Das Blut enthielt fast immer noch Vermehrungsformen, in einem Falle also noch am 25. Tage nach der Impfung.

Um die Möglichkeit auszuschließen, daß es sich um septische Infektionen bei der Übertragung handelte, wurden bakteriologische Untersuchungen der Peritonealflüssigkeit und des Herzblutes vorgenommen. Nach aseptisch vorgenommener Eröffnung des Peritoneums und des Herzens wurden in jedem Falle je drei Agarstriche vom Peritoneum und dem Herzblut hergestellt, aber stets blieben die Röhrechen steril.

Was endlich den natürlichen Infektionsmodus betrifft, so glauben Rabinowitsch und Kempner aus ihren vergeblichen Versuchen, Ratten durch Fütterung zu infizieren, schließen zu dürfen, daß eine Infektion auf dem Digestionswege nicht erfolgen kann. Dagegen wurden sie durch die Beobachtung, daß gesunde Ratten, mit infizierten weißen Ratten zusammengebracht, nach 11—15 Tagen Entwicklungsformen in ihrem Blute zeigten, zu der Vermutung gedrängt, die Trypanosomen-Infektion der Ratten könne ein Analogon darbieten zu verschiedenen, durch blutsaugende Insekten verbreitete Infektionskrankheiten. Übertragungsversuche durch intraperitoneale Injektion von Flohkörpern, und die durch Flobstiche erzeugte Infektion einer Ratte, bestärkten sie in ihrer Annahme und ihrer Überzeugung, daß Flöhe als die gewöhnlichen Vermittler der Trypanosomen-Infektion angesehen werden können. Meine in dieser Richtung angestellten Versuche sind noch nicht zum Abschluß gekommen, doch ist es auffallend im Gegensatz zu den Beobachtungen von Rabinowitsch und Kempner, daß monatelang infizierte und

gesunde Ratten in einem Käfig beisammen gehalten werden konnten, ohne dafs eine Infektion erfolgte, obgleich die Tiere stark mit Flöhen besetzt waren, während eine spätere Impfung der gesund gebliebenen Tiere in typischer Weise erfolgreich war. Es bleibt indessen die Möglichkeit bestehen, dafs die Jahreszeit einen Einflufs auf die Übertragung der Parasiten ausübt. Die Analogie mit der Dourine-Krankheit gab zu Versuchen Veranlassung, ob vielleicht beim coitus eine Übertragung vor sich ginge. Es wurden dreimal gesunde weibliche Ratten mit infizierten männlichen zusammengebracht. Zwei davon wurden trächtig, jedoch ohne Parasiten zu bekommen. Auch in diesen Fällen war eine spätere Impfung erfolgreich.

Aufserhalb des Tierkörpers zeigen die Trypanosomen sich aufserordentlich lebens- und widerstandsfähig. Danilewsky (1889) bezeichnet diese Eigenschaft als eine charakteristische Eigentümlichkeit der Trypanosomen überhaupt. Nach seinen Beobachtungen bleiben die Parasiten im Blut aufserhalb des Tierkörpers 8—9 Tage lebensfähig. In Pipetten oder im mikroskopischen Präparat bei gewöhnlicher Zimmertemperatur aufbewahrt, zeigten sie noch am 5.—8., junge Tiere sogar noch am 10.—12. Tage ihre unveränderte Form und Beweglichkeit. Ein Zusatz von 0,6 proz. Kochsalzlösung zum Blut änderte nichts daran.

Rabinowitsch und Kempner fanden das Blut einer infizierten Ratte, bei Zimmer- und Brutschranktemperatur aufbewahrt, noch nach einer Woche infektiösfähig, wie erfolgreiche Übertragungsversuche an zwei Ratten bewiesen.

Laveran und Mesnil (1900) erhielten die Parasiten im defibrinierten Blut (rein oder zur Hälfte mit Kochsalzlösung verdünnt) im Laboratorium 4—5 Tage, im Eisschrank bei einer Temperatur von  $+5$  bis  $+7^{\circ}$  etwa 1—1½ Monate lebens- und infektiösfähig. Eine Impfung mit solchem, 23 Tage lang im Eisschrank aufbewahrtem Blute ergab ein positives Resultat; ebenso hatten die beiden Forscher schon früher mit 47 Tage altem Blut zwei Impfungen vorgenommen, von denen eine erfolgreich war. Und obwohl sie am 51. Tage in dem Blute keine

Parasiten mehr mikroskopisch nachweisen konnten, so war doch eine damit ausgeführte Impfung von Erfolg begleitet.

Auch ich hatte Gelegenheit, die Trypanosomen sehr lange außerhalb des Tierkörpers lebens- und infekionsfähig zu erhalten. Selbst bei  $-5^{\circ}$  bis  $-8^{\circ}$  blieben sie mehrere Tage lang im mikroskopischen Präparat lebend. Die Präparate wurden bei dieser Temperatur im Freien hingestellt und am nächsten resp. einem der folgenden Tage wieder untersucht. Zunächst erschienen die Parasiten in dem im warmen Zimmer wieder aufgetauten Präparat regungslos, nach einigen Minuten begannen aber wieder langsame Bewegungen, die sich oftmals nach weiteren 20—30 Minuten zur normalen Schnelligkeit steigerten. Sogar nach siebentägigem Verweilen bei dieser Aufsentemperatur konnten noch bewegliche Trypanosomen im aufgetauten Präparat gefunden werden. In einem Kältegemisch von  $-17^{\circ}$  starben die Flagellaten ab und durch Impfungen mit solchem Blut, welches 2 Stunden lang in dieser Kältemischung gestanden hatte, konnte keine Infektion mehr erreicht werden. Gegen Erwärmung scheinen die Parasiten empfindlicher zu sein. Schon im Wärmkasten bei  $45^{\circ}$  untersucht, nahmen die Ortsbewegungen oftmals bedeutend an Schnelligkeit zu, doch starben die Trypanosomen bei dieser Temperatur nicht ab. Das Blut wurde in Kapillarröhrchen in zimmerwarmes Wasser gebracht und dann allmählich auf  $50^{\circ}$  erwärmt. Auf dieser Temperatur wurde das Wasser 2 Stunden erhalten und dann wieder allmählich abgekühlt. Die hernach mit diesem Blute ausgeführten Übertragungsversuche ergaben ein positives Resultat. Doch liegt die obere Temperaturgrenze, bei welcher die Flagellaten lebensfähig bleiben, nur wenige Grade höher. Wenigstens konnte nach zweistündigem Erwärmen auf  $58^{\circ}$  keine Infektion mehr erreicht werden, und im mikroskopischen Präparat waren keine Parasiten mehr zu finden, sie scheinen bei dieser Temperatur nicht allein abzusterben, sondern auch aufgelöst zu werden.

Am längsten konnten die Trypanosomen im Eisschrank bei  $+5^{\circ}$  bis  $+10^{\circ}$  in Kapillarröhrchen oder im hängenden Tropfen lebensfähig erhalten werden. Zwei Impfungen mit 32 und 53 Tage lang bei dieser Temperatur aufbewahrtem trypanosomenhaltigen

Blut erzeugten, wie schon oben erwähnt, noch Infektionen mit siebentägiger Inkubationszeit. Bei Zimmertemperatur oder im Brutschrank starben die Parasiten bedeutend schneller ab, bei 37° spätestens nach 2—4 Tagen, bei Zimmertemperatur (16—18°) nach 1—1½ Wochen. Für die ungünstigen Verhältnisse bei diesen Temperaturen glauben Laverau und Mesnil den Einfluss von Bakterien und die etwaige Einwirkung von veränderten und zerfallenen roten Blutkörperchen ausschließen zu können, weil sie das Blut stets aseptisch entnahmen, und öfters bereits das Verschwinden der Parasiten bei noch intakten roten Blutkörperchen konstatiert wurde. Meine Beobachtungen deuten indessen gerade auf den schädigenden Einfluss der Bakterien im Brutschrank hin. Denn in nicht aseptisch hergestellten hängenden Tropfen waren im Brutschrank bei üppiger Bakterienentwicklung am anderen Tage die Trypanosomen stets abgestorben, während in aseptisch hergestellten Präparaten die Parasiten noch 2—3 Tage lebensfähig blieben. Nach dieser Zeit gingen sie auch in aseptischen Präparaten zu Grunde. Ob der Zerfall der Blutkörperchen für die Lebensfähigkeit der Flagellaten so ganz ohne Bedeutung ist, wie Laverau und Mesnil angeben, vermag ich nicht zu entscheiden. Überzeugen konnte ich mich nicht davon, denn die Parasiten gingen niemals früher als die roten Blutkörperchen zu Grunde.

Um den Einfluss der Bakterien genauer zu beobachten, wurden Trypanosomen mit faulem Rattenblut zusammengebracht. Es zeigte sich dann unter dem Mikroskop schon nach wenigen Minuten die schädigende Wirkung dieser bakterienhaltigen Flüssigkeit. Die Parasiten nahmen an Beweglichkeit ab, ihre Gestaltsveränderungen erfolgten langsamer und ungleichmäßiger. Ortsbewegungen wurden oft gar nicht mehr ausgeführt, und nach einigen Stunden waren die Trypanosomen abgestorben.

Unter solch ungünstigen Lebensbedingungen verändern die Parasiten öfters in auffallender Weise ihre Form. Schon Danilewsky bemerkte in dem längere Zeit aufbewahrten trypanosomenhaltigen Blut eine Verdickung am hinteren Ende



der Flagellaten. In anderen Fällen sah er eine Verlängerung bis zur doppelten natürlichen Länge. Schliesslich will er bei absterbenden Parasiten die Beobachtung gemacht haben, dass die undulierende Membran und die Geißel allmählich kleiner wurden und endlich verschwanden, während der Körper eine sphärische Form annahm. Künstlich konnte Danilewsky durch Chloroform die Trypanosomen in unregelmässig geformte amoeboide Körper von durchscheinendem Aussehen verwandeln.

Auch Rabinowitsch und Kempner beobachteten, dass längere Zeit aufbewahrte Parasiten allmählich in ihren Bewegungen träger wurden, sich zu Klumpen zusammenballten und öfters am hinteren Ende eine köpfchenförmige Anschwellung zeigten. Auf die von Danilewsky und auch von Rabinowitsch und Kempner beschriebene Einziehung der Geißel, Auflösung der undulierenden Membran und die Umwandlung des langgestreckten Parasitenkörpers in eine mehr oder weniger ausgesprochene Kugelform brauche ich hier nicht näher einzugehen, da bereits in der Arbeit von v. Wasielewski und Senn nachgewiesen wurde, dass es sich um ungenaue und wahrscheinlich infolge nicht gelungener Geißelfärbung falsch gedeutete Beobachtungen handelte. Indessen zeigten auch in meinen Präparaten die Parasiten oft auffallende Gestaltsveränderungen, und zwar manchmal bereits nach einigen Stunden, besonders wenn im Präparat eine starke Bakterienentwicklung stattgehabt hatte. Das hintere Ende der Flagellaten erschien dann stark verdickt, so dass eine entfernte Ähnlichkeit mit sich zur Teilung anschickenden Trypanosomen vorgetäuscht wurde; eine Ähnlichkeit, die durch das Auftreten zackiger Vorsprünge, welche mit neuen Geißeln verwechselt werden konnten, noch gesteigert wurde. In dem verdickten Teil der Parasiten erkaunte man einen grossen glänzenden Körper, welcher bisweilen stark lichtbrechend, bisweilen aber auch ungleichmässig und aus einer Anzahl kleiner Kügelchen zusammengesetzt erschien. Die Bewegungen erfolgten ruckweise und bewirkten fast gar keine Ortsveränderungen. In gefärbten Präparaten solcher Parasiten erschien der Kern sehr aufgelockert, manchmal auch geteilt, das Protoplasma sehr matt gefärbt und

die Geißel öfters auffallend lang. Man geht wohl nicht fehl, wenn man diese Bilder als Degenerationsformen anspricht, besonders da diesen Gestaltsveränderungen stets völlige Auflösung der Parasiten folgte. Öfters wurden diese Formen auch im Herzblut gestorbener und erst nach Verlauf von mehreren Stunden secierter Tiere gefunden.

Eine eigentümliche Eigenschaft der Parasiten bemerkten Laveran und Mesnil zuerst in dem lange Zeit im Eisschrank aufbewahrten Blute. Sie fanden, daß die Trypanosomen sich manchmal schon am 3. Tage, gewöhnlich aber erst später zu Haufen vereinigten. Sie bildeten mit ihrem Hinterende Verschlingungen und führten mit dem Geißelende ihre lebhaften Eigenbewegungen ungestört weiter aus, so daß sich dem Beobachter ein rosettenähnliches Gebilde präsentierte, welches im Centrum ein mehr oder weniger homogenes Aussehen darbot, während in der Peripherie nach allen Seiten in radiärer Richtung die Geißeln der einzelnen Flagellaten lebhaft beweglich erkennbar waren. Im ungefärbten Präparate können derartige Gebilde sehr wohl mit rosettenförmigen Vermehrungsstadien verwechselt werden. Und in der That scheint Danilewsky bei seinen Beobachtungen über die Vermehrung durch Segmentation öfters derartige Knäuel für Vermehrungsformen gehalten zu haben, denn derartige Teilungsformen mit 30—60 Tochterindividuen, wie er sie beschreibt und abbildet, sind nach ihm von anderen Untersuchern nicht wieder beobachtet worden.

Die Knäuel blieben nach den Untersuchungen von Laveran und Mesnil tagelang bestehen und nahmen mit der Zeit noch an Größe zu, ohne daß jedoch sämtliche Parasiten sich zu Knäueln verbanden. Die in den ersten Tagen ungeschwächte Beweglichkeit begann erst nach 20—30 Tagen deutlich langsamer zu werden, und die Trypanosomen nahmen dann ein granuliertes Aussehen an.

Auf diese knäuelbildende Eigenschaft des Rattenblutes wurde ich zuerst aufmerksam, als das Blut einer Ratte, welche ganz plötzlich ihre Parasiten verloren hatte, mit dem Trypanosomen enthaltenden Blute einer anderen Ratte zusammengebracht

wurde. Im hängenden Tropfen konnte man beobachten, wie die Flagellaten sich näherten und nach einigen Minuten mit ihrem hinteren Ende Verschlingungen bildeten. Diese Verbindungen der Parasiten waren anfangs nur sehr locker, dann bei Zusatz von wässriger Methylenblaulösung oder Formol, oder beim Eintrocknen konnte man unter dem Mikroskop beobachten, wie sich ein Parasit nach dem anderen löste, bis nach einigen Minuten sämtliche Flagellaten aus ihren Verschlingungen gelöst und wieder frei und isoliert waren. Je länger aber der Knäuel bestand, desto fester wurde die Verschlingung, jedenfalls ließen sich die Trypanosomen später nicht mehr durch die oben genannten Mittel auseinanderbringen. Man konnte daher die Knäuel fixieren und färben, so daß die Struktur genauer beobachtet und die Zahl der Parasiten wenigstens annähernd festgestellt werden konnte.

In solchen Bildern von kleinen Knäueln erscheinen die Geißelenden der Parasiten zwar nicht mehr genau in radiärer Richtung ausgestreckt, aber man erkennt doch noch die rosettenähnliche Anordnung. Bei den größeren Knäueln ist allerdings von einer regelmäßigen Lagerung nicht mehr die Rede, manchmal macht es zwar den Eindruck, als ob auch hier die Hinterenden aneinanderhaften, im allgemeinen liegen aber in den großen Knäueln die Parasiten wirr und planlos durcheinander, wie dies auch von Laveran und Mesnil beschrieben wurde.

Die Zahl der Flagellaten beträgt in den großen Knäueln oft 30—50 und in einzelnen Fällen noch bedeutend mehr, besonders wenn sich mehrere Knäuel vereinigt haben. Diese Verbindung zweier oder mehrerer Knäuel zu einem großen Haufen tritt aber nicht immer ein, oft liegen mehrere große und kleine Knäuel lange Zeit bei einander, und im hängenden Tropfen lassen sie sich oftmals durchaus nicht in ihren Ortsbewegungen durch die Nähe anderer größerer Knäuel stören. Auch finden sich in ihrer nächsten Nähe oft noch einzelne isolierte Parasiten, welche isoliert bleiben, während andere aus weiter Entfernung näher kommen, um sich schließlich mit den Knäueln zu vereinigen. Niemals wurden in Übereinstimmung mit den Beobachtungen

von Laveran und Mesnil alle Parasiten im Präparat zu Knäueln vereinigt gefunden.

Die Ähnlichkeit dieser Knäuelbildung mit der Agglutination der Bakterien veranlafte Laveran und Mesnil, das Serum verschiedener Tiere auf agglutinierende Eigenschaften zu prüfen. Sie fanden, daß das Tauben- und Rattenblut-Serum keinen Einfluß auf die Parasiten ausübte, während das Serum vom Schaf, Kaninchen, Hund, Pferd und Huhn knäuelbildend wirkte. Die beiden letzten noch in einer Verdünnung von 1:4—5. Bedeutend stärker, nämlich in einer Verdünnung von 1:20, wirkte das Serum von Ratten, welche eine Trypanosomeninfektion überstanden hatten.

Auffallend ist es, daß Rabinowitsch und Kempner gelegentlich ihrer experimentellen Untersuchung über aktive und passive Immunität der einmal infizierten Ratten diese Knäuelbildungen nicht beobachtet haben. Am Schluß der Untersuchungen heißt es ausdrücklich: »was die Agglutinationsfähigkeit betrifft, so zeigt das Trypanosomenserum in keiner Weise irgend welche agglutinierende oder entwicklungshemmende Eigenschaften«.

Meine eigenen Untersuchungen bestätigen nun vollauf die Erfahrung von Laveran und Mesnil, daß das Blut gesunder weißer Ratten niemals, dagegen nach überstandener Trypanosomen-Injektion stets knäuelbildende Eigenschaften zeigt. Ein Unbeweglichwerden vor der Knäuelbildung trat nicht ein, wie es auch von Laveran und Mesnil beobachtet wurde, jedoch zeigten manche Parasiten oft eine veränderte, krampfartig oder ruckweise ausgeführte Bewegung in dem agglutinierenden Serum.

Bei der weiteren Untersuchung zeigte sich nun, daß die Knäuelbildung nicht immer und überall gleich schnell und gleich stark auftrat. Das Blut mancher Ratten, z. B. derjenigen, welche 3 Tage nach dem Nachweis der gelungenen Infektion plötzlich ihre Parasiten verlor, wirkte sofort sehr stark knäuelbildend, während das Blut anderer Ratten, welche ihre Trypanosomen ganz allmählich verloren (z. B. die beiden grauen) erst nach einigen Stunden deutlich diese Wirkung erkennen liefs. Da nun

die Ratten, wie oben erwähnt, nach einmal überstandener Infektion nicht von neuem infiziert werden können, so war es wichtig, das Verhalten des Blutserums nach solch wiederholten Impfungen zu prüfen. 7 Tage nach dem Verschwinden der Parasiten wurden Ratten von neuem mit trypanosomenhaltigem Blut geimpft, und dann 4 oder 5 Tage später das Serum auf knäuelbildende Eigenschaften geprüft. Dabei zeigte sich, daß diese Eigenschaft nach einer Impfung jedesmal erheblich, mindestens um das Doppelte zunahm, und zwar nicht allein nach der ersten Wiederimpfung, sondern in gleicher Weise nach einer 2., 3. und 4. Wiederholung der Impfung. Durch derartige Einspritzungen konnten also sehr stark knäuelbildende Sera erhalten werden, die das ursprüngliche Serum mindestens um das 4fache in der Wirkung übertrafen.

Auch Menschen-, Pferde-, Mäuse- und Tauben-Serum wurde untersucht. Menschen- und Mäuse-Serum veranlafte keine Knäuelbildung, während Taubenblut-Serum etwas schwächer, Pferde-Serum stärker als das Blut immuner Ratten wirkte.

Worauf übrigens diese Knäuelbildung beruht, ist noch völlig dunkel. Es mag ja nahe liegen, an eine Ähnlichkeit mit der Agglutination der Bakterien zu denken, aber einen tatsächlichen Anhalt für die Verwandtschaft dieser beiden Vorgänge haben wir bisher nicht. Und bevor nicht genaue Untersuchungen und Beobachtungen erfolgt sind, ist jegliche Vermutung über diese Angelegenheit unnütz.

Eine Vermehrung der Parasiten ist außerhalb des Tierkörpers bisher noch nicht beobachtet worden. Zwar berichtet Danilewsky von einer stattgehabten Entwicklung der Trypanosomen in sterilisierten Pipetten. Es ist jedoch nicht deutlich zu ersehen, ob er dieselbe auch bei den Parasiten des Rattenblutes, oder nur bei den Trypanosomen der Frösche und Fische unter dem Mikroskop beobachtet hat. Wahrscheinlich haben ihm auch Knäuelbildungen als Vermehrungsformen imponiert. Rabinowitsch und Kempner konnten niemals eine Entwicklung der Ratten-Trypanosomen außerhalb des Tierkörpers konstatieren. Nur die Teilung der Rosetten in die einzelnen Sprößlinge gelang ihnen im hängenden Tropfen zu verfolgen. v. Wasielewski

und Senn waren nicht so glücklich in ihren Beobachtungen. Im hängenden Tropfen sahen sie nie eine Entwicklung der Parasiten erfolgen, auch nicht bei Bruttemperatur. Insbesondere konnte auch nicht nach stundenlanger Beobachtung einzelner in Teilung begriffener Exemplare ein Fortschreiten der Teilung festgestellt werden.

Auch ich konnte unter dem Mikroskop keine Weiterentwicklung eines bereits in Teilung begriffenen Parasiten beobachten, aber doch scheint die Weiterentwicklung unter bestimmten Umständen auch im hängenden Tropfen vor sich zu gehen. Wurden nämlich unter aseptischen Kautelen mehrere hängende Tropfen von Rattenblut mit jungen Trypanosomen angefertigt, und davon einige in einen Brutschrank von 37° gestellt, so sah man sehr oft am anderen Tag in diesen Präparaten Teilungsformen und Entwicklungsstadien, welche man am Tage vorher nicht darin bemerkt hatte, während eine derartige Veränderung in den im Zimmer aufgestellten Präparaten niemals auftrat. Auch fanden diese Vorgänge nie bei alten Parasiten statt, sondern nur bei jungen, vor der Teilung stehenden, also bei solchen, welche im Blute einer geimpften Ratte am 3.—4. Tage nach der Impfung erschienen. Da nun bei frischen Infektionen die große Menge der Parasiten es unmöglich macht, sich über die Zahl und Form der in einem hängenden Tropfen vorhandenen Trypanosomen genau zu orientieren, so wurden Verdünnungen hergestellt, um jedes Präparat genau durchmustern und die darin vorhandenen Flagellaten zählen zu können. Aber in derartigen, auch noch so schwachen Verdünnungen fand nie eine Entwicklung statt; wahrscheinlich schädigt die angewandte Flüssigkeit die Parasiten. Man mußte daher die zu verschiedenen Zeiten in einem hängenden Tropfen vorhandene Zahl und Form der Trypanosomen auf andere Weise zu vergleichen suchen. Dies geschah folgendermaßen: Es wurden mit derselben Platinöse drei möglichst gleich große hängende Tropfen von dem zu untersuchenden Blute hergestellt. Nr. 1 wurde in den Brutschrank, Nr. 2 ins Zimmer gestellt und von Nr. 3 wurden Deckglasausstrich-Präparate gemacht, die darin vorhandenen Parasiten gefärbt und gezählt. Am

anderen Tag wurden dann Zahl und Form der in Nr. 1 und Nr. 2 beobachteten Trypanosomen mit den in Nr. 3 vorhandenen verglichen. Diese Untersuchung nach 24 Stunden wird dadurch außerordentlich erleichtert, daß fast sämtliche Parasiten aus der Mitte des hängenden Tropfens (dem Blutkuchen) an den Rand (in das Serum) treten. Am anderen Tag ergab nun die Beobachtung, daß Präparat Nr. 2 stets dieselben Verhältnisse zeigte wie Nr. 3 am vorhergehenden Tage, während im Präparat Nr. 1 mehr Parasiten und vor allem ganz andere Entwicklungsformen vorhanden und im gefärbten Präparat deutlich nachweisbar waren. Fanden sich z. B. in Nr. 3 dicke, zur Teilung sich vorbereitende Parasiten, so zeigte Präparat Nr. 1 am anderen Tag stets Rosetten und Teilungsformen, während in Nr. 2 keine Vermehrungsform zu entdecken war. Um etwaige Täuschungen und Verwechslungen mit Degenerationsformen auszuschließen, wurden die Präparate nach dem Eintrocknen fixiert und gefärbt, so daß die Verhältnisse im gefärbten Bilde genau mit Nr. 3 verglichen werden konnten.

Diese Beobachtungsart kann selbstverständlich keinen Anspruch auf Exaktheit machen, da aber in den Brutschrank-Präparaten immer wieder dieselben Veränderungen gefunden wurden, und niemals in einem bei Zimmertemperatur aufgestellten Präparat auch nur eine Andeutung einer Weiterentwicklung beobachtet werden konnte, so wird es hierdurch meines Erachtens doch wahrscheinlich, daß unter bestimmten Bedingungen gewisse Stadien der Parasiten sich auch außerhalb des Tierkörpers zu vermehren vermögen. Ob und in wieweit die Mißfolge von v. Wasielewski und Senn etwa auf die Einwirkung des Lichtes zurückzuführen sind, darüber müssen weitere Beobachtungen Aufschluss geben.

Die Arbeiten wurden im hygienischen Institut der Universität Berlin ausgeführt, woselbst mir Herr Geh.-Rat Rubner in liebenswürdigster Weise einen Arbeitsplatz zur Verfügung gestellt hatte. Für dieses weitgehende Entgegenkommen, sowie

für das stete Interesse für den Fortgang der Arbeiten, spreche ich Herrn Geh.-Rat Rubner meinen ganz gehorsamsten Dank aus.

Auch bin ich Herrn Stabsarzt Dr. v. Wasielewski für die Anregung zu der Arbeit und die Unterstützung bei derselben zu großem Dank verpflichtet.

---

## Litteratur.

---

- Danilewsky (1889), La parasitologie comparée du sang.
- Koch (1898), Reiseberichte über Rinderpest, Tssetse oder Surra-krankheit u. s. w.
- Laveran und Mesnil (1900), De la longue conservation à la glacière des Trypanosomes du rat et de l'agglomération de ces parasites. (Compt. rend. de la Soc. de Biologie.)
- (1900), Sur l'agglutination des Trypanosomes du rat par divers sérums. (Ibidem.)
- Lingard (1895), Summary of further report of Surra.
- Mesnil et Gazeau (1901), Les Trypanosomes et leur rôle pathogène. (Extr. des Archives de médecine navale.)
- Rabinowitsch und Kempner (1899), Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten, speciell der Rattentrypanosomen. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankheiten, Bd. 30.)
- Schilling (1901), Bericht über die Surra-Krankheit der Pferde. (Centralbl. f. Bakt., XXX, Nr. 15.)
- von Wasielewski u. Senn (1900), Beiträge zur Kenntnis der Flagellaten des Rattenblutes. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankheiten, 1900.)



# Theoretische Betrachtungen über Ansteckung und Disposition.

Von

Otto Ammon.

Hueppe<sup>1)</sup> hat schon 1893 ausgesprochen, daß zur Entstehung einer Infektion eine Anlage gehört, welche unter geeigneten Bedingungen die Auslösung der Krankheit durch die Erreger gestattet. Im Jahre 1896 hat Hueppe<sup>2)</sup> diesen Satz in einem Punkte noch etwas schärfer gefaßt durch die genauere Darlegung, daß sowohl die Krankheitsanlagen als die Virulenz der Erreger von Null bis Unendlich variieren können. Hieraus ergibt sich mit Notwendigkeit, daß die Intensität der Infektion und der Seuchen in weiten Grenzen schwanken kann.

In dem folgenden Jahre hat Gottstein<sup>3)</sup> das Verhältnis der durchschnittlichen Höhe der normalen Konstitutionskraft  $C$  zu der Höhe der pathogenen Eigenschaften sämtlicher zu dem Menschengeschlechte in Krankheitsbeziehungen tretender Parasiten  $p$  durch den Bruch  $\frac{C}{p}$  ausgedrückt und dieses Verhältnis die »Disposition« genannt.

Es scheint mir jedoch, daß in dem, was Hueppe »Virulenz« und Gottstein  $p$  genannt hat, zwei Faktoren zu unterscheiden

---

1) Über die Ursachen der Gärungen und Infektionskrankheiten und deren Beziehungen zum Kausalproblem und zur Energetik. Berlin, 1893.

2) Naturwissenschaftliche Einführung in die Bakteriologie. Wiesbaden, 1896, S. 152.

3) Allgemeine Epidemicologie. Leipzig, 1887, S. 179.

sind, ein quantitativer und ein qualitativer. Es kommt nämlich erstens auf die Menge der Parasiten an, welche in den Körper innerhalb einer gewissen Zeit eindringen, und zweitens auf die erregende Kraft dieser Parasiten, auf ihre »Virulenz« im engeren Sinne. Eine geringere Zahl sehr virulenter Parasiten kann ebensoviel Wirkung thun, wie eine größere Zahl weniger virulenter. Die Virulenz im weiteren Sinne ist daher eine Funktion der Zahl und der Ansteckungsfähigkeit der Parasiten, welche in einer Zeiteinheit in den Körper einzudringen vermögen. Bis zu einer gewissen Grenze ist die Hauspolizei im stande, der Eindringlinge Herr zu werden; darüber hinaus entsteht die Infektion, die zum Ausbruch der Erkrankung führt.

Es hat mir geschienen, daß dieses Verhältnis einer näheren theoretischen Untersuchung durch die Anwendung der Wahrscheinlichkeitsrechnung zugänglich sei. Der Übersichtlichkeit wegen unterscheiden wir in dem Folgenden die beiden Faktoren der »Virulenz« nicht, sondern nehmen an, daß wir es jeweils mit einer gewissen Zahl von Erregern von mittlerer Virulenz zu thun haben. Alsdann fragen wir uns:

#### **Wie sind die Krankheitserreger in der Natur verteilt?**

Wir wissen durch die Untersuchungen, die an der Luft verschiedener Gegenden und zu verschiedenen Zeiten angestellt worden sind, daß der Gehalt eines einheitlichen Raumteiles Luft an Erregern sehr wandelbar ist. Bald fand man deren viele, bald nur sehr wenige. Es ist auch theoretisch als gewiß anzunehmen, daß nicht jeder Kubikdecimeter Luft, der an uns vorüberzieht, gleich stark mit Krankheitskeimen gemischt ist. Neben dem Kubikdecimeter, den ein Bakteriologe untersucht hat, befand sich zur Zeit der Luftentnahme vielleicht ein anderer Kubikdecimeter mit einem bedeutend größeren oder kleineren Erregergehalt. Etwas Bestimmtes hierüber ist nicht empirisch ermittelt, aber theoretisch können wir allerdings nach der Wahrscheinlichkeit vermuten, daß die Zufälligkeiten des wechselnden Erregergehaltes einem Gesetze folgen, dem alle derartigen Zufälligkeiten ohne Ausnahme unterliegen: der Gaußschen Formel

für die Häufigkeit der Kombinationen. Gemeinverständlich sagt die Formel aus, daß eine gewisse Kombination am häufigsten vorkommt, und daß die Häufigkeit der Kombinationen um so mehr abnimmt, je mehr dieselben in ihrer Zusammensetzung von jenem Mittel abweichen. Quételet<sup>1)</sup> hat die Formel auf verschiedene Phänomene angewendet, Galton<sup>2)</sup> und andere haben auf sie gebaut, um menschliche Begabungen leichtfaßlich darzustellen; neuerdings hat Prof. Ludwig<sup>3)</sup> in Greiz die Anwendung auf botanische Thatsachen gemacht und damit große Erfolge erzielt. Eigentlich gehört die Formel den Astronomen, welche sie benutzen, um die Beobachtungsfehler unschädlich zu machen; denn auch hier gilt das Gesetz, daß kleine Fehler häufiger sind als große, und daß die Fehler um so seltener werden, je mehr sie von der Wahrheit abweichen.

Es kommt für unsere weitere Untersuchung gar nicht darauf an, ob die Erreger diese oder jene Krankheit hervorrufen, auch nicht darauf, ob sie durch den Mund, durch die Lungen, durch die Schleimhäute, oder durch Verletzungen der Oberhaut ins Innere des Körpers dringen. Es kommt einzig und allein darauf an, wie häufig die Erreger in Gruppen von 1, 2, 3, 4 und mehr Gelegenheit zum Eindringen erhalten. Um aber nicht gar zu abstrakt zu verfahren, mit Rücksicht darauf, daß eine konkrete Annahme meistens leichter verstanden wird, stellen wir uns zunächst die Frage so: wieviele Erreger irgend einer Krankheit werden in einer Zeiteinheit mit der Atemluft eingeatmet? Da können wir nun nach Gauß mit ziemlicher Bestimmtheit die Annahme machen, daß irgend eine Zahl von Erregern in der Zeiteinheit am häufigsten vorkommen wird, und daß die Häufigkeiten kleinerer und größerer Zahlen beiderseits von diesem

1) *Lettres sur la théorie des probabilités*, Brüssel 1845; *L'Anthropométrie* und andere Schriften.

2) *Hereditary Genius*, London 1869; *Inquiries into Human Faculty*, London 1883; *Natural Inheritance*, London, 1889.

3) *Beiträge zur Phytarithmetik*, *Botanisches Centralblatt* 1897; *Über Variationskurven*, daselbst, 1898; *Die pflanzlichen Variationskurven und die Gaußsche Wahrscheinlichkeitskurve*, daselbst, 1898, u. A.

Mittel symmetrisch abnehmen werden. Um noch konkreter zu sein, sagen wir, die Zahl der in einer Zeiteinheit eingeatmeten Bacillen sei 50, so werden die Zahlen 49 und 51 auch noch ziemlich häufig sein, und die Zahlen 48 und 52, 47 und 53 eine abnehmende Häufigkeit zeigen. Die Abnahme ist jedoch keine gleichmäßige, d. h. sie folgt nicht dem Gesetz der geraden Linie, sondern der mehrgenannten Gaußschen Formel, bezw. der Gaußschen Wahrscheinlichkeitskurve, die in Fig. 1 nebenstehend abgebildet ist. Streng genommen, ist die Kurve im Sinne Huettes eine unbegrenzte, beiderseits von Null bis Unendlich gehende, indem die beiden Arme sich nicht wie in der Figur mit der Abscissenachse bei 0 und 100 verschmelzen, sondern die

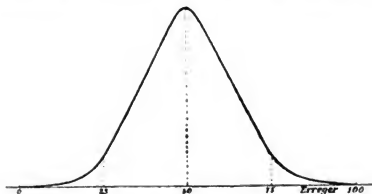


Fig. 1.

Verteilung der Krankheitserreger in der Natur.

Achse zur Asymptote haben; für praktische Zwecke ist dies jedoch unerheblich, da der zwischen der Kurve und der Achse verbleibende Raum verschwindend klein und graphisch nicht mehr darstellbar ist. Luft mit 0 Erregern wird natürlich auch schon ausnehmend selten sein, und Luft mit mehr als 100 wird nicht vorkommen. Wir erkennen aus der Figur, daß schon die Zahlen 25 und 75 verhältnismäßig recht selten sind; überhaupt können wir uns nach dieser Kurve ein ziemlich deutliches Bild davon machen, wie die Krankheitserreger in der Natur verteilt sind, und wie sie bald vereinzelt, bald in kleineren oder größeren Gruppen ihre Angriffe auf den Menschen ausführen. Denn was wir soeben über die Einatmung gesagt haben, können wir nun auf jede Art des Angriffs ausdehnen. Die Verallgemeinerung

ist nicht blofs zulässig, sondern eine logische Notwendigkeit. Es ist nun die Frage, welche Folgerungen für die Ansteckung von Menschen sich hieraus ergeben?

### Wie sind die Dispositionen der Individuen verteilt?

Es gibt Individuen, die sehr leicht angesteckt werden und solche, die mehr oder weniger seuchenfest sind. Wenn wir nach einem Mafsstab suchen, um die Gröfse der Disposition auszudrücken, so bietet sich uns im Anschlufs an das Vorhergehende die Zahl der Erreger (von mittlerer Virulenz) dar, welche in den Körper eindringen mufs, um eine Ansteckung hervorzubringen.

Um die Sache nicht zu verwickelt zu machen, sehen wir zunächst davon ab, dafs die Disposition eines Individuums nach Zeit und Umständen wechselt, denn das sind Verhältnisse, die nachher leicht für sich betrachtet werden können. Ebenso kümmern wir uns nicht darum, ob die Disposition angeboren oder erworben ist, sondern suchen nur die vorhandene Disposition exakt zu messen. Gar keinen Einflufs auf unsere Betrachtungen hat der Umstand, dafs für die eine Krankheit mehr, für die andere weniger Erreger aufzunehmen sind, um eine Wirkung zu erzeugen: wir denken uns eine Art von Normalkrankheit.

Unter keinen Umständen unterliegt es einem Zweifel, dafs die Verteilung der Grade der Disposition zu einer Ansteckungskrankheit ebenfalls durch das Gaußsche Gesetz bestimmt wird. Nennen wir  $x$  die Zahl der Erreger, die von der relativ gröfsten Zahl von Menschen gerade noch ohne Schaden ertragen wird (immer innerhalb einer Zeiteinheit), so wird die Zahl der Individuen, welche weniger oder mehr als  $x$  Erreger ertragen können, eine etwas geringere sein und die Zahl wird beiderseits von dem Mittel  $x$  abnehmen und bei 0 Erregern ebenfalls 0 werden, denn ohne irgend einen Erreger aufzunehmen, wird kein einziger Mensch erkranken. Auch in diesem Falle wird die Abnahme von der Mitte nicht gleichmäfsig in einer geraden Linie vor sich gehen, sondern nach dem Gaußschen Gesetz. Der entgegengesetzte Nullpunkt der Kurve wird daher bei  $2x$  zu suchen sein.

Dabei ist jedoch nicht gesagt, daß die Gaußsche Kurve für die Verteilung der Dispositionen genau derjenigen für die Verteilung der Erreger gleichen müsse. Denn die Formel enthält 2 Konstante, die für jeden Fall neu zu bestimmen sind, und nach ihnen richtet sich die Gestalt der Kurve, die auf einer schmalen Grundlinie mehr in die Höhe gezogen, oder auf einer breiten mehr flachgedrückt sein kann. Hierüber habe ich das Nötige in meiner kleinen Schrift »Der Abänderungsspielraum«, Berlin (Ferd. Dümmler) 1896 auseinandergesetzt.

Wir haben nun für die Wechselwirkung der Erreger und der Dispositionen die verschiedenen Möglichkeiten näher zu untersuchen.

### **Wechselwirkung der Erreger und der Dispositionen.**

Wieviele Erreger (von mittlerer Virulenz) erforderlich sind, um einen Menschen anzustecken, ist uns unbekannt. Wenn wir uns aber ins Gedächtnis zurückrufen, daß wir vorhin angenommen haben, es kämen einzelne Schwärme von Erregern (innerhalb der Zeiteinheit) von 100 Stück vor und die häufigste Zahl, gewissermaßen der Normalschwarm, sei 50 Stück, dann ist eines ganz gewiß: die Zahl der Erreger, die der Mensch im Mittel aufnehmen kann, ist entweder kleiner, oder gleich, oder größer als die Zahl 50, die ganze Variationsbreite der individuellen Dispositionen entsprechend kleiner oder gleich größer als 100.

Betrachten wir nun die drei Fälle der Reihe nach, jeden für sich.

#### **a) Erster Fall.**

Die Zahl der Erreger, die der Mensch innerhalb einer Zeiteinheit in sich aufnehmen kann, ohne angesteckt zu werden, sei kleiner als 50. Es versteht sich, daß wir für 50 jede andere Zahl setzen können und setzen müssen, wenn die Zahl der häufigsten Erregerschwärme eine andere ist.

In Fig. 2 auf der folgenden Seite haben wir der Einfachheit wegen angenommen, die Zahl der Erreger, denen der Durchschnittsmensch gerade noch widersteht, sei 25. Dann verteilen sich die individuellen Dispositionen zwischen 0 und 50; letzteres

ist die Zahl, bei der jedes Individuum von der Krankheit erfaßt wird. In der nebenstehenden Fig. 2 ist die entsprechende Gestalt der Gauß'schen Kurve dargestellt. Auf der Abscissenachse erstreckt sich die Kurve von 0 bis 50 und der höchste Gipfel findet sich bei 25. Die Ordinaten geben wieder die verhältnismäßige Häufigkeit der Individuen für jeden Grad von Disposition. Wir müssen uns aber vorstellen, daß wir nicht eine absolute Zahl von Fällen als Ordinaten auftragen, sondern eine Verhältniszahl, etwa auf 100 berechnet, und daß wir vorhin bei den Erregern ebenso verfahren seien. Dann ist klar, daß für die Dispositionen der Scheitel der Kurve auf das Doppelte der Ordinate in die Höhe gezogen sein muß, denn die ganze, von der Kurve und der Abscissenachse eingeschlossene Fläche muß hier wie dort 100% ergeben, mit anderen Worten, die eingeschlossenen Flächen müssen in beiden Fällen einander gleich sein.

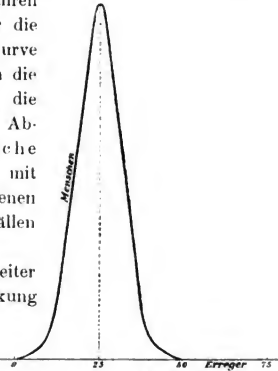


Fig. 2.

Verteilung der individuellen Krankheitsdispositionen bei den Menschen

Gehen wir nun einen Schritt weiter und fragen wir nach der Wechselwirkung der Erreger und der Dispositionen. Zu diesem Zwecke zeichnen wir die beiden Kurven von Fig. 1 und

Fig. 2 aufeinander, wie dies in Fig. 3 zu sehen ist. Die Nullpunkte decken sich natürlich, denn mit 0 Erregern wird 0 Mensch angesteckt. Was wird nun eintreten? Die Figur gibt Aufschluß. Sämtliche Individuen ohne Ausnahme werden angesteckt werden, denn jedes wird mit einer Zahl von Erregern in Berührung kommen, die zu einer Ansteckung hinreicht. Um dies auszudrücken, ist die ganze Fläche der Kurve der Menschen schraffiert worden. Es gibt keinen Punkt der Menschenkurve, der rechts außerhalb der Erreger-Kurve in den ansteckungsfreien Teil der Abscissenachse fallen würde. Die Frage, ob die angesteckten Individuen

sterben oder genesen, lassen wir hier ganz außer acht, da sie für unsere Betrachtung unerheblich ist; wir haben es nur mit der Disposition zur Erwerbung der Krankheit zu thun. Nach dem weiteren Schicksal der Befallenen werden wir später fragen müssen, es liegt aber kein Grund vor, die Sache jetzt schon mehr als nötig verwickelt zu machen.

Es wäre falsch, anzunehmen, die Individuen, welche durch den in der Höhe über die Erreger Kurve hinausragenden Teil

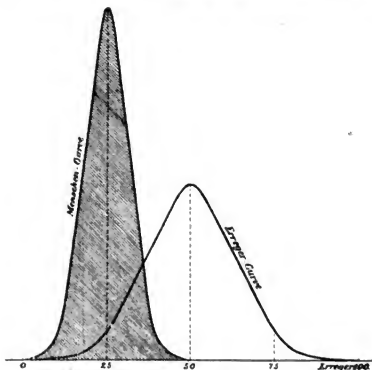


Fig. 3

Wechselbeziehung der Erreger-Kurve und der Menschen-Kurve im Fall 1.

der Menschen-Kurve vorgestellt werden, könnten seuchenfrei bleiben. Die Erreger-Kurve stellt nur die Erreger dar, welche in einer Zeiteinheit sich dem Menschen zur Aufnahme darbieten. Wer sie nicht in der ersten Zeiteinheit aufnimmt, hat in der zweiten, dritten, oder irgend einer folgenden ausreichend Gelegenheit dazu.

#### b) Zweiter Fall.

Die Zahl der Erreger, die der mittlere Mensch ohne Schaden aufnehmen kann, sei der mittleren Zahl der Erregerschwärme gleich.



Dies ist ein Grenzfall, den wir erhalten, wenn wir in der vorhergehenden Fig. (3) den Endpunkt der Menschen-Kurve von dem Punkt bei der Zahl 50 allmählich über 75 nach 100 rücken und den Scheitel entsprechend erniedrigen. Sind wir bei 100 angekommen, so wird die Menschen-Kurve mit der Erreger-Kurve vollständig zusammenfallen, und es wird sich an den vorhin gezogenen Folgerungen nichts ändern. Die ganze Fläche bleibt schraffiert, denn auch bei dieser Annahme kann kein Mensch der Ansteckung entgehen. Die Fälle a und b können daher keine Dauerzustände darstellen: sie würden die Menschheit ausrotten.

### c) Dritter Fall.

Die mittlere Zahl, die der Mensch ertragen kann, sei größer als 50. Dann ändert sich die Sache.

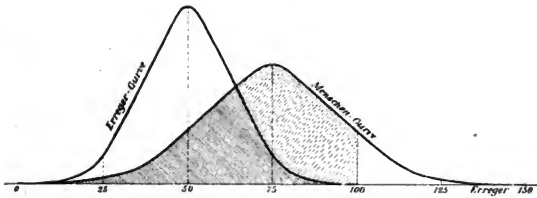


Fig. 4.

Wechselbeziehung der Erreger-Kurve und der Menschen-Kurve im Fall 3.

In der nebenstehenden Fig. 4 haben wir gleich beide Kurven übereinander gezeichnet. Die Erreger-Kurve ist die nämliche wie vorhin, aber die Menschen-Kurve ist auf der Abscissenachse bis in das seuchenfreie Gebiet rechts von dem Punkte 100, und zwar des Beispiels wegen bis zu dem Punkte 150 ausgedehnt. Hier ergeben sich nun sehr bedeutsame Unterscheidungen. Die Individuen, welche in den dunkel schraffierten Teil der Menschen-Kurve fallen, werden unbedingt angesteckt, weil sie jedenfalls mit einer größeren Zahl von Erregern in Berührung kommen als sie ertragen können. Sie sind die ersten und sichersten Opfer, die schon in der ersten Zeit ergriffen werden.

Die entgegengesetzt und lichter schraffierte Fläche zeigt uns Individuen, die nur unter Bedingungen von der Krankheit heimgesucht werden. Ihre Widerstandsfähigkeit liegt größtenteils über Mittel, und die Kurve der Erreger bleibt innerhalb der Menschen-Kurve, d. h. die betreffenden Individuen fallen nur dann der Seuche anheim, wenn sie zufällig in einer Zeiteinheit mit einem der stärkeren Erregerschwärme in Berührung kommen, und diese Schwärme gehören verhältnismäßig zu den selteneren, so daß die Individuen nicht unter allen Umständen ergriffen zu werden brauchen. Alle, bis zur Zahl 100, sind der Gefahr ausgesetzt.

Aber alle zwischen der Zahl 100 und der Zahl 150 — freilich nur ein ziemlich kleiner Teil wegen der Einbuchtung der Kurve sind vor jeder Ansteckung gesichert — sind immun und zwar vollständig immun. Dabei rufen wir aber die Voraussetzung ins Gedächtnis: die Kurve der Erreger hat nur in der Praxis bei 100 ein Ende, theoretisch nähert sie sich der Abscissenachse asymptotisch und verschmilzt sich mit ihr erst im Unendlichen. Das heißt mit Worten, es können unter gegebenen Umständen, ausnahmsweise, auch Erregerschwärme von mehr als 100 Stück vorkommen, und gegen solche abnorme Angriffe sind auch die Individuen unserer Kurve zwischen 100 und 150 nicht mehr gefestigt. Selbstverständlich gilt die gleiche Bemerkung hinsichtlich der Menschen-Kurve, d. h. es giebt immer einzelne Leute, die auch mehr als 150 Erreger tragen können, aber sie sind gewiß sehr selten und nur als Ausnahmen anzusehen. Machen wir jedoch die Voraussetzung, daß die Menschen-Kurve auf der Abscissenachse bis 200, 300, 400 u. s. w. Erreger gehe, so rückt ihr Scheitel nach 100, 150, 200, d. h. der seuchenfeste Teil der Individuen wird größer und größer. Die Betrachtung dürfte gerade deswegen von Wert sein, weil sie die größere oder geringere Häufigkeit der absoluten Seuchenfestigkeit begreifen lehrt.

Die Erreger-Kurve und die Menschen-Kurve durchschneiden sich in Figur 4 an einem Punkte, dessen Abscisse ungefähr bei der Zahl 64 liegen dürfte; eine rechnerische Bestimmung würde

sehr schwierig und an viele Voraussetzungen geknüpft sein, und der Wert für unsere weitere Erkenntnis würde nicht im Verhältnis zu der Mühe stehen. Zwischen 64 und 100 giebt es Individuen von verhältnismäßiger Immunität, und die Wahrscheinlichkeit, daß solche angesteckt werden, nimmt von 64 bis 100 beständig ab, um bei 100 gleich 0 zu werden. Es giebt also jedenfalls unter den gemachten Annahmen eine gewisse Zahl von Individuen, deren Ansteckung sehr unwahrscheinlich oder praktisch unmöglich ist, neben solchen von absoluter Immunität.

### Folgerungen.

Bis jetzt haben wir uns um das weitere Schicksal der erkrankten Individuen nicht bekümmert. Es giebt meines Wissens keine Infektionskrankheit, bei der alle Befallenen sterben müssen, wiewohl der Prozentsatz der Opfer sehr wechselnd ist und bei einigen Krankheiten hoch ansteigt. Aus diesem Grunde ist die Fortsetzung einer allgemeinen Betrachtung von hier an nicht möglich. Wir müßten die verschiedenen Grade von Sterblichkeit und Genesung untersuchen, und das würde sehr umständlich sein. Besonders schwierig wird die Sache dadurch, daß bei manchen Krankheiten die genesenen Individuen auf kürzere oder längere Zeit verschont werden, also eine fast unbedingte Immunität besitzen, während bei anderen Arten von Krankheit gerade die einmal befallenen Gewesenen der Gefahr einer Wiederholung besonders ausgesetzt sind.

Um eine Vereinfachung zu erzielen, wollen wir uns an die allerschwerste Form halten und nun einmal uns fragen, was weiter geschieht, wenn alle Erkrankten ohne Ausnahme sterben. In diesem Falle gehen uns die Individuen der dunkel schraffierten Fläche (Fig. 4) gänzlich verloren. Wir können eine neue Kurve (Fig. 5, I) zeichnen, in der die links von Abscisse 64 liegenden Individuen fehlen, die Kurve also erst bei 64 beginnt. Von hier bis 100 nimmt die Wahrscheinlichkeit des Befallenwerdens ab bis zu 100, aber der größte Abstand der Erreger-Kurve und der Menschen-Kurve liegt vermöge der Gestalt der Kurven nicht bei

100, sondern etwas links davon bei 82. Tragen wir uns die Differenzen der Ordinaten, d. h. die der hell schraffierten Fläche auf einer neuen Abscissenachse auf und fügen wir die rechtseitige, unschraffierte Fläche der Menschen-Kurve hinzu, so bekommen wir eine Kurve, die in der nebenstehenden Figur mit I bezeichnet ist, und die eine eigentümliche Form hat. Sie ist, wie der Augenschein sofort erkennen läßt und die Überlegung bestätigt, nicht symmetrisch; der Scheitel liegt bei 82 statt bei 100. Solche asymmetrische Kurven entstehen immer, wenn die natürliche Auslese auf einer Seite der Kurve eingreift, oder auch

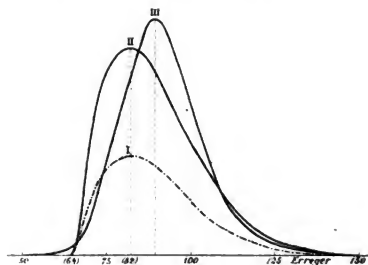


Fig. 5.

Wirkung der natürlichen Auslese und Entstehung neuer Menschen-Kurven  
In den nächsten Geschlechterfolgen.

dann, wenn dieselbe auf einer Seite tiefer eingreift als auf der anderen Seite des Abänderungsspielraumes. Hierauf braucht nicht weiter eingegangen zu werden, weil dies in meiner vorhin zitierten Schrift ausführlich dargelegt ist. Wir haben auf der Abscissenachse, links von der Scheitelordinate, nur 18 Einheiten, auf der rechten jedoch 68 Einheiten. Das ist die Folge davon, daß die natürliche Auslese auf der linken Seite einen großen Teil der Individuen hinweggerafft hat.

Ehe wir weiter gehen, müssen wir die Fläche der Kurve wieder auf 100 % bringen, um für die weggefallenen Flächen Ersatz zu schaffen und einen gleichen Maßstab anzuwenden.

Wir haben deswegen alle Ordinaten entsprechend im gleichen Verhältnis zu erhöhen und bekommen dadurch die Kurve II, die wieder 100% einschließt.

Bei dieser Kurve bleibt aber die Art (hier der Mensch) nicht stehen, und bei dem ferneren Verlauf der Sache spielt die zweigeschlechtliche Fortpflanzung eine bedeutsame Rolle.

Die Kurve II gilt im allgemeinen sowohl für Männer als für Frauen. Bei den Eheschließungen verbinden sich beliebige Individuen ohne Rücksicht auf die Grade ihrer Seuchenfestigkeit miteinander, d. h. es herrscht in dieser Beziehung Panmixie. Es paaren sich Individuen mit geringer Festigkeit mit solchen mit hoher Festigkeit und solche von mittlerer Festigkeit mit solchen von mittlerer, auch solche von niederer mit mittlerer.

Die Kinder eines Paares sind in der Regel sehr verschieden. Wenn ein Erzeuger geringe, der andere hohe Seuchenfestigkeit besitzt, so werden Kinder zum Vorschein kommen, die teils niedere, teils hohe, teils mittlere Festigkeit haben. Die letzteren werden jedoch an Zahl überwiegen, weil auch für diese Verhältnisse die Gaußsche Kurve mit ihrer Ausbauchung in der Mitte Geltung hat. Die Folge ist, daß in der nächsten Geschlechterfolge die mittelguten Individuen etwas zunehmen. Da die Kinder aus den Ehen von Eltern, die beide mittlere Festigkeit besitzen, ebenfalls zum größten Teil mittlere Festigkeit zeigen werden, und die Kinder der Paare mit mittlerer bis hoher, sowie der Paare von mittlerer bis niederer ebenfalls der Mittellinie nahe stehen, so kann man sich die Gestalt der entstehenden Kurve ungefähr vorstellen. Man muß aber dabei den Umstand berücksichtigen, daß die elterlichen Individuen unterhalb des Scheitels (links von demselben) an Zahl seltener sind als die oberhalb, weil die Kurve dort sich nur über 18 Einheiten erstreckt und steiler abfällt, als auf der oberen Seite (rechts), wo sie über 68 Einheiten geht und flacher verläuft. Deswegen wird der Gesamteinfluß der schlechten Seite auf die Gestaltung der Kurve der Nachkommenschaft geringer sein als der der guten Seite, und wir werden mehr gute als schlechte Individuen vor uns haben.

Wegen der Überzahl der mittelguten Individuen wird sich der Scheitel der neuen Kurve etwas heben, und wegen der geringeren Zahl der schlechten und der Überzahl der guten Individuen wird er nach rechts hinüber wandern.

Wir bekommen also für die erste Generation nach derjenigen, auf welche wir zuerst die Auslese wirken ließen, eine Kurve wie die mit III bezeichnete in Figur 5.

Diese Kurve würde von rechtswegen links bei Abscisse 64 endigen, aber nur, wenn es keine Rückschläge gäbe. Bei der Fortpflanzung treten jedoch immer Rückschläge auf, und namentlich die Individuen, die sich unmittelbar rechts von Abscisse 64 befinden, werden in ihrer Nachkommenschaft nicht wenige Individuen zählen, die auf die linke Seite von Abscisse 64 fallen. In der Fig. 5 haben wir deswegen die Kurve III mit ihrem linken Ast nicht bei 64 an die Abscissenachse angeschlossen, sondern sie noch ein Stückchen weiterrach links geführt. Der Punkt des schlechtesten Rückschlages läßt sich theoretisch nicht bestimmen, da man über Rückschläge wenig weiß. Ich habe die Kurve bei 50 in die Abscissenachse einmünden lassen, aber dieser Punkt ist willkürlich gewählt. Für die Theorie ist es gleichgültig, ob die Kurve etwas weiter nach links geht oder nicht.

Wirkt nun die natürliche Auslese auf die neue Generation, die durch die Kurve III dargestellt wird, ebenso ein, wie sie auf die ursprüngliche Kurve in Fig. 4 eingewirkt hat, so werden abermals alle Individuen von weniger als 64 Seuchenfestigkeit und zum Teil auch die zwischen 64 und 100 weggerafft, ganz so, wie es oben beschrieben wurde. Die Zahl derselben ist aber geringer als sie bei den Eltern war. Die Folge ist, daß mit jeder Generation der Gipfel der Kurve sich etwas erhöht und dabei um stets abnehmende Beträge immer weiter nach rechts rückt. Die zweigeschlechtige Fortpflanzung strebt darnach, die Individuen einander ähnlicher zu gestalten, die Abweichungen vom Typus an Zahl einzuschränken, und die Zahl derer, die durch ungenügende Seuchenfestigkeit und durch Rückschlag der Krankheit zum Opfer fallen, kleiner und kleiner zu machen.

Gäbe es keine Rückschläge, so würde bald ein Punkt erreicht werden, an dem alle lebenden Individuen seuchenfest sind und der Anfangspunkt der Kurve bei 50 würde bald über 64 hinaus bis nach 100 rücken, wobei der Gipfel ebenfalls immer weiter nach rechts geschoben würde, ohne jedoch die Mitte der Abscissen zu erreichen. Mit anderen Worten, die natürliche Auslese würde sich ganz rein in der ihr von Darwin zugeschriebenen Rolle zeigen, die Rasse zu verbessern. Die unvermeidlichen Rückschläge vermindern die erfolgreiche Wirksamkeit der Auslese und führen derselben immer neue Opfer in jeder Geschlechterfolge zu.

Wenn nicht alle Angesteckten sterben, sondern viele genesen, aber nun entweder für längere Zeit seuchenfest oder noch weniger widerstandsfähig sind als zuvor, so wird die Sache unübersichtlich. Wird die erlangte Seuchenfestigkeit nicht vererbt, so kann man nur so viel mit Gewißheit sagen, daß je höher die Zahl der Genesungen Befallener ist, desto größer die Zahl der Erkrankungen in den folgenden Generationen sein wird.

### **Besondere Verhältnisse.**

Die Rückschläge sind nicht der einzige Faktor, welcher der natürlichen Auslese Opfer zuführt. Es ist jetzt Zeit, eines Umstandes zu gedenken, auf den schon im Eingang angespielt wurde, den wir aber absichtlich außer acht ließen, um die Betrachtung nicht zu verwickelt zu machen. Dies sind die besonderen Verhältnisse, in denen die Individuen leben. Ein seuchenfester Mensch kann durch eine vorübergehende Überanstrengung oder schlechte Ernährung in seinem Widerstandsvermögen so geschwächt werden, daß eine geringere Zahl von Erregern hinreicht, um ihn anzustecken. Oft ist es auch eine leichtere, an sich unbedeutende Erkrankung, die den verhängnisvollen Ansteckungskeimen einer tödlichen Seuche den Boden bereitet. Wir erinnern nur daran, wie oft ein Katarrh oder eine leichte Lungenentzündung in Tuberkulose übergehen.

Deswegen sind die Seuchen auf zwei Wegen zu bekämpfen: Einmal durch möglichste Kräftigung der Individuen durch

Volkshygiene, wodurch die Widerstandsfähigkeit erhöht, also mit anderen Worten eine grössere Zahl von Erregern erforderlich wird, um eine Ansteckung hervorzurufen. Sodann durch Verminderung des Erregergehaltes der Luft etc. in der Umgebung der Menschen, wodurch ebenfalls eine bedeutende Zahl von weniger seuchenfesten Individuen über die Gefahrgrenze gehoben wird. In diesen Folgerungen treffen wir wieder mit Hueppe zusammen.

Sehr bedeutende Gestaltsveränderungen erleidet die Menschenkurve jedenfalls dadurch, daß bei manchen Krankheiten das einmalige Überstehen derselben für eine gewisse Zeit immun macht, sowie auch durch die spezifische Impfung, die den gleichen Effekt hat. Dadurch werden mehr Individuen auf der rechten Seite der Kurve angehäuft, die vorher auf der linken standen, und es tritt eine Form hervor, die nicht mehr eine reine Gaufssche Kurve sein kann. Diese Verhältnisse sind jedoch so unbestimmt und verwickelt, daß sie sich einer allgemeinen Betrachtung entziehen.

Zum Schluß möchten wir die Aufmerksamkeit einem bis jetzt nicht immer beachteten Umstande zuwenden. Es ist ein großer Unterschied, ob eine Seuche es namentlich auf das kindliche Alter abgesehen hat und die schwach widerstandsfähigen Individuen beseitigt, wie z. B. Scharlach, Diphtherie, Pocken u. a., oder ob sie, wie die Tuberkulose, einer größeren Anzahl disponierter Individuen gestattet, das zeugungsfähige Alter zu erreichen und Nachkommenschaft zu hinterlassen. Dadurch wird die erbliche Anlage sozusagen verewigt, und es erklärt sich leicht, warum diese Krankheit eine um so viel größere Rolle bei den Todesfällen spielt als jene vorgenannten. Die Vermeidung der Heirat Tuberkulöser oder mit tuberkulöser Anlage Behafteten müßte deswegen in den Kreis der prophylaktischen Ratschläge aufgenommen werden.

Ein Rückblick auf das Vorgetragene lehrt auch, warum Menschen, die in eine neue Umgebung versetzt werden, von den dort heimischen Volkskrankheiten viel öfter befallen werden als



die Einheimischen, z. B. Weisse von den bösen Fiebern in Afrika, Neger von der Tuberkulose in Europa. Ihr Zustand ist der von Fig. 4. Sind aber ihre Nachkommen längere Zeit der betreffenden Auslese unterworfen gewesen, so wird ihr Zustand durch Fig. 5 dargestellt mit der abnehmenden Zahl der Opfer. Das nennt man Anpassung.

Unsere Betrachtungsweise ist daher geeignet, über manches klarere und bestimmtere Vorstellungen hervorzurufen, die einigen theoretischen Wert haben, wenn sie auch schwer auf ganz specielle Krankheiten und sonstige specielle Verhältnisse anzuwenden sind.

---

gob

307

# Versuche über Typhusagglutinine und -Präcipitine.

Von

Privatdozent Dr. **Oskar Bail**,  
Assistenten des Institutes.

(Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität in Prag.  
Vorstand: Prof. F. Hueppe.)

## I. Historische Einleitung.

Die ältere Litteratur dieses Gegenstandes ist mehrfach in erschöpfender Weise zusammengestellt worden, so dafs es genügt, auf einige diesbezügliche Arbeiten<sup>1)</sup> zu verweisen. Die überaus zahlreichen, seither erschienenen Mitteilungen, die sich auf die durch Gruber-Widal begründete Verwertung des Agglutinationsphänomens zu diagnostischen Zwecken beziehen, kommen für das Folgende kaum in Betracht. Ebenso rückt die Frage nach der absolut qualitativen oder nur relativ quantitativen Specificität der Haufenbildung von Bakterien durch das zugehörige Immuneserum mehr in den Hintergrund, während die Erörterung des Wesens der Agglutination und Präcipitation, der haufbildenden und niederschlagenden Eigenschaften des Serums vorbehandelter Tiere in erster Reihe steht.

In Anbetracht der kurzen Bekanntschaft mit diesen Eigenschaften ist die Zahl der mehr minder abweichenden Anschauungen, die von berufenen Forschern hierüber zum Ausdruck gebracht wurden, nicht gering.

1) Namentlich: Bensaude, R., *Le phénomène de l'agglutination des microbes et ses applications à la pathologie*, 1897, Paris. Carré et Naud. Trumpp, J., *Dieses Archiv*, Bd. 31, S. 70 ff.

Der eigentliche Entdecker der Agglutination, Gruber<sup>1)</sup>, nahm an, daß die im Serum immunisierter Tiere vorhandenen Stoffe, die Agglutinine, die Hüllen der Bakterienleiber zum Verquellen bringen. Infolgedessen werden nunmehr die Bakterienzellen klebrig, haften aneinander, verkleben zu großen Klumpen, selbstverständlich unter Verlust ihrer Beweglichkeit.

Eine weitere Folge der Quellung der Bakterienmembran ist nun ihre leichte Durchgängigkeit für die bakterienfeindlichen Stoffe des Serums, die im normalen Organismus vorhandenen Alexine Buchners, die nunmehr zu einer erhöhten Wirkung ohne weiteres befähigt sind. Abgesehen von dieser, hier weniger interessierenden Erklärung der spezifischen Bactericidie der Immunserei, die sich an die kurz vorher erschienene Anschauungsweise Bordets<sup>2)</sup> anschließt, machte schon damals Gruber die für die Folge überaus wichtige Beobachtung, daß die Agglutinine durch den Prozeß der Haufenbildung verbraucht werden.

Nach dieser Erklärungsweise ist somit sowohl das Unbeweglichwerden der Bakterien, wie ihr Zusammentreten zu Haufen, etwas Sekundäres, das nur eine notwendige, gewissermaßen mechanische Folge der primären Wirkung ist, welche lediglich die Bakterienmembranen zur Quellung bringt und klebrig macht.

Man kann sofort zugeben, daß eine so tiefgreifende Änderung der Leibeshülle, die zarten Leibesanhänge der Bakterien, die Geißeln vernichtet, und daß damit die Bewegungslosigkeit nach Zusatz von Immunsereum aufs beste erklärt wird.

Unerklärt bleibt aber dabei die Erscheinung, daß die Bakterien nun, wie von einer unsichtbaren Gewalt, zu einander hingezogen werden, selbst dann, wenn sie vorher abgetötet<sup>3)</sup> und in einer so dünnen Aufschwemmung vorhanden sind, daß große Zwischenräume die einzelnen Zellen trennen. Immerhin würde sich schließlich hierfür eine Erklärung vielleicht finden

1) Gruber, Wiener klinische Wochenschr., 1896, Nr. 11 ff., Münchner medicin. Wochenschr., 1896, Nr. 13 (mit Durham), ebenda, 1897, Nr. 17, Autoreferat im Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. 19, Nr. 15.

2) Bordet, Annales de l'Institut Pasteur, 1895 u. 1896.

3) Widal et Sicard, Société de biologie, 1897, Januar, u. a.

lassen, etwa durch Flüssigkeitsströmungen, welche die Bakterien einander nähern, und die wohl schwer zu vermeiden sein werden. In der That hat ja Dineur Versuche angeführt, wonach eine Haufen- und Flockenbildung unter Umständen durch passive Bewegungen gefördert werden kann<sup>1)</sup>.

Die unerläßliche Forderung aber, welche die Grubersche Erklärungsweise erfüllen muß, ist das sinnliche Sichtbarwerden der Quellung. Trotz der Kleinheit von Typhusbakterien oder Choleravibrionen müßte sich diese Erscheinung nachweisen lassen. Thatsächlich ist Ähnliches beobachtet worden<sup>2)</sup> und besonders die Untersuchungen Rogers<sup>3)</sup> über das Aufquellen von Soorpilzzellen im Serum dagegen immunisierter Tiere scheinen tiefen Eindruck gemacht zu haben.

Diese Beobachtungen verloren jedoch ihr Gewicht vollständig, als man erkannte, wie reine, nur die Agglutinine enthaltenden Sera wohl typische Haufenbildung, niemals aber Quellung von Bakterien hervorrufen konnten, während diese zu beobachten war, sobald noch Alexin im Serum vorhanden ist<sup>4)</sup>.

Die durch Belfanti und Carbone eingeleiteten, durch Bordet, Ehrlich u. v. a. zu hoher Vollkommenheit gebrachten Studien über die Auflösung von roten Blutkörperchen durch normale und spezifische Sera, welcher sehr oft eine Agglutination vorangeht, zeigten dann weiter, dafs Haufenbildung auch an Zellen stattfindet, die einer Membran im üblichen Wortsinne entbehren, und die bei reiner Agglutinationswirkung in keiner sichtlichen Weise verändert werden.

Im wesentlichen nur eine Modifikation der Gruberschen Anschauungsweise stellt die Lehre von Dineur<sup>5)</sup> dar, welche auf Veränderungen der Geißeln das Hauptgewicht legt. Eine

1) Dineur, cit. nach Bordet, Annales de l'Institut Pasteur, 1899, Nr. 3; daselbst auch Kritik der Versuche.

2) Reiche Litteraturangaben siehe bei Trumpp, Dieses Archiv, Bd 31, S. 138 ff.

3) Roger, cit. nach Trumpp.

4) Bordet, Annales de l'Institut Pasteur, 1899, Nr. 3.

5) Dineur, Recherches sur le mécanisme de l'agglutination du bacille typhique. Cit. nach Bordet, a. a. O.; daselbst auch Kritik.

besondere Verbreitung hat diese Lehre, die sich nur auf einen speciellen Fall bezog und für welche z. B. die Haufenbildung der roten Blutkörperchen eine unüberwindliche Schwierigkeit bildet, nicht gefunden.

Auf einem ganz andern Prinzip fußt die Erklärung der Agglutinationsmechanik durch Paltauf<sup>1)</sup>. Dieselbe wurde ermöglicht durch die schönen Entdeckungen von Kraus<sup>2)</sup> über spezifische Fällungsreaktionen durch Immunsera. Setzte man nämlich Serum typhus- oder choleraimmuner Tiere zu Filtraten der entsprechenden Bakterienkulturen, so entstand nach einiger Zeit Trübung und Niederschlagsbildung. Diese »präcipitierende« Fähigkeit, die das Serum vorbehandelter Tiere annehmen kann, zurückgeführt auf eigene Stoffe, die Präcipitine, wurde in neuerer Zeit als weit verbreitet erkannt und zum Teil auch für praktische Zwecke diagnostischer Natur verwertet<sup>3)</sup>.

Solche Niederschlagsbildungen sollen nun nach Paltauf auch bei nicht filtrierten, bakterienhaltigen Kulturen entstehen, gewissermaßen mechanisch und sekundär die Bakterien einhüllen, bewegungslos machen und zu großen Haufen zusammenführen. Die überaus ansprechende Hypothese hat ihre ersten Schwierigkeiten in dem Mifsverhältnisse zwischen Stärke der Agglutination und der Niederschlagsbildung gefunden. Die Niederschläge des Krausschen Phänomens kann man mikroskopisch wahrnehmen, sie sind auch der Färbung zugänglich<sup>4)</sup>. Selbst bei stärkster Agglutination von Bakterien sieht man aber nichts davon. Ferner

1) Paltauf, Wiener klin. Wochenschrift, 1897, Nr. 10.

2) Kraus, Wiener klin. Wochenschrift, 1897, Nr. 16 u. 32.

3) Um nur einige Beispiele zu geben: Kaninchen mit Hühnerblut behandelt, liefern ein Serum, welches mit Hühnerserum, Kaninchen mit Menschenserum behandelt, geben ein solches, welches mit Menschenserum Trübung gibt. (Bordet, Uhlenhuth u. a.) Vorbehandlung mit verschiedenen Eiweißkörpern läßt ein diese Stoffe aus Lösungen fallendes Serum entstehen (Myers u. a.). In die Reihe dieser Präcipitationserscheinungen gehören wohl auch Versuchsergebnisse, die bisher mit Agglutination s. str. in Zusammenhang gebracht wurden, z. B. die caseinfällende Kraft des Serums von Kaninchen, die mit Milch vorbehandelt sind, sowie die »Agglutination von Tuberkelbacillen« nach Kochs neuesten Mitteilungen.

4) Nicolle, Annales de l'Institut Pasteur, 1898, Nr. 3.

findet die Agglutination gleich intensiv statt, ob man nun reine Bouillonkultur z. B. von Typhusbakterien verwendet, oder aus der gleichen Bouillon die Bakterien durch mehrmaliges Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung reinigt. Wenn auch durch letzteren Vorgang eine Entfernung der niederschlaggebenden Stoffe nicht erreicht werden könnte, eine Verdünnung müßte doch eintreten. Gleichwohl ist kein Unterschied in der Schnelligkeit des Eintretens, wie in der Intensität der Haufenbildung wahrzunehmen. Ferner wurde das zeitliche Mißverhältnis zwischen Entstehung der Fällung und Eintritt der Haufenbildung betont. Erstere braucht oft viele Stunden, letztere tritt binnen wenigen Minuten ein. Diese Schwierigkeit wäre vielleicht nicht unüberwindlich, denn abgesehen davon, daß die Trübung durch Fällung zu einer Zeit, wo sie erst auf unsere Sinne einwirkt, schon vorher unsichtbar thätig gewesen sein kann, so gibt es auch Sera, bei denen Präcipitation wie Agglutination sehr rasch erfolgen, wie weiter unten gezeigt werden wird.

Der Palt aufsche Erklärungsversuch wurde aber unzulänglich, als gezeigt werden konnte, daß präcipitierende und agglutinierende Eigenschaften im Serum vollständig voneinander unabhängig seien, daß man die eine durch entsprechende Bindung aufheben könne, ohne die andere zu schädigen. Diesem Nachweise wird ein eigenes Kapitel gewidmet werden.

Eine eigentümliche Verbindung der Palt aufschen Hypothese mit der Gruberschen Vorstellung des Mechanismus der Haufenbildung findet sich bei Nicolle<sup>1)</sup>. Der agglutinierenden Substanz im Serum des Immunieres entspricht eine agglutinable Substanz (*substance agglutinée*), die sich in den Bakterien selbst, besonders in deren äußerer Schicht findet. Bei länger dauernder Kultur in flüssigen Nährböden, unter Umständen auch durch geeignete Auslaugeweisen, geht sie gelöst in das umgebende Medium über. Die agglutinable Substanz verbindet sich mit der agglutinierenden und dadurch entsteht in Kulturfiltraten Trübung

1) Nicolle, Ch., Recherches sur la substance agglutinée. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1898, Nr. 3; sowie: *Comptes rendus de la soc. de biol.*, 1898 (letzte Arbeit war leider nicht zu erhalten).

und Fällung, in bakterienhaltigen Flüssigkeiten aber, durch Aufquellen der agglutinablen Stoffe in den Zellmembranen und Zusammenfließen der äußeren Schichten benachbarter Mikroben Haufenbildung. Die sehr wertvollen Beobachtungen Nicolles über Beeinflussung seiner agglutinablen Stoffe durch verschiedene äußere Einflüsse werden gelegentlich erwähnt werden. Seine Anschauung über das Wesen der Agglutination steht und fällt mit der Beantwortung der Frage der Selbständigkeit oder gegenseitigen Abhängigkeit der niederschlag- und haufbildenden Fähigkeit des Immunserums.

In anderer Weise als die bisherigen Forscher faßte Bordet<sup>1)</sup> das Agglutinationsphänomen auf. Er betrachtete zunächst das Eintreten der Haufenbildung als den Ausdruck der molekularen Attraktion zwischen körperlichen, kleinen Partikeln und der umgebenden Flüssigkeit. Eine solche Veränderung der normalen Attraktion gibt das alte Beispiel einer feinen Thonauflschwemmung, die an sich lange Zeit trübe bleibend, schon nach kurzer Zeit Klärung unter Flockenbildung zeigt, sobald man Kochsalz zusetzt. Später unterschied Bordet zwei Phasen der Agglutination: Die erste ist eine biologische, gekennzeichnet namentlich durch die ausgesprochene Specificität des Vorganges, bei welchem das Agglutinin auf den Bakterien fixiert wird. Erst dadurch, unter dem Einflusse der Agglutinine, wird in der jetzt folgenden zweiten Phase die Molekularattraktion der Bakterien untereinander und mit der umgebenden Flüssigkeit geändert und dadurch das Zusammenfließen zu großen Haufen bewirkt. Letztere Anschauungsweise stimmt überein mit der von Duclaux<sup>2)</sup> vertretenen Ansicht über das Wesen des Gerinnungsvorganges.

Die Arbeit Bordets bedeutet einen sehr wesentlichen Fortschritt; namentlich die Trennung des Vorganges in zwei Phasen, deren erstere bedingt ist durch die von Gruber entdeckte, lange Zeit nicht genügend beachtete Bindung (Fixation) des Agglutinins an die zugehörigen Bakterien und die erst dadurch

1) Bordet, Le mécanisme de l'agglutination. Annales de l'Institut Pasteur, 1899, Nr. 3.

2) Duclaux, Traité de microbiologie, Bd. II, 1899, Chap. XV u. XVI.



bedingte Ermöglichung der Haufenbildung ist von größter Bedeutung und findet in den folgenden Versuchen ihre Erklärung. Für dieselbe lagen übrigens bereits Versuche in der Litteratur vor, die aber fast ganz vernachlässigt wurden, weil eine Deutung z. Z. unmöglich sein mußte. Hierher gehört die von Ransom und Kitashima<sup>1)</sup> beobachtete Thatsache, daß Choleravibrionen, in agglutininhaltiger Bouillon gezüchtet, die Fähigkeit zur Haufenbildung mehr weniger einbüßen.

Die Bordetsche Anschauungsweise macht auch die Bedeutung der Salze einigermaßen verständlich, welche in neuester Zeit in den Vordergrund der Diskussion getreten ist<sup>2)</sup>. Was man den Bordetschen Arbeiten zum Vorwurfe machen kann, ist die nicht genügend scharfe Auseinanderhaltung von Präcipitation und Agglutination, obwohl Bordet selbst es gewesen ist, der diesen Unterschied gegen Paltauf hervorgehoben hat. Allerdings gibt hierfür die weitgehende Analogie, welche er und noch mehr Duclaux (»l'agglutination est une coagulation«) in der Haufenbildung mit der Gerinnung (nach Duclaux' Hypothese) suchen, eine Erklärung. Das von Bordet bei Erklärung der Agglutination herangezogene Beispiel, die Caseïnausfällung durch das Serum von Tieren, die mit Milch vorbehandelt wurden, gehört wohl sicher in das Gebiet der Präcipitationserscheinungen.

Gerade für die Untersuchungen an Bakterien muß Haufen- und Niederschlagsbildung auf das Strengste auseinandergehalten werden; denn die Unabhängigkeit der sie bewirkenden Eigenschaften des Serums läßt sich Fall für Fall nachweisen. Das hindert nicht, einen nahen genetischen Zusammenhang beider anzunehmen; denn beide wirken jedenfalls auf nahe verwandte Stoffe der Bakterienzelle, die bei der Agglutination ungelöst im Zusammenhange mit der lebenden oder frisch getöteten Bakterienzelle, bei der Niederschlagsbildung von der Zelle getrennt, im gelösten Zustande in der Flüssigkeit vorhanden sind.

1) Mitteilungen aus dem Institute für experimentelle Therapie in Marburg. III. Deutsche mediz. Wochenschrift, 1898, Nr. 19.

2) Bordet, a. a. O. Joos, Zeitschrift f. Hygiene, XXXVI.

Diese Auseinanderhaltung beider Vorgänge hindert auch nicht, für beide den analogen Mechanismus des Zustandekommens von Haufen und Niederschlagsbildung anzunehmen und zwar im Sinne der Erklärung Bordets, welche von allen bisherigen Versuchen den Thatsachen am meisten gerecht wird.

In welchem Zusammenhange die Versuche der neueren Zeit, die Agglutination als Wirkung von Ausscheidungsprodukten der Mikroorganismen selbst zu betrachten, mit den Befunden im Immuneserum stehen, läßt sich gegenwärtig wohl kaum noch entscheiden. Emmerich und Löw<sup>1)</sup>, die eigentlichen Begründer dieser Anschauung, haben in Müller<sup>2)</sup> einen Widersacher gefunden, dessen Gründe dagegen nicht leicht zu entkräften sein dürften. Aus eigener Anschauung läßt sich behaupten, daß die Zusammenballung von *Pyocyaneusbakterien* am Grunde alter Bouillonkulturen, denn doch mit dem, was wir sonst Agglutination nennen, nur eine sehr oberflächliche Ähnlichkeit besitzt.

Jedoch finden sich ähnliche Angaben in der Litteratur häufig genug, um diese Frage noch als eine offene bezeichnen zu können. Die Angaben von Malvoz<sup>3)</sup> und Nicolle<sup>4)</sup> gehören u. a. hierher.

## II. Teil. Eigene Versuche.

### Vorbemerkungen.

Der Verlauf einer intraperitonealen Typhusinfektion beim Meerschweinchen ist bekannt und im allgemeinen so regelmäßig, daß bemerkenswerte Eigentümlichkeiten kaum je auftreten. Ist die Menge der eingespritzten Bakterien groß genug, so sind die Krankheitserscheinungen und der Sektionsbefund völlig übereinstimmend, gleichgültig, ob es sich um virulente oder abgeschwächte Typhusbakterien handelt. Die Tiere werden sehr bald matt, sitzen mit gesträubten Haaren unbeweglich in einer

1) Zeitschr. f. Hygiene, XXXI

2) Centralblatt f. Bakteriologie, 1900, Nr. 18.

3) Malvoz, Annales de l'Institut Pasteur, 1899, S. 630.

4) Nicolle, siehe Anmerkung S. 311.

Ecke, die Temperatur ist anfangs meist, aber nicht immer, erhöht, um späterhin subnormale Werte anzunehmen. Die Schnelligkeit des Eintretens dieser Symptome, sowie des Todes hängt nur von der Menge der injizierten Bakterien, die natürlich je nach der Virulenz derselben eine ganz verschiedene sein kann, ab.

Das nach dem Tode entnommene Exsudat ist dicht trüb und wimmelt von lebhaft beweglichen Typhusbakterien. Die Zahl der zelligen Elemente ist in der Regel eine mäßige. Polynucleäre Leukocyten herrschen weitaus vor. Häufig zeigen dieselben schon im ungefärbten Präparate unzweideutige Zeichen des Zerfalles.

Immerhin fand sich einige Male ein abweichender Befund. Dies war namentlich der Fall bei Verwendung eines sehr lange auf künstlichen Nährböden fortgezüchteten, wenig virulenten Typhusstammes. Hier kam es, auch nach Anwendung hoher Dosen (1. Agarkultur und mehr) vor, daß die Tiere das gewöhnliche Krankheitsbild darboten, innerhalb 20 Stunden starben, im Peritoneum reichlich Exsudat aufwiesen; aber in diesem waren nur sehr spärliche Bakterien vorhanden, so daß sie zum Versuche nicht hinreichten. Seit den ersten Versuchen Pfeiffers ist dieses Verhalten für Cholera bekannt genug geworden. Bei Verwendung des zweiten, viel virulenteren Typhusstammes, der, in zweiter Generation aus der Galle einer Typhusleiche gezüchtet, hauptsächlich zu den Versuchen benutzt wurde, ereignete sich dieses Vorkommnis niemals, weder nach Anwendung großer noch kleiner Kulturmengen. Die Virulenz betrug zu Beginn der Versuche weniger als eine halbe Öse 20 stündiger Agarkultur. Auf eine genaue Virulenzbestimmung wurde der zahlreichen Tieropfer wegen, sowohl zu Anfang der Versuche, wie auch nach vielfachen Tierpassagen, Verzicht geleistet, da dieselbe für den beabsichtigten Zweck — Erlangung frischen, bakterienreichen Exsudates — in keiner Weise erforderlich schien. Ebenso wurden stets relativ große Kulturmengen, 1 Öse bis  $\frac{1}{4}$  Agarkultur (selten mehr) intraperitoneal injiziert, d. h. soviel, um ein Meerschweinchen bis zu 400 g Gewicht sicher binnen längstens 24 Stunden zu töten.

Die Absicht der Versuche war auf die Gewinnung möglichst frischen Peritonealexsudates gerichtet, und es war daher notwendig, sofort nach dem erfolgten Tode des Tieres die Entnahme desselben zu veranlassen. Abgesehen von dem eigenartigen Zustande der »Exsudatbakterien«, der nicht allzulange vorhält, war dies schon mit Rücksicht auf die Möglichkeit eines Durchwachsens der Darnwand von Colonbakterien in der warmen Jahreszeit dringend geboten. Deshalb wurde vielfach der natürliche Tod der Versuchstiere gar nicht erst abgewartet, sondern dieselben wurden in agone, zu einer Zeit, wo sie nicht mehr imstande waren, sich, auf die Seite gelegt, aufzurichten, durch Aufschneiden der Halsadern getötet. Das Exsudat wurde mit steriler Pipette, aus der, mit den erforderlichen Vorsichtsmaßregeln eröffneten Bauchhöhle entnommen. Der Menge nach wechselte es nicht allzusehr: 2 ccm ließen sich fast immer, mehr wie 5 ccm nur selten gewinnen. Die Neigung desselben zu Gerinnung war immer nur sehr gering und kurz dauerndes Schütteln oder Schlagen mit einem dicken Platindraht genügte stets, um es dauernd flüssig zu erhalten.

Wenn übrigens der Zweck des Versuches die Gewinnung des reinen Exsudates nicht geradezu verlangte, so wurde auf das mühsame, oft tropfenweise erfolgende Ansaugen verzichtet, und die Bauchhöhle von vornherein mit physiologischer Kochsalzlösung, bisweilen auch mit keimfreiem destillierten Wasser ausgespült. In der Regel konnten 20—30 ccm Flüssigkeit nach und nach eingebracht, Därme und Organoberflächen damit ausgespült und wieder aufgesaugt werden, ehe die geringe Trübung eine Fortsetzung der Spülung als nicht mehr ergiebig genug erscheinen liefs.

Enthielt das Exsudat größere Mengen von Blut beigemischt, so wurde es nicht verwendet; dies war nur sehr selten der Fall. Sonst sind rote Blutkörperchen nur so spärlich aufgetreten, daß sie erst beim Centrifugieren als dünnste Fleckchen überhaupt bemerklich wurden.

Immer wurden aus dem Exsudate direkt Kulturen (Verdünnung auf schrägen Agarröhrchen) angelegt und so die Rein-

heit geprüft. Das Verfahren reicht übrigens hier nicht aus, wie ein zu Anfang der Versuchsreihe vorgekommener Fall, der Verunreinigung mit *Bacterium coli commune*, lehrte. Ein solches, für eine dem Studium stärkerer oder schwächerer Agglutinierbarkeit gewidmete Versuchsreihe höchst unangenehmes Ereignis läßt sich am frühesten erkennen, wenn man eine volle Öse Exsudats direkt in Bouillon impft und die Kultur sofort in den Brutschrank einsetzt. Nach 3—5 Stunden ist die Trübung stark genug, um einen Agglutinationsversuch mit Immunsorum zuzulassen, der dann sofort Aufschluß über eine etwaige Verunreinigung giebt.

Was die zunächst verwendeten, agglutinierenden Immunsera betrifft, so waren sie ausschließlich von Kaninchen durch intravenöse Einspritzung von bei 60° getöteten Agarkulturen gewonnen. Erst in den späteren Versuchszeiten wurden auch die Sera von auf andere Weise immunisierten Kaninchen sowie die von Hunden in Verwendung genommen. Soweit die diesbezüglichen Erfahrungen reichen, — genaue vergleichende Versuche wurden nicht angestellt, — ist der Hund weit weniger als das Kaninchen befähigt, Agglutinine in seinem Blute auszubilden. Es gelang auch durch oft wiederholte Typhusinjektionen nicht, Hundesera mit einem Wirkungswerte über 1 : 1000 zu erhalten, was bei Kaninchen oft schon nach einer oder wenigen Einspritzungen erreicht wurde.

Was die Anstellung der Agglutinationsversuche betrifft, so standen die üblichen beiden Methoden der mikroskopischen und makroskopischen Beobachtung zur Verfügung. Beide wurden meist gleichzeitig angewendet, so daß die eine Beobachtungsweise die andere kontrollierte. Doch brachte es die ganze Versuchsordnung mit sich, daß in den späteren Stadien der Experimente immer mehr die makroskopische Methode in den Vordergrund trat. Durch das für viele Experimente notwendige Waschen von Bakterien auf der Centrifuge, durch Verwendung größerer Mengen Agarkultur u. dgl. kommt es oft zur Bildung von falschen Häufchen (»pseudo-amas« der französischen Autoren), die sich nicht zerschütteln lassen. Filtration durch dichtes Papier, die übrigens sehr vielfach angewendet wurde, bedingt jedesmal

große Verluste an Bakterienmaterial, ganz abgesehen davon, daß sie auch nicht vollständig hilft. Bei mikroskopischer Beobachtung wirkt dies alles sehr störend, wenngleich reichliche Anfertigung von Kontrollpräparaten einigermaßen schützt. Das makroskopisch sichtbare Eintreten der Agglutinationsreaktion wird dagegen durch diese kleinen, falschen Haufenbildungen nicht beeinträchtigt, da sich dieselben nicht zu Boden setzen und überdies das Entstehen der Flockenbildung unter Klärung der zwischen den Flocken liegenden Flüssigkeit unter dem Einflusse eines Immunerums so charakteristisch ist, daß es kaum mit etwas Anderem verwechselt werden kann.

Die schon in den ersten Arbeiten Grubers hervorgehobene, allseitig bestätigte Thatsache, daß die mikroskopische Beobachtung der makroskopischen an Empfindlichkeit weit überlegen sei, kam bei den hochwertigen Seris, die in Verwendung genommen wurden, nicht in Betracht.

Zur Ausführung der Reaktion wurden kleine, schmale Eproutetten, welche sich übersichtlicher aufstellen lassen als die sonst für die Gruber-Widalsche Reaktion vielfach beliebten Standgläschen verwendet. Mischung von gleichviel Tropfen Bakterienaufschwemmung und Serum oder sonstiger Flüssigkeiten gestattet die gleichzeitige Herstellung zahlreicher Proben mit verhältnismäßig geringen Mengen Materials.

Von Wichtigkeit ist weiterhin die Aufbewahrung der Versuchsproben (sowohl der Mischungen für die makroskopische, als der hängenden Tropfen für die mikroskopische Beobachtung), sowie die Zeitdauer der Versuche. Durchgehends wurde immer bei 37° gearbeitet. Die hängenden Tropfen wurden sofort nach ihrer Anfertigung in geeigneten Gestellen aus durchbrochenem Eisenblech in den Brutschrank gestellt, nach bestimmten Zeitabschnitten so rasch wie möglich durchmustert und wieder in die erhöhte Temperatur zurückgebracht. Die Anfertigung oft sehr zahlreicher hängender Tropfen mit den notwendigen Kontrollen bedingt eine, oft recht beträchtliche Zeitungleichmäßigkeit, da naturgemäß zwischen Fertigstellung des ersten und letzten Präparates eine gewisse Zeit verfließen muß. So kann es ge-

schehen, daß die Bakterien des einen Präparates wohl eine Viertelstunde länger der Serumwirkung ausgesetzt sind als die eines zweiten. Da sich dieser Übelstand auch bei raschestem Arbeiten nicht beseitigen läßt, so wurde wenigstens als Regel eingehalten, daß die Präparate, welche voraussichtlich die schwerer agglutinierbaren Bakterien enthielten, zuerst angefertigt wurden und dann erst die Kontrollpräparate. Die Zeit wurde vom Augenblicke des Einsetzens in den Brutschrank an gerechnet.

Bei der makroskopischen Arbeitsweise fällt auch dieser Übelstand viel weniger ins Gewicht, da der Zusatz der Bakterien-suspension zu den sonstigen, bereits fertiggestellten Mischungen nur sehr wenig Zeit in Anspruch nimmt.

Was die Beobachtungsdauer betrifft, so konnte diese, schon aus den im Versuche liegenden, später näher auszuführenden Gründen, nicht allzusehr ausgedehnt werden. Aber auch sonst dürfte sich bei Anstellung der Versuche bei Körpertemperatur eine Ausdehnung der Beobachtung über 2 Stunden hinaus nicht empfehlen. Die überaus zahlreichen Versuche mit allen möglichen Serumverdünnungen und sonstigen Körperflüssigkeiten haben gelehrt, daß wenn eine Haufenbildung im hängenden Tropfen bei 37° nach  $\frac{1}{2}$  Stunde nicht eingetreten ist, sie überhaupt ausbleibt oder jedenfalls nicht mehr als sicher beweisend angesehen werden kann. Wohl aber kann es zweckmäßig sein, zum Studium besonderer Wachstumsverhältnisse unter dem Einflusse eines agglutinierenden Serums, namentlich der in der vorliegenden Versuchsreihe so oft beobachteten Pfaunderschen Fadenreaktion, die Präparate längere Zeit bei 37° zu belassen. Was für die mikroskopische Beobachtung gilt, kann nicht ohne weiteres auf die makroskopische im Reagenzglase übertragen werden. Hier wird eine Haufenbildung tatsächlich oft erst nach 2 Stunden und nach noch längerer Zeit erst deutlich. Wenn trotzdem auch hier in der Regel der eigentliche Versuch nach zweistündigem Aufenthalt bei 37° abgebrochen wurde, so liegt der Grund hierfür teils in besonderen, erst später zu würdigenden Verhältnissen, teils in der starken Wirkung der hier meist konzentriert verwendeten Sera, welche in normalen Kontroll-

proben schon nach Verlauf von Minuten vollständige Agglutination bewirkten.

Die Herstellung der Kontrollproben war von besonderer Wichtigkeit. Im ersten Teile der Versuche, wo es sich darum handelte, die Wirkung eines und desselben Immunerums einerseits auf Typhusbakterien aus dem Peritonealexsudate von Meerschweinchen, anderseits auf künstlich gezüchtete Kulturen zu vergleichen, wurden dazu Impfungen in Bouillon benutzt. Das Impfmateriale bildete dieselbe Agarkultur, welche auch zur Infektion des betreffenden Versuchstieres diente. Dabei standen die Proben ebensolange bei 37° als das Tier lebte, im ungefähren Mittel also 20 Stunden. Sie wurden darauf ganz denselben Manipulationen unterworfen, die sich für die Gewinnung und Verarbeitung der Bakterien aus dem Meerschweinchenexsudate als notwendig erwiesen, z. B. Centrifugieren, Waschungen u. dgl.

Später, als alle Versuche ohne Verwendung von Tieren vorgenommen werden konnten, dienten die gleichen, höchstens 18 Stunden alten Agarkulturen sowohl zum Versuche, wie zur Kontrolle.

#### A. Versuche an tierischen, bacillenreichen Exsudaten.

Den Ausgangspunkt aller weiteren Untersuchungen bildete die Erscheinung, daß Typhusbakterien aus dem Exsudate intraperitoneal infizierter Meerschweinchen viel weniger Neigung zeigen, auf Zusatz eines Immunerums zu Haufen zusammenzutreten, als gewöhnliche, etwa in Bouillon gezüchtete.

Von den ersten, mit dem sehr wenig virulenten, lange auf künstlichen Nährböden gezüchteten »Typhus Prag« angestellten Versuchen sei der folgende angeführt. Das dabei verwendete, sehr hochwertige Immuneserum stammte von einem, mit toten Agarkulturen immunisierten Kaninchen.

#### Versuch I.

Meerschweinchen 6, 240 g, erhält 1 Agarkultur Typhus in 5 ccm Bouillon intraperitoneal. Stirbt nachts. Aus der Bauchhöhle lassen sich ca. 4 ccm trüben Exsudates mit relativ wenigen Zellen, aber sehr zahlreichen, mächtig beweglichen Bakterien entnehmen.

a) Mikroskopische Beobachtung. Das Exsudat wird ohne weiter verändert zu sein, in hängenden Tropfen mit Serumkochsalzverdünnung 1 : 7500,



10 000, 12 500, 15 000, 20 000, 30 000 versetzt. Ebenso eine gleichzeitig mit der Tierimpfung angelegte Bouillonkultur. Beobachtung bei Zimmertemperatur.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. ist in allen Tropfen mit Bouillonkultur typische Agglutination eingetreten, doch sind die Häufchen von der Verdünnung 1 : 15 000 an noch klein. Das Exsudat zeigt nur bei 1 : 7500 durch teilweise Immobilisation einen Unterschied gegen die serumfreie Kontrollprobe.

Nach  $\frac{3}{4}$  Stunden: Unverändert.

Nach 1 Stunde: Alle Bouillonkulturproben typisch agglutiniert. Exsudat unverändert, jedenfalls von 1 : 10 000 an keinerlei Serumwirkung.

Die Verhältnisse ändern sich weiterhin nicht mehr.

Hängende Tropfen mit Serumverdünnungen 1 : 1000 zeigten schon nach  $\frac{1}{2}$  Std. deutliche Serumwirkung, bestehend in Immobilisation, sowie später in Bildung sehr großer lockerer Haufen, unter denen aber noch überall freie, z. T. bewegliche Bakterien vorhanden waren.

Das Resultat des Versuches war, daß die Typhusbakterien in Exsudate erst bei einer Serumverdünnung 1 : 1000 — 7500 beeinflusst wurden, während das gleiche Serum Bouillonkultur noch bei 1 : 40 000 in typischer Weise agglutinierte.

b) Makroskopische Beobachtung. Je 1 ccm verdünnten Exsudates bezw. Bouillonkultur erhält einen Zusatz von 0,2 ccm der Serumverdünnung 1 : 100, 1000, 5000. Versuch bei 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Bouillon: Agglutination bei Serum 1 : 100 und 1000 weit vorgeschritten, bei 1 : 5000 undeutlicher Beginn. Exsudat: keine Serumwirkung.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. Bouillon: Beendete oder weit vorgeschrittene Agglutination. Exsudat: ohne Veränderung.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std.: Bouillon völlig geklärt, Exsudat unverändert.

Nach 1 Std.: zeigt erst das Exsudat mit Serum 1 : 100 schwach sichtbare Häufchen.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Std. sind sie deutlicher geworden und auch Exsudat mit Serum 1 : 1000 zeigt spurenweise ein Beginnen der Reaktion, das bei 1 : 5000 erst nach 2 Std. zu konstatieren ist. Erst nach 5 Std. ist die Reaktion in allen Proben vollständig geworden.

Schon in diesem Versuche tritt die charakteristische Unempfindlichkeit der Exsudatbakterien gegen die Agglutinine des Immunserums sehr deutlich hervor. Noch viel schöner tritt dies bei dem folgenden Versuche mit dem frisch aus der Leiche gezüchteten Typhusstamme hervor, mit dem dann alle weiteren Experimente angestellt wurden.

Meerschweinchen 16. Erhalt 19./I. 1901 2 Ösen Typhusgarkultur intraperitoneal. Stirbt 20./I. 7 Uhr a. m. Aus der Bauchhöhle des noch warmen Tieres lassen sich 5 ccm dicht trüben Exsudates mit zahllosen, mäßig beweglichen Bakterien und wenig roten und teilweise zerfallenden weißen Blutkörperchen entnehmen.

**Versuch II.**

Es werden sofort hängende Tropfen mit dem frischen Exsudate und Serumverdünnungen 1:100, 250, 500, 750, 1000, 2000, 3000, 4000, 5000 an gelegt. Kontrolle mit Bouillonkultur wie beim ersterwähnten Versuche. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Bouillonkulturen sämtlich vollständig agglutiniert. Exsudat mit Serumverdünnung 1:100: Massenhaft freie zum großen Teil bewegliche Bakterien. Daneben aber auch Bildung ziemlich lockerer, größer, in die Länge gestreckter Haufen, die unmittelbar an der Unterseite des Deckglases haften, während die tieferen Schichten des Tropfens von freien Bakterien wimmeln. Dasselbe Verhalten zeigen die Präparate mit den Serumverdünnungen 1:250, 500 und teilweise noch 1:750, von 1:1000 an fehlt jede Serumwirkung.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. ebenso.

Nach 1 Stunde: Auch in den Exsudatproben 1:1000 und 2000 sind die eigenartigen Haufen unter der Oberfläche aufgetreten, aber in viel schwächerer Ausbildung. Weitere wesentliche Veränderungen treten nicht ein.

**Versuch III.**

Das gleiche Exsudat mit Verdünnungen desselben Serums 1:10, 20, 40, 60, 80 und mit reinem Serum. Kontrolle Bouillonkultur 1:80.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Bouillonkultur vollständig agglutiniert. Exsudat mit reinem Serum zeigt überall nur größere und kleinere typische Haufen mit freien Zwischenräumen, vollständige Agglutination. Ein ähnliches Bild liefert die Serumverdünnung 1:10, doch finden sich hier schon freie, aber unbewegliche Bakterien in ziemlicher Zahl zwischen den Haufen. Die übrigen Serumverdünnungen haben die vorhin beschriebenen langgestreckten Anhäufungen an der Unterseite des Deckglases hervorgerufen, während in den tiefen Flüssigkeitsschichten nur freie bewegliche Bakterien vorhanden sind.

Nach 1 Stunde. Nur das reine Serum und die Serumverdünnungen 1:10 und 1:20 haben vollständige Agglutination hervorgerufen, d. h. außer den oberflächlichen großen, langgestreckten Anhäufungen zeigen auch die tieferen Schichten vorwiegend kleinere und größere typische Haufen, während freie unbewegliche Bakterien in den Zwischenräumen an Menge zurücktreten. Doch ist die Zahl dieser letzteren bei Serum 1:20 bereits eine ansehnliche. Die übrigen Proben wie vorher.

Nach 2 Std. keine wesentliche Veränderung.

Bezeichnet man als vollständige Agglutination eine solche, bei welcher die Bildung von fest zusammenschließenden Bakterienhaufen so überwiegt, daß die von ihnen freigelassenen Zwischenräume keine oder nur wenige, nicht zusammengeballte und jeden falls keine beweglichen Bakterien mehr enthalten, so hat die Wirkung des Serums, über 1:20 hinaus verdünnt, den Exsudatbakterien gegenüber versagt. Da das verwendete Serum Bouillon-

kulturen vom Typhus bis 1:10000 noch vollständig zu agglutinieren vermochte, so war seine Wirkung gegen die im Tiere gebildete Typhusgeneration etwa 400mal schwächer. Jegliche Haufenbildung im Exsudate blieb bei ca. 1:2000 bis 1:3000 Serumverdünnung aus, also auch dann noch ergibt sich eine ca. 5mal geringere Wirkung des Serums.

Immerhin ist aber die Wirkungslosigkeit des Immuserums und die Nichtagglutinierbarkeit der Bakterien nur relativ. Denn einerseits bringt reines und wenig verdünntes Serum eine vollständige Agglutination hervor und andererseits bewirken auch stärkere Verdünnungen eine rudimentäre Haufenbildung. Diese sieht allerdings etwas anders aus als diejenige, welche in Bouillonkulturen eintritt. Erreicht man mit solchen in hängenden Tropfen die Grenze der Serumwirkung, so entstehen die bekannten Bilder der kleinen Häufchen neben beweglichen Bakterien, oder wenn gröfsere Haufen entstehen, so enthalten sie selbst noch mehr oder weniger mobile Stäbchen. Bei der unvollständigen Agglutination aber, wie sie bei den Exsudatbakterien eintritt, handelt es sich um sehr grofse, auferordentlich in die Länge gestreckte, untereinander vielfach verbundene Haufen von unbeweglichen, ziemlich dicht gedrängten Zellen, die in den oberflächlichsten Schichten des Tropfens eine Art Netzwerk bilden, während in den tieferen Schichten jede durch Serumwirkung veranlafste Zusammenballung vollständig fehlt. Der Umstand, dafs diese sonderbare Erscheinung in gleicher Weise bei sehr verschiedener Verdünnung des Serums (im vorliegenden Versuche z. B. ebenso bei 1:50 wie bei 1:500) auftritt, weist jedenfalls darauf hin, dafs es sich dabei nicht um eine Grenzwirkung des Serums handeln kann.

An dem abweichenden Verhalten der Exsudatbakterien der Wirkung des Typhus-Immuserums gegenüber könnten äufsere Verhältnisse Schuld sein. Thatsächlich stellte sich zunächst bei allen Versuchen heraus, dafs das Exsudat der mit so reichlichen Mengen Typhuskultur geimpften Meerschweinchen in dem gleichen Flüssigkeitsquantum sehr viel mehr Bakterien enthielt als die entsprechende gleich alte Bouillonkultur. Durch entsprechende

Verdünnung des Exsudates liefs sich diese Ungleichmäfsigkeit beseitigen.

#### Versuch IV.

Exsudat von demselben Meerschweinchen wie auf S. 321 wird im Verhältnis 1 : 25 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt. Im mikroskopischen Präparate zeigt es sich, dafs darnach im hängenden Tropfen weniger Bakterien vorhanden sind als in der unverdünnten Bouillonkultur. Es werden Präparate mit Serumverdünnung 1 : 100, 250, 500, 750, 1000, 3000 und 5000 angelegt. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Alle Bouillonpräparate in vollständiger, starrer Agglutination. Exsudat: In den Verdünnungen bis 1 : 500 vielfach, aber nicht durchgehends Immobilisation, aber keine Haufenbildung. Von 1 : 750 an fehlt jede Serumwirkung.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. unverändert.

Nach 1 Std. Bouillonpräparate wie vorher. Exsudatverdünnung mit Serum 1 : 100: Fast vollständige Immobilisation, sehr kleine Häufchen in geringer Zahl. Das Bild ist das einer Endreaktion bei der Gruber-Widalschen Probe. Exsudatverdünnung mit Serum 1 : 250: Sehr wenige kleine Häufchen, sehr viele Bakterien beweglich. Die übrigen Proben enthalten nur freie, bei 1 : 500 noch zum kleinen Teil unbewegliche, sonst wimmelnde Bakterien.

Nach 2 Std. keine wesentliche Veränderung.

#### Versuch V.

Meerschweinchen 17, mit 1 Öse Agarkultur intraperitoneal infiziert, nach 16 Std. gestorben. Aus der Bauchhöhle des noch warmen Tieres lassen sich 3 ccm trüben Exsudates entnehmen. Danach wird die Bauchhöhle nach und nach mit 20 ccm physiologischer NaCl-Lösung ausgespült, das noch stark trübe Spülwasser durch dichtes Fließpapier filtriert und zu hängenden Tropfen mit reinem Serum und Verdünnungen desselben 1 : 10, 25, 50, 75, 100, 500, 1000 verarbeitet. Kontrolle mit Bouillonkultur und Serumverdünnungen 1 : 100, 1000, 5000, 6000. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Bouillonkultur mit Serum 1 : 100 vollständige Agglutination mit grossen, 1 : 1000 mit kleinen Haufen, 1 : 5000 sehr unvollständige, 1 : 6000 keine Agglutination. Spülwasser mit reinem Serum und Verdünnung 1 : 10 Immobilisation, keine Häufchenbildung. Die übrigen Präparate enthalten meist bewegliche Bakterien.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. Bouillonkultur durch alle Serumverdünnungen vollständig agglutiniert bis auf 1 : 6000, wo noch viele freie, aber unbewegliche Bakterien vorhanden sind. Spülwasser mit reinem Serum: Häufchen von 5—10 Individuen, daneben freie, unbewegliche Bakterien in grosser Zahl. Ähnlich, aber mit noch spärlicheren Zusammenlagerungen bei Verdünnung 1 : 10 und 1 : 25. Bei 1 : 50 tritt bereits an vielen Individuen eine träge Beweglichkeit auf; von 1 : 100 an keine Beeinflussung durch das Serum mehr.

Nach 1 Std. hat die Haufenbildung durch die Serumverdünnungen bis 1 : 50 weitere Fortschritte gemacht, doch treten schon bei 1 : 50 viele bewegliche auf, die in den stärkeren Verdünnungen das Gesichtsfeld völlig beherrschen.

Nach 2 Stunden: Agglutination im Spülwasser ziemlich vollständig bis zur Serumverdünnung 1 : 25, von da an alles von frei beweglichen Bakterien wimmelnd

Nach 5 Std. ist überall Vermehrung festzustellen und zwar in den Spülwasserpräparaten mit Serumverdünnungen bis 1 : 75 mit ausgesprochenem Pfau ndlerschen Phänomen.

Die angeführten Versuche zeigen bereits deutlich, daß die größere Zahl der Bacillen im Exsudate das Versagen der Serumwirkung nicht erklären kann. Es geht aber daraus auch hervor, daß bei starker Verdünnung die Bildung der oberflächlichen, an der Unterseite des Deckglases haftenden langgestreckten Haufen entweder vollständig ausbleibt oder, wie in anderen Versuchen, doch wesentlich schwächer ist, wie im unverdünnten Exsudate, wo sie niemals fehlte.

Es wäre nun daran zu denken, daß diese merkwürdige Anordnung der Bakterien durch Gerinnen des Exsudates veranlaßt werde. Das Aussehen dieser Haufen würde allerdings einige Ähnlichkeit mit Zusammenballungen von Bakterien darbieten, die etwa durch Fibrinfäden zusammengehalten werden. Damit würde übereinstimmen, daß diese Haufenbildung im verdünnten Exsudate ausbleibt. Nun ist allerdings von einer eigentlichen Gerinnung des Exsudates in der Regel nichts zu bemerken, aber es wäre immerhin möglich, daß in der kleinen Flüssigkeitsmenge des hängenden Tropfens physikalische Verhältnisse herrschen, die eine volle Wirkung des Serums nicht zulassen. Daß aber die bloße Gerinnung weder die Nichtagglutinierbarkeit der Exsudatbakterien noch die Bildung der oberflächlichen Haufen erklärt, beweisen jene seltenen Fälle, wo auch im verdünnten Exsudate, bzw. im Spülwasser, aus der Bauchhöhle noch eine makroskopisch sichtbare Gerinnung eintrat und die Agglutination vor und nach Beseitigung derselben beobachtet wurde.

#### Versuch VI.

Meerschweinchen 19 war noch intraperitonealer Infektion mit  $\frac{3}{4}$  Öse Agarkultur binnen 18 Std. gestorben. Aus der Bauchhöhle ließen sich 3 ccm dicht trüben Exsudates entnehmen, dessen Bakterien nach Filtration durch Fließpapier durch Immunserum (das gleiche wie im Versuch V) nur bis zur Verdünnung 1 : 10 vollständig, bei 1 : 50 bereits ganz unvollständig agglutiniert wurden. Die Bauchhöhle wurde mit 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung

ausgespült, das trübe Spülwasser durch Papier filtriert und das Filtrat mit reinem Serum und den Verdünnungen 1 : 10, 25, 50, 100, 500 versetzt. Kontrolle mit Bouillonkultur in der bisherigen Weise. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind alle Proben mit Bouillonkultur vollständig agglutiniert. Spülwasserfiltrat mit reinem Serum zeigt fast durchgehende Immobilisation mit Bildung weniger, kleiner Häufchen. Verdünnung 1 : 10 hat nur einen Teil der Bakterien unbeweglich machen können, sonst fehlt jede Serumwirkung.

Nach 1 Std. ist im Spülwasser mit konzentriertem Serum ziemlich vollständige Agglutination eingetreten, bei 1 : 10 ist die Zahl der meist sehr kleinen Häufchen sehr gering, nur wenig Serumwirkung ist bei 1 : 25 zu sehen.

Nach 2 Stunden kann man im reinen und 1 : 10 verdünnten Serum von vollständiger, bei 1 : 25 von unvollständiger Agglutination sprechen, die übrigen Proben lassen eine Serumwirkung nicht erkennen.

Während der Beobachtung der hängenden Tropfen war das bei Zimmertemperatur aufbewahrte Spülwasser durch Gerinnung zu einer zitternden, gallertigen Masse erstarrt. Durch Schlagen mit einem starken Platindraht werden aus derselben große Mengen am Drahte anhaftender viscoser Substanz entfernt; dann wird noch heftig geschüttelt und neuerdings durch Papier filtriert. Das viel weniger wie beim ersten Versuche trübe Filtrat wird im hängenden Tropfen mit reinem Serum und den Verdünnungen 1 : 20, 25, 50 und 100 versetzt. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. hat das reine Serum die meisten Bakterien, noch ohne Haufenbildung immobilisiert; in 1 : 10 sind noch viele Stäbchen beweglich, in den übrigen Proben ist nichts von einer Serumwirkung zu beobachten.

Nach 1 Stunde. Im reinen Serum durchwegs Immobilisation mit Bildung von kleinen Häufchen, die auch bei Verdünnung 1 : 10 im schwächeren Grade vorhanden sind, in den übrigen Proben fehlen.

Nach 2 Stunden ist im reinen und 1 : 10 verdünnten Serum ziemlich vollständige Agglutination eingetreten, die übrigen Proben sind unbeeinflusst geblieben.

Es können somit nicht die physikalischen Verhältnisse des Exsudates sein, welche die Wirkungslosigkeit des agglutinierenden Immunserums erklären. Jedenfalls ist auch bei der Bildung der oberflächlichen Haufen im unverdünnten Exsudate die etwaige Gerinnung nicht direkt beteiligt. Das zeigt sich übrigens am deutlichsten bei der makroskopischen Beobachtungsmethode, wo eine etwa doch auftretende Gerinnung nicht unbemerkt bleiben kann.

#### Versuch VII.

Das nach dem Gerinnen zerschüttelte, somit 2 mal filtrierte Spülwasser des Versuches VI wird zu je 1 ccm mit je 0,25 ccm reinen sowie 1 : 10, 25, 50, 75, 100, 500 verdünnten Serums versetzt. Kontrolle mit auf den gleichen Trübungsgrad gebrachter Bouillonkultur. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind die Bouillonon mit reinem Serum und den Verdünnungen 1 : 10 — 1 : 75 fast ganz geklärt, die übrigen mit schönen, aber noch nicht vollständig abgesetzten Flocken. Alle Exsudatproben sind gleichmäßig trüb.

Nach 1 Std. ist die Agglutination in den Bouillonkulturen durchweg vollendet, im Spülwasser fehlt sie ganz.

Nach 2 Std. beginnt nur im reinen Serum eine schwache Flockenbildung, die übrigen Proben sind gleichmäßig trüb.

Ohne vorläufig auf den Mechanismus der Ausbildung der großen oberflächlichen Haufen im Exsudate näher einzugehen, möge nunmehr die Frage beantwortet werden, auf welchen Anteil des Typhusexsudates die relative Unwirksamkeit des Immunserrums zurückzuführen wäre. Es wäre möglich, daß der Exsudatflüssigkeit selbst eine antiagglutinative Fähigkeit zukäme. Die im Exsudate angesammelten Zellen sind natürlich ohne Einfluß, wie schon daraus hervorgeht, daß man dieselben, wenigstens der größten Mehrzahl nach, durch Filtration entfernen kann, ohne dadurch irgend etwas zu ändern. Viel Wahrscheinlichkeit besitzt diese Annahme allerdings von vornherein nicht, da aus den bereits mitgeteilten Versuchen bereits hervorgeht, daß starke Verdünnung des Exsudates die Wirkung des Immunserrums in keiner Weise deutlicher hervortreten läßt.

Weiterhin könnte die Ursache des Nichteintretens der Agglutination in den Bakterien selbst liegen. Dafür würde einmal die Beobachtung des Ausbleibens oder doch nur rudimentären Auftretens der Haufenbildung im aktiv oder passiv immunisierten Tiere sprechen, dann aber auch das Weiterbestehen der Nichtagglutinierbarkeit der Bakterien nach Verdünnung des Exsudates.

Die endgültige Entscheidung war leicht zu treffen, sobald es gelang, die Bakterien eines Exsudates aus diesem zu entfernen, von den anhaftenden Resten tierischer Flüssigkeit zu befreien und nun ihr Verhalten in einem indifferenten Medium gegen die Agglutination des Immunserrums zu studieren. Dies läßt sich durch Centrifugieren des Exsudates leicht erreichen. Allerdings gelangen dabei nicht nur die Typhusbakterien, sondern auch alle anderen geformten Elemente des Exsudates in den beim Centrifugieren gebildeten Bodensatz. Ein Teil dieser kann

durch vorhergehende Filtration mittels dichten Filtrierpapiers entfernt werden, aber auch die durchs Filter gegangenen Zellen lassen sich dann noch beseitigen, wenn man den Bodensatz mit destilliertem Wasser bei 37° eine kurze Zeit lang behandelt. Dabei lösen sich rote Blutkörperchen auf, ihre Stroma, sowie die nebenbei noch vorhandenen farblosen Blutzellen quellen so auf, daß sie bei einer weiteren Filtration nunmehr mit ziemlicher Sicherheit zurückgehalten werden. Freilich sind diese Manipulationen auch mit einem bedeutenden Verluste an Bakterien verbunden; dieser Übelstand läßt sich aber nicht vermeiden und wird dadurch wieder einigermaßen gut gemacht, daß man es in der Hand hat, die durch das Filter gegangenen Bakterien neuerdings durch Centrifugieren zu konzentrieren, und dann durch Eintragen von größeren oder kleineren Flüssigkeitsmengen sich Aufschwemmungen von der jeweils erforderlichen Dichte zu bereiten.

Es wurde daher das aus der Bauchhöhle typhusinfizierter Meerschweinchen gewonnene Exsudat sofort filtriert, centrifugiert, der Satz in destilliertem Wasser bei 37° aufgeschwemmt, neuerdings filtriert und centrifugiert und die danach ziemlich rein erhaltenen Bakterien, eventuell nach nochmaliger Waschung mit physiologischer Kochsalzlösung entweder in dieser oder in steriler Bouillon aufgeschwemmt. War die Erlangung reinen, konzentrierten Exsudates nicht notwendig, so wurden in die Bauchhöhle des eben gestorbenen oder in agone getöteten Tieres sofort physiologische Kochsalzlösung oder auch steriles destilliertes Wasser eingegossen, und die erlangte trübe Flüssigkeit in gleicher Weise weiter verarbeitet. Namentlich nach dieser letzteren Methode erhält man ohne Mühe so große Mengen von Bakterien von einem einzigen Tiere, daß sie zu allen notwendigen Versuchen ausreichen.

Es zeigte sich nun sogleich, daß das Versagen der Serumwirkung in einem besonderen Zustande der Bakterien des Typhus exsudates seinen Grund haben müsse.



**Versuch VIII.**

Meerschweinchen 23 war nach intraperitonealer Infektion mit 1 Öse Typhusagarkultur nach 14 Std. gestorben. Aus der sofort eröffneten Bauchhöhle lassen sich 7 ccm dicht trüben Exsudates entnehmen, das nach Defibrinieren mit dem Platinstabe filtriert und zentrifugiert wird. Die schwach gelbliche, klare Exsudatflüssigkeit wird abgossen, der Bodensatz in destilliertem Wasser von 37° aufgeschwemmt und darin ca.  $\frac{1}{4}$  Std im Brutschrank belassen. Hierauf wird neuerdings filtriert, zentrifugiert, abgossen und der aus Bakterien bestehende Satz in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. In gleicher Weise werden auch 2 Bouillonkulturen (von je 5 ccm Flüssigkeit), die wie bisher immer angelegt waren, filtriert, zentrifugiert, mit destilliertem Wasser behandelt etc.

Die Präparate wurden in der Weise angefertigt, daß je ein Tröpfchen Bakteriensuspension aus dem Typhusexsudate, steriler Bouillon und Serumverdünnung in der einen, je ein Tröpfchen Bakteriensuspension aus Bouillonkultur, Exsudatflüssigkeit und Serumverdünnung in der zweiten Reihe auf dem Deckglase gemischt und zum hängenden Tropfen verarbeitet wurden. Das zum Versuche verwendete Serum agglutinierte Kulturtyphus bis 1 : 5000 und kam in den Verdünnungen 1 : 10, 25, 50, 100 und 1000 zur Verwendung. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind sämtliche Bakterien aus den Bouillonkulturen in meist großen Haufen agglutiniert. Sämtliche Exsudatbakterien sind frei und nur durch die Serumverdünnung 1 : 10 teilweise gelähmt.

Nach 1 Std. Nur in der Serumverdünnung 1 : 10 finden sich neben durchgreifender Immobilisation kleine Häufchen.

Nach 2 Std. In der Serumverdünnung 1 : 10 sind alle Exsudatbakterien unbeweglich und vielfach zu kleinen Haufen von wenigen Individuen vereint. Ungefähr das gleiche Bild bietet die Serumverdünnung 1 : 25. Alle anderen Proben sind ohne jede Serumwirkung geblieben. Die Bouillonbakterien beharren wie vorher in vollständiger Agglutination.

**Versuch IX.**

Dieselbe sehr dichten Suspensionen von Exsudat und Bouillon typhusbakterien werden zu je 10 Tropfen je  $\frac{1}{2}$  ccm Serumverdünnung 1 : 1000 zugesetzt. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Stunde sind alle Bouillonbakterien zu groben Flocken vereinigt und teilweise schon abgesetzt. Die Exsudatbakterien trüben gleichmäßig.

Nach 1 Stunde sind die Flüssigkeiten mit den Bouillonbakterien völlig geklärt, die Exsudatbakterien nicht beeinflusst.

Nach 2 und 3 Std. der gleiche Befund.

**Versuch X.**

Meerschweinchen 24 war nach Infektion mit 1 Öse Typhusagarkultur noch 16 Std. agonisierend und wurde durch Aufschneiden der Halsadern getötet. Die Bauchhöhle wird sofort mit destilliertem Wasser von 37° ausgespült, das Spülwasser (ca. 20 ccm) filtriert und zentrifugiert. Vom Bodensatz wird abgossen, derselbe nochmals in destilliertem Wasser auf-

geschwemmt, filtriert und wieder centrifugiert. Der schliesslich erhaltene Satz wird in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt. In gleicher Weise werden 2 Bouillonkulturen behandelt. Hängende Tropfen, wie bei Versuch VIII, werden mit reinem Serum und den Verdünnungen 1 : 10, 25, 50, 100, 500 und 1000 angelegt. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind alle Bouillonbakterien typisch agglutiniert, alle Exsudatbakterien frei; dabei aber unbeweglich im reinen und im 1 : 10 verdünnten Serum.

Nach 1 Std. sind die Exsudatbakterien im reinen und 1 : 10 verdünnten Serum vielfach zu kleinen, individuenarmen Häufchen zusammengeballt, die bereits viel spärlicher bei 1 : 25 auftreten, aber auch bei 1 : 50 noch nicht ganz fehlen. Von da an keinerlei Serumwirkung mehr sichtbar.

Nach 2 Std. wesentlich unverändert, im reinen Serum zeigt sich Pfaundersches Phänomen.

#### Versuch XI.

Die gleichen, gewaschenen Bakterien werden zu je 10 Tropfen in je  $\frac{1}{2}$  cem einer Serumverdünnung 1 : 100 gebracht. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind die Bouillonbakterien vollständig agglutiniert, die Exsudatbakterien trüben gleichmässig.

Nach 1, 2 und 3 Std. ist bei den Exsudatbakterien nirgends eine Haufenbildung zu konstatieren.

Der Ausfall der Versuche läßt nicht daran zweifeln, daß der Grund der Nichtagglutinierbarkeit in einem besonderen Zustande der Bakterien im tierischen Exsudate gesucht werden müsse.

Nebenbei sei darauf aufmerksam gemacht, daß sich die Typhusbakterien aus den Exsudaten der beiden Meerschweinchen 23 und 24 zwar im Vergleich zu Bouillonbakterien qualitativ gegenüber der Wirkung eines und desselben Serums identisch verhielten, daß aber geringe quantitative Unterschiede nicht zu verkennen sind. Denn ganz entschieden erwies sich das Serum gegen die Bakterien aus dem Exsudate von Nr. 24 etwas wirksamer. Derartige kleine quantitative Differenzen, die natürlich an der Bedeutung des Gesamtergebnisses nichts ändern, wurden mehrfach beobachtet.

Die Ursache der Wirkungslosigkeit des Typhus-Immenserums konnte nur eine zweifache sein. Entweder sind die Agglutinine desselben überhaupt nicht imstande, die Exsudatbakterien anzugreifen; dann dürfen sie auch durch Berührung mit denselben nicht aufgebraucht, nicht gebunden werden. Oder aber, es ist

die Wirkungslosigkeit des Immunsertums nur eine scheinbare; dann müßten die Bakterien eine ungewöhnlich starke Bindungsfähigkeit für Agglutinine besitzen, so daß die Anwesenheit einiger weniger Bakterien genügen würde, um die Wirksamkeit des Serums zu erschöpfen, wonach natürlich dann alle anderen Bakterien unbeeinflusst bleiben würden. Für die letztere Möglichkeit schien namentlich das Auftreten der eigentümlichen Haufenbildungen im reinen Exsudate zu sprechen.

Aufschluß konnten naturgemäß nur Bindungsversuche geben, die ja überhaupt für den Nachweis und das Studium der von der modernen Immunitätslehre geforderten hypothetischen Stoffe von so hoher Bedeutung geworden sind.

#### Versuch XIa.

Meerschweinchen 27 nach Injektion von  $\frac{1}{4}$  Typhusagarkultur nach 12 Std. in agone. Wird durch Aufschneiden der Halsadern getötet, die Bauchhöhle mit 20 cm destillierten Wassers ausgespült. Das Spülwasser wird filtriert, zentrifugiert, nochmals mit Wasser aufgeschwemmt, filtriert und zentrifugiert. Der Bodensatz wird in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Die Prüfung der Agglutinationsfähigkeit der so erhaltenen Exsudatbakterien und in gleicher Weise behandelter Bouillonbakterien erfolgte im hängenden Tropfen mit reinem und 1 : 10, 25, 50, 100, 500 und 1000 verdünntem Serum vom ungefähren Wirkungswerte 1 : 10000. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind alle Proben mit Bouillonbakterien vollständig agglutiniert. Exsudatbakterien zeigen in reinem Serum Immobilisation ohne Häufchenbildung, in der Verdünnung 1 : 10 nur teilweise Unbeweglichkeit.

Nach 1 Std. sind die Exsudatbakterien im reinen Serum fast durchaus, in der Verdünnung 1 : 10 zum kleineren Teil zu Häufchen vereint; in allen anderen Proben fehlen Haufenbildungen, doch ist bis zur Verdünnung 1 : 50 vielfach Immobilisation zu finden.

Nach 2 Stunden herrscht im reinen Serum vollständige Agglutination, in der Verdünnung 1 : 10 finden sich kleine Häufchen neben vielen einzelnen, unbeweglichen Stäbchen, auch bei 1 : 25 noch spärliche Häufchen. Die übrigen Präparate sind von wimmelnden Bakterien erfüllt.

Die Aufschwemmung der gewaschenen Exsudat- und Bouillonbakterien wird in der Menge von 5, 10, 15, 20 Tropfen zu je 0,5 cm einer Serumverdünnung 1 : 800 zugesetzt. 37°. Schon nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind alle Bouillonbakterien zu groben Flocken vereint, die sich nach  $\frac{2}{3}$  Std. unter vollständiger Klärung der Flüssigkeit abgesetzt haben. Die Exsudatbakterien trüben um diese Zeit und auch noch nach 3stünd. Aufenthalt bei 37° vollkommen gleichmäßig.

Nach dieser Zeit wurden sämtliche Proben zentrifugiert, die obenstehenden klaren Flüssigkeiten werden abgossen und mit Bouillonkultur zu hängenden Tropfen verarbeitet.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. ist in allen Proben, bei denen die Serumverdünnung Exsudatbakterien enthalten hatte, vollständige Agglutination eingetreten; von den Proben, denen Bouillonbakterien zugesetzt gewesen waren, haben nur die mit den geringsten Zusätzen (5 und 10 Tropfen) kleine Häufchen bilden können.

Nach 1 Std. finden sich in den Serumproben, auf welche 5 und 10 Tropfen Bouillonbakteriensuspension gewirkt hatten, kleine Häufchen neben beweglichen Bakterien, die mit 15 und 20 Tropfen sind völlig wirkungslos geworden. Alle Präparate, die mit Serum angefertigt sind, auf welches Exsudatbakterien gewirkt hatten, zeigen vollständige, starre Agglutination.

Der übrig gebliebene Rest, der durch Centrifugieren wiedergewonnenen Sera wird in schmale Eprouvetten gefüllt und jedes Röhrchen mit 15 Tropfen trüber Typhusbouillon versetzt. 37°.

Nach 1 Std. sind alle Bakterien der Serumproben, die früher Exsudatbakterien erhalten hatten, zu groben Flocken vereinigt, die Serumproben, welche dem Einflusse von Bouillonbakterien ausgesetzt gewesen waren, sind gleichmäßig trüb.

Nach 2 Std. ist die Agglutination der ersteren Serie überall beendet, die zweite Serie ist gleichmäßig trüb.

Plattenkulturen der Aufschwemmungen (hergestellt durch Eintragen von 1 Tropfen Aufschwemmung in 5 cem physiologischer Kochsalzlösung, davon 1 Öse zur Platte verarbeitet) ergaben für Exsudatbakterien 24 300, für Bouillonbakterien 17 200 Kolonien.

## Versuch XII.

Meerschweinchen 80 stirbt nach Impfung mit  $\frac{1}{4}$  Typhusgarkultur in weniger wie 24 Std. Die Bauchhöhle wird mit 25 cem physiologischer NaCl-Lösung ausgespült, das trübe Spülwasser durch Papier filtriert und centrifugiert. Der Bodensatz wird in der gewöhnlichen Weise mit destilliertem Wasser bei 37° behandelt, abermals filtriert und centrifugiert. Der schliesslich erhaltene Bodensatz wird wie der von 2 in gleicher Weise behandelten Bouillonkulturen in wenig physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Der Bindungsversuch erfolgt in der Weise, daß zu je 5 Tropfen der Verdünnung 1 : 50 und 1 : 100 eines bis 1 : 12 500 wirksamen Kaninchenserums tropfenweise die Aufschwemmungen der tierischen und der Kulturbakterien bei 37° zugesetzt werden. Dabei erfolgt jedesmal bei Zusatz der letzteren prompte Agglutination, während die ersteren andauernd trüben. Der Zusatz wird so lange fortgesetzt, bis auch die Bouillonbakterien nicht mehr agglutiniert werden, und die Flüssigkeit neben den starken agglutinierten Flocken des Bodensatzes noch eine bleibende Trübung aus freien Typhusbakterien aufweist. Dazu waren nötig für 5 Tropfen Serum 1 : 50 im ganzen 27 Tropfen Aufschwemmung von Bouillon bzw. Exsudatbakterien, für 5 Tropfen Serum 1 : 100 16 Tropfen der betreffenden Suspensionen. Darauf wurde centrifugiert und mit den überstehenden klaren Flüssigkeiten wurden hängende Tropfen mit empfindlicher Typhusbouillonkultur angelegt.

Schon nach  $\frac{1}{2}$  Std. bei  $37^{\circ}$  hatten alle Proben, welche vorher Exsudatbakterien erhalten hatten, vollständige Agglutination erzeugt, in den anderen war jetzt und auch noch nach weiteren 2 Std. die Beweglichkeit ungemindert.

Weiter wurden je 10 Tropfen der abcentrifugierten klaren Flüssigkeiten mit einer Aufschwemmung gewaschener Bouillonbakterien in engen Eproutetten versetzt.  $37^{\circ}$ .

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. hatten sich in den Serumverdünnungen, die der Einwirkung von Exsudatbakterien ausgesetzt gewesen waren, grobe Flocken gebildet, die nach einer weiteren halben Stunde unter völliger Klärung der Flüssigkeit zu Boden gesunken waren, während alle anderen Proben auch nach 3 Std. gleichmäßig trüb blieben.

Das Ergebnis dieser Versuche ist ein vollkommen eindeutiges. Die Typhusbakterien im Meerschweinchenexsudate sind inagglutinabel, weil die Agglutinine eines Immuserums nicht imstande sind, sie anzugreifen. Die Bindung der Agglutinine an die Bakterienzellen bleibt vollständig aus.

Dieser Befund schien in bester Weise mit der bereits in der Einleitung gewürdigten Thatsache des Nichtauftretens der Haufenbildung im Körper aktiv oder passiv immunisierter Tiere übereinzustimmen. Auch hier könne eine Agglutination nicht eintreten, nicht etwa deshalb, weil das Immuserum im lebenden Tierkörper anders wirkt als außerhalb desselben *in vitro*, sondern deshalb, weil die Bakterien selbst die Eigenschaft erlangen, der agglutinierenden Serumkomponente zu widerstehen. Da aber das Immuserum, wie später zu zeigen sein wird, auch gegen diese inagglutinablen Bakterien ebenso schützt, wie gegen gewöhnliche Kulturen von Typhus, so schien der in diesem Stadium der Versuchsreihe gezogene Schluss berechtigt, dass das Agglutinationsphänomen nur eine sehr geringe Bedeutung für die Erklärung des Wesens der Typhusimmunität besitzen könne<sup>1)</sup>.

Nun besitzen aber die einem Meerschweinchen intraperitoneal beigebrachten Typhusbakterien die Eigenschaft der Nichtagglutinierbarkeit nicht von vornherein. Sie müssen sie vielmehr erst in jenen Generationen erlangen, welche in der Bauchhöhle des infizierten Tieres erzeugt werden. Den Zeitpunkt, in welchem

---

1) Prager mediz. Wochenschrift, 1901, Nr. 7.

dies geschieht, kann man leicht feststellen, wenn man Exsudatproben von Zeit zu Zeit mittels Glaskapillaren entnimmt und mit Typhusserum prüft. Dafs die Nichtagglutinierbarkeit bereits im noch lebenden Tiere vorhanden ist, beweisen einige sehr frühzeitig angestellte Versuche, wo das Exsudat des bereits schwer kranken Meerschweinchens untersucht wurde.

### Versuch XIII.

Meerschweinchen 18 ist nach intraperitonealer Infektion mit 1 Öse Typhusagarkultur nach 14 Std. schwer krank. Dem Tiere wird mit Glaskapillaren Exsudat entnommen und dasselbe sofort mit reinem, sowie 1 : 10, 25, 50, 75, 100, 500, 1000, 2500 verdünntem Serum zu hängenden Tropfen verarbeitet. Um die dazu hinreichende Menge Exsudats zu erhalten, waren 3 Entnahmen notwendig. Kontrolle mit in gewöhnlicher Weise hergestellter Typhusbouillonkultur und Serum 1 : 500, 1000, 2500 und 5000.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind alle Bouillonproben agglutiniert, doch sind die Häufchen bei Serum 1 : 2500 und 5000 erst sehr klein.

Exsudat mit reinem Serum zeigt die Bakterien immobilisiert, aber ohne Haufenbildung. Diese fehlt auch in den übrigen Präparaten.

Nach 1 Std. Alle Bouillonproben agglutiniert.

Exsudat mit reinem Serum zeigt grofse, oberflächliche Haufen, darunter einzelne, aber immobilisierte Bakterien und spärliche kleine Häufchen.

Ähnlich, aber schwächer ausgebildet, bei 1 : 10 Die Verdünnungen 1 : 25 und 1 : 50 zeigen durchaus Immobilisation, aber keine Haufenbildung. Alle übrigen Präparate bieten keinen Unterschied gegen die serumfreie Kontrolle dar, in welcher diesmal die Beweglichkeit der Bakterien auch nur gering ist.

Nach 2 Std. Reines Serum hat neben den grofsen oberflächlichen Haufen in der Tiefe der Flüssigkeit nur kleine Häufchen bilden können. Auch sind einzelnliegende, unbewegliche Bakterien in grofser Zahl vorhanden.

In der Verdünnung 1 : 10 haben sich spärliche oberflächliche Haufen gebildet, sonst beschränkt sich die Serumwirkung ebenso wie bei den Verdünnungen 1 : 25 und 50 wesentlich auf Unbeweglichwerden der Bakterien. Im übrigen fehlt jede Serumwirkung.

Die folgenden Versuche, welche die fortlaufende Prüfung des Verhaltens der Bakterien während der Typhusinfektion zum Gegenstande haben, werden später noch einmal besprochen und erweitert werden müssen. Vorläufig handelt es sich dabei nur um die Feststellung des Eintretens der schweren Agglutinierbarkeit. Die Mengen der den Versuchstieren injizierten Agarkulturen waren stets sehr beträchtlich. Die Aufschwemmungen wurden vor der Injektion durch Fließpapier filtriert.

**Versuch XIV.**

Meerschweinchen 26 erhält  $\frac{1}{4}$  filtrierte Agarkultur intraperitoneal.

Die Prüfung der verwendeten Aufschwemmung mit Serumverdünnungen 1 : 10, 100, 500 und 1000 ergab nach  $\frac{1}{4}$  Std. bereits überall vollständige, typische Agglutination, die nach 1 und 2 Std. bestehen bleibt.

1. Entnahme sofort nach der Injektion. Die hängenden Tropfen mit den Serumverdünnungen und mit physikalischer NaCl-Lösung allein wurden so rasch als möglich angefertigt, besichtigt und dann in 37° gebracht.)

Die entnommene Flüssigkeit enthält eine Anzahl roter, wenig weißer Blutkörperchen und wimmelt von einzeln liegenden Typhusbakterien.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Exsudat ohne Serum unverändert.

Die Verdünnungen 1 : 10, 100, 500 haben bereits typische, vollständige Agglutination in großen Häufchen hervorgebracht. Bei 1 : 1000 finden sich neben zahlreichen Häufchen noch freie unbewegliche Bakterien.

Nach 1 Std. vollständige Agglutination überall. Serumfreie Kontrolle wie vorher.

Nach 2 Std. nicht wesentlich verändert.

2. Entnahme,  $\frac{1}{4}$  Std. nach der Injektion, | bieten wesentlich das gleiche Bild.

3. Entnahme,  $\frac{1}{2}$  Std. nach der Injektion, |

4. Entnahme, 1 Std. nach der Injektion :

Das Exsudat enthält spärliche rote und weiße Blutkörperchen, neben massenhaft wimmelnden Bakterien finden sich kleine Häufchen.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Serumfreie Kontrolle zeigt vielfach kleine und mitunter auch recht ähnliche Häufchen, mehrfach um offenbar zerfallende Leucocyten herum, neben wimmelnden Bakterien.

Exsudat mit Serumverdünnungen zeigt überall typische Agglutination.

Nach 1 Std. wesentlich wie vorher.

Nach 2 Std. In der serumfreien Kontrolle ist unzweifelhaft Agglutination und zwar mit recht vielen, z. T. großen Häufchen eingetreten. Von der wirklichen Agglutination, die in allen anderen Proben herrscht, unterscheidet sich das Präparat nur durch die überall neben den Haufen sich bewegenden freien Bakterien.

5. Entnahme. 2 Std. nach der Infektion.

Das leicht in die Kapillare aufsteigende Exsudat ist wenig trübe, enthält mäßig zahlreiche rote, wenig weiße Blutkörperchen und massenhaft Bakterien, die meist lebhaft schwärmen, hier und da aber auch kleine Häufchen von 4—8 Individuen bilden. Immerhin scheint es, als ob die Beweglichkeit gegenüber der bisher an den Bakterien der toten Tiere beobachteten etwas vermindert wäre.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Serumfreie Kontrolle zeigt neben zahllosen beweglichen Bakterien viele Häufchen, teils frei, teils um Leucocyten herum, mitunter von ansehnlicher Größe. Innerhalb dieser größeren Haufen herrscht vielfach noch wackelnde Beweglichkeit.

Alle Serumverdünnungen haben typisch agglutiniert.

Nach 1 Std. herrscht in der serumfreien Kontrolle sicher Agglutination, durch sehr zahlreiche Häufchen gekennzeichnet.

Die übrigen Proben agglutiniert.

Nach 2 Std. ist die bisher vorhandene Agglutination in der serumfreien Kontrolle zum größten Teile gelöst. Dasselbe ist in geringerem Grade bei der Serumverdünnung 1 : 1000 der Fall. Die übrigen Präparate in starrer Agglutination.

6. Entnahme, 3 Std. nach der Infektion.

Exsudat dicht trüb, leicht zu entnehmen. Es hat sich unmehr das gewohnte typische Bild, wie es das Exsudat eines eben gestorbenen Tieres bietet, entwickelt: relativ spärliche, z. T. degenerierte Leukocyten, massenhaft schwärmende Bakterien, die nur sehr spärlich zu kleinsten Häufchen vereinigt sind.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. zeigt die serumfreie Kontrolle nur wimmelnde Bakterien. Serumverdünnung 1 : 1000 keine Haufenbildung, fast überall freie Beweglichkeit.

Serumverdünnung 1 : 500 und 1 : 100 nur spärliche lockere Haufen. Mehrzahl der Bakterien gehemmt beweglich.

Serumverdünnung 1 : 10 ziemlich vollständige Agglutination.

Nach 1 Std. ist die serumfreie Kontrolle nicht wesentlich verändert.

Serumverdünnung 1 : 1000 sehr spärliche kleine Häufchen, meist freie, zum größten Teil unbewegliche Bakterien.

Serumverdünnung 1 : 100 und 500 ähnlich, aber mit mehr hervortretender Haufenbildung.

Serumverdünnung 1 : 10 fast vollständige Agglutination.

Nach 2 Std. wesentlich das gleiche Bild.

7. Entnahme, 4 Std. nach der Infektion.

Das Exsudat trüb, mit wenig Leukocyten und wimmelnden Bakterien, keine Haufenbildung.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. serumfreie Kontrolle unverändert.

Serumverdünnungen 1 : 100, 500, 1000 haben keine Haufenbildung, wohl aber vielfach Immobilisation hervorrufen können.

Serumverdünnung 1 : 10 vielfach, aber nur sehr kleine Häufchen, viele freie, immobile Bakterien.

Nach 1 Std. und 2 Std. ist das Aussehen der Präparate wenig verändert; nur bei Serumverdünnung 1 : 10 kann von Agglutination gesprochen werden.

8. Entnahme, 5 Std. nach der Infektion.

Das entnommene Exsudat zeigt im wesentlichen das gleiche Verhalten wie bei der 7. Entnahme.

9. Entnahme, 16 Std. nach der Infektion.

Das Tier ist agonisierend. Das Exsudat ist dicht trüb, die Bakterien sind, neben wenig Leukocyten, so massenhaft vorhanden, daß eine ausgiebige Bewegung, rein mechanisch unmöglich erscheint.

Hängende Tropfen mit reinem, sowie 1 : 10, 50, 100, 500 verdünntem Serum lassen nach  $\frac{1}{4}$  Std. nur bei reinem Serum große, oberflächliche Haufen erkennen; nach 1 Std. ist hier ziemlich vollständige Agglutination, bei 1 : 10 spurenweise eingetreten. Nach 2 Std. zeigt sich in den durch reines Serum gebildeten Haufen schwaches P aundlersches Phänomen, bei Serum 1 : 10



ist die Wirkung äußerst schwach, bei den übrigen Verdünnungen überhaupt (vielleicht von einer Hemmung der Beweglichkeit abgesehen) nicht vorhanden

### Versuch XV.

Meerschweinchen 29 erhält  $\frac{1}{8}$  Typhusagarkultur intraperitoneal

1. Entnahme sofort nach der Infektion.

Das Exsudat enthält wenig rote und weiße Blutkörperchen, überaus zahlreiche bewegliche Bakterien. Haufenbildung tritt während der 2stünd. Beobachtung bei 37° erst ganz zum Schlusse, um einige wenige Leukozyten herum, ein.

Die angewendeten Serumverdünnungen 1 : 10, 50, 100 und 500 agglutinieren sowohl die Bakterien des Exsudates, wie die der zur Injektion verwendeten Suspension binnen  $\frac{1}{4}$  Std. vollständig.

2. Entnahme, 1 Std. nach der Infektion.

Liefert ein wie vorher beschaffenes Exsudat. Dasselbe zeigt nach  $\frac{1}{4}$  Std. spärliche, nach 1 und 2 Std. ziemlich zahlreiche kleine Häufchen, neben wimmelnden, freien Typhusbakterien.

Die Serumverdünnungen agglutinieren binnen  $\frac{1}{4}$  Std.

3. Entnahme, 2 Std. nach der Infektion.

Leukozyten sind im Exsudate zahlreicher geworden. Nach 1 und 2 Std. haben sich, wie bei der 2. Entnahme, reichlich kleine Häufchen gebildet.

Agglutination tritt bei allen Serumverdünnungen ein, aber bei 1 : 500 nur unvollständig, bei 1 : 100 etwas verspätet.

4. Entnahme, 3 Std. nach der Infektion.

Häufchenbildung kommt im reinen Exsudate zu allen Beobachtungszeiten vor, ist aber weniger ausgesprochen wie vorher.

Die Serumverdünnungen 1 : 100 und 500 sind, außer dafs sie vielfach Immobilisation hervorbringen, wirkungslos. 1 : 50 erzeugt kleine Häufchen, wobei die Mehrzahl der immobilisierten Bakterien frei bleibt. 1 : 10 macht stärkere, aber ebenfalls nur unvollständige Agglutination.

5. Entnahme, 4 Std. nach der Infektion und

6. Entnahme, 6 Std. nach der Infektion:

Im Reinexsudat ist das Auftreten von Häufchen äußerst geringfügig oder bleibt ganz aus. Die Serumverdünnungen bleiben wirkungslos, bis auf 1 : 10, wo kleine Häufchen neben der Mehrzahl freier Bakterien zu finden sind.

$6\frac{1}{2}$  Std. nach der Infektion werden dem bereits deutlich kranken Tiere 6 cem einer Serumverdünnung 1 : 10 injiziert.

5 Minuten später wird Exsudat entnommen und teils rein, teils mit normalem Kaninchenserum und den Immunserumverdünnungen 1 : 10, 50 und 100 zu hängenden Tropfen verarbeitet. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. zeigt sich nirgends, nach  $\frac{1}{2}$  Std. nur bei Immunserum 1 : 10 schwache Haufenbildung. Doch finden sich nach 2stünd. Aufenthalt im Brutschrank in allen Proben kleine Häufchen, am reichlichsten bei den 1 : 10 und 1 : 50 verdünnten Immunseris.

Zwei weitere Entnahmen,  $\frac{1}{4}$  und 1 Std. nach der Seruminjektion, zeigen nur bei Immunserumverdünnung 1 : 10 unvollständige Agglutination.

Das Tier stirbt 9 Std. nach der Typhusinfektion. Der Befund an den Bakterien des Exsudates ist der gewöhnliche.

Das Resultat dieser Versuche ist ebenfalls ziemlich eindeutig. Die injizierten Typhusbakterien bleiben während der ersten Zeit der Infektion der Wirkung der Serumagglutinine vollständig zugänglich. Erst ungefähr 3 Stunden nach der Impfung — die Zeit ist nicht völlig gleich, doch gibt das Intervall von 3 Stunden für die verwendeten großen Kulturmengen eine gute Mittelzahl — hört die Agglutinationsfähigkeit der Typhusbakterien des Exsudates auf. Dabei erfolgt aber dieser Wechsel ziemlich unvermittelt: die Bakterien sind auf einmal gegen die verschiedenen Serumkonzentrationen unempfindlich geworden; nur andeutungsweise bemerkt man, wie in dem als Nr. XIV mitgeteilten Versuche, dafs zunächst nur die Wirkung der stärksten Verdünnungen aufhört.

Es müssen also während der ersten drei Stunden die Typhusbakterien unter dem Einflusse einer Körperreaktion gestanden haben, welche dann das Ausbleiben der Agglutination zur Folge hat. Dafs eine derartige Reaktion bestehen mufs, beweist das Auftreten von kleinen, agglutinierten Häufchen im Exsudate, ohne dafs Serum zugesetzt wurde. Freilich ist die Bildung dieser im übrigen ganz typischen Agglutinationen insofern nur eine rudimentäre, als sie mitten unter Bakterien erfolgt, die sich andauernd in vollster Bewegungsfreiheit befinden. Interessant war es zu beobachten, wie sehr oft Leukocyten, und zwar soweit darauf geachtet wurde, immer zerfallende Leukocyten den Ausgangspunkt dieser Häufchen bildeten. Es wäre nicht unmöglich, dafs bei diesem Zerfall Stoffe frei würden, welche späterhin die Haufenbildung veranlassen oder unterstützen könnten. Dafs sich auch Häufchen finden, deren Mittelpunkte farblose Blutzellen nicht abgeben, wurde bereits bemerkt; es ist aber möglich, dafs hier doch ursprünglich ein Leukocyt vorhanden war, der dann durch vollständige Auflösung unsichtbar wurde.

Die vorläufig noch nicht näher zu definierenden Einflüsse, denen die Typhusbakterien im lebenden Tierkörper, einige Zeit nach erfolgter Infektion angesetzt sind, müssen bei verschiedenen

Tierarten verschieden mächtig sein. Denn die Widerstandsfähigkeit der Typhusbakterien gegen die Serumagglutinine ist in Exsudate verschiedener Tiere deutlich wechselnd. Ähnlich wie in der Bauchhöhle von Meerschweinchen verhalten sich die Bakterien im Körper von weissen Mäusen.

#### Versuch XVI.

Große weisse Maus erhält 1 Öse Typhusagarkultur intraperitoneal; ist innerhalb 13 Std. gestorben. Durch vorsichtiges Ausspülen der Bauchhöhle mit physiologischer Kochsalzlösung lassen sich etwa 5 cem trüber, sehr bakterienreicher Flüssigkeit gewinnen. Es werden hängende Tropfen mit reinem und 1 : 10, 50, 100, 500 und 1000 verdünntem Serum angelegt. Kontrolle mit in gewöhnlicher Weise hergestellter Bouillonkultur und Serum 1 : 100, 500, 1000. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Alle Tropfen mit Bouillonkultur agglutiniert, doch sind bei der Serumverdünnung 1 : 1000 die gebildeten Häufchen nur klein.

Exsudat mit reinem Serum zeigt fast durchwegs große, schöne oberflächliche und tiefe Haufen.

In der Serumverdünnung 1 : 10 finden sich neben vielen Haufen zahlreiche einzelne, meist immobile Bakterien.

Bei 1 : 50 sind nur wenige Oberflächenhaufen vorhanden, sonst ist das Serum überall wirkungslos geblieben.

Nach 1 Std. wesentlich unverändert. Vollständige Agglutination findet eigentlich nur im reinen Serum statt, doch reicht die sichtbare, wenn auch unvollkommene Serumwirkung bis zur Verdünnung 1 : 50.

Das Exsudat wird centrifugiert, der Satz in Wasser aufgeschwemmt, filtriert, wieder centrifugiert und schliesslich in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert. Hängende Tropfen mit reinem, sowie 1 : 10, 50, 100, 500 verdünntem Serum. Kontrolle mit dem Satze einer in gleicher Weise behandelten Bouillonkultur. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind alle Bakterien der Bouillon vollständig agglutiniert.

Das reine Serum hat ziemlich vollständige Agglutination, das 1 : 10 verdünnte nur die Bildung einiger weniger, typischer Häufchen hervorrufen können, neben denen viele freie, zum grossen Teil bewegliche Bakterien vorhanden sind.

Nach 1 Std. im wesentlichen wie vorher. Die Serumverdünnung 1 : 10 ist nur unvollständig wirksam, die 1 : 50 wirkungslos.

Ein wesentlich anderes Resultat lieferte ein Versuch mit dem Exsudate der Ratte.

#### Versuch XVII.

Große bunte Ratte erhält 4 Ösen Typhusagarkultur intraperitoneal und stirbt darnach in weniger als 13 Std. Die mit 10 cem physiologischer NaCl-Lösung ausgespülte Bauchhöhle ergibt eine äusserst zellarme und dabei sehr bakterienreiche Flüssigkeit von rötlicher Färbung, die offenbar durch gelöstes

Hämoglobin bedingt ist, da Erythrocyten sowohl im Exsudate selbst, wie in dem daraus abcentrifugierten Satze vollständig fehlen.

Es werden hängende Tropfen mit 1 : 10, 100, 500, 1000, 2500 verdünntem Serum angefertigt. Kontrolle Bouillonkultur. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. zeigt die Bouillonkultur überall Agglutination in großen Haufen. Die Exsudatbakterien sind durch die Verdünnungen bis 1 : 500 vollständig, durch 1 : 1000 unvollständig agglutiniert, sonst frei und beweglich.

Nach 1 Std. ist auch die Agglutination durch das 1000 fach verdünnte Serum ziemlich vollständig. Von da an fehlt jede Wirkung.

Das Exsudat wird centrifugiert und der in üblicher Weise gereinigte Satz in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Kontrolle mit den Bakterien einer in gleicher Weise behandelten Bouillonkultur. Hängende Tropfen mit Serumverdünnungen 1 : 500, 1000, 2500, 5000, 7500, 10000. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind alle Bouillonpräparate agglutiniert.

Exsudatpräparate zeigen bei 1 : 500 verdünntem Serum viele Häufchen, bei 1 : 1000 wenige, sonst keine Beeinflussung.

Nach 1 Std. hat das 500 fach verdünnte Serum ziemlich vollständige, das 1 : 1000 verdünnte eine teilweise Agglutination hervorgerufen. Sonst keine Wirkung.

Obwohl somit auch hier die Thatsache der schwierigen Agglutinierbarkeit der tierischen Bakterien qualitativ in derselben Weise zu konstatieren ist, bestehen quantitativ immerhin merkbare Unterschiede.

Bei Verwendung von kleinen Kaninchen, die man intrapleurale mit Typhus impft, kann man in der Regel eine noch höhere Widerstandskraft der Exsudatbakterien gegen die Serumagglutinine beobachten. Doch kamen hier auch Ausnahmen vor.

#### Versuch XVIII.

Kleines Kaninchen erhält 1 Typhusagarkultur intrapleurale. Ans der Pleurahöhle des innerhalb 14 Std. gestorbenen Tieres können 5 ccm trüben, sehr leukocytenreichen Exsudates entnommen werden, das aber nur relativ wenige und dabei schwach bewegliche Typhusbakterien enthält. Dieselben zeigen im Exsudate, selbst in hängenden Tropfen untersucht, auch bei der Serumverdünnung 1 : 10 nur wenige Häufchen und unvollständige Agglutination, während Bouillonkultur durch Serum 1 : 5000 binnen  $\frac{1}{4}$  Std. vollständig agglutiniert wird.

Im gewaschenen Satze besteht das gleiche Verhalten.

Die bisher mitgeteilten Versuche geben über die nähere Ursache des Versagens der Agglutininwirkung eines Typhusimmenserums noch kaum Aufschlüsse. Nur das Eine erscheint sicher, dafs im Tierkörper während der Infektion etwas zu den

Bakterien hinzutreten muß, was dieselben nunmehr bis zu einem gewissen Grade inagglutinabel macht. Dieser unbekannte Einfluß ist aber jedenfalls nur kurzdauernd wirksam und betrifft wahrscheinlich nur die im Tiere selbst entstandenen oder nur wenige, nachher im Exsudate selbst in vitro erzeugte Generationen. Jedenfalls ist die Nichtagglutinierbarkeit nicht etwa zum Merkmale einer neuen Rasse von Typhusbakterien geworden. Denn impft man Exsudattröpfchen in Bouillon, so wird die selbst entstandene Typhuskultur sofort durch Zusatz von Immunsérum agglutiniert.

#### Versuch XIX.

Mit einer Öse des Exsudates des mit 1 Öse Typhusagarkultur geimpften Meerschweinchens 17 werden 5 ccm Bouillon infiziert. Nach 5 Std. Aufenthalt bei 37° ist die Flüssigkeit deutlich trüb. Es werden hängende Tropfen mit einem 1 : 5000 sicher wirksamen Serum angelegt und zwar in den Verdünnungen 1 : 1000, 2500, 5000. Kontrolle mit gewöhnlicher Bouillonkultur. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  und 1 Std. sind alle Proben unterschiedslos vollständig agglutiniert.

Im Gegensatz dazu hält sich die Widerstandskraft der Bakterien im Exsudate selbst ziemlich lange Zeit; dabei ist allerdings zu bemerken, daß die Vermehrung der Typhusbakterien darin sich innerhalb enger Grenzen hält. Aber auch dann, wenn man zum Exsudate Nährstoffe in Gestalt von wenig Bouillon hinzufügt, bleiben die Bakterien eine Zeitlang inagglutinabel.

#### Versuch XX.

Meerschweinchen 25 hatte 1 Öse Typhusagarkultur intraperitoneal erhalten. Je 4 Tropfen des frischen, unveränderten Exsudates kamen in 6 schmale, mit Stöpsel verschlossene Eprövetten. Zu 3 derselben werden je 8 Tropfen Bouillon zugesetzt.

Die Untersuchung des frischen Exsudates mit Serumverdünnungen 1 : 50, 100, 500 und 1000 zeigte, daß sich nach 2 Std. bei 37° nur in der Verdünnung 1 : 50 einige oberflächliche und wenige kleinste tiefe Häufchen gebildet hatten.

Nach 1 stünd. Aufenthalt bei 37° wurde je eine Eprövette mit reinem und eine mit bouillonverdünntem Exsudate entnommen und in der gleichen Weise mit Serum in hängenden Tropfen geprüft. Die Verhältnisse zeigten sich nicht wesentlich verändert.

Nach 3 Std. wurde eine 2. Serie geprüft. Das reine Exsudat zeigte mit reinen Typhusbakterien ungefähr dieselbe Widerstandskraft wie vorher, das

mit Bouillon verdünnte, in dem nach Aufgabe des mikroskopischen Bildes massenhaft Vermehrung eingetreten war, zeigte insofern ein charakteristisches Bild, als bei allen Serumverdünnungen Häufchenbildung stattgefunden hatte, daneben aber reichlich freie und bewegliche Bakterien vorhanden waren.

Das gleiche Verhalten, aber mit Vorwiegen der Haufenbildung, zeigen in der 3., nach 8stünd. Aufenthalte bei 37° entnommenen Serie, beide Proben derselben.

In anderen Versuchen hielt sich die Widerstandskraft der Typhusbakterien im Exsudate noch länger, namentlich dann, wenn dasselbe kühl aufbewahrt und dadurch eine starke Vermehrung verzögert wurde.

Es sah ganz so aus, als ob ein Stoff im Exsudate in sehr geringer Menge vorhanden sei, der auch einigen wenigen, außerhalb des Tieres entstandenen Bakteriengenerationen die Nichtagglutinierbarkeit verleihen könne, aber bald aufgebraucht werde.

Dafs dieser, wie sich weiterhin zeigen wird, zum richtigen Wege führende Schluß zunächst nicht verfolgt wurde, hatte seinen Grund einmal in dem, durch die bereits unter Nr. VIII und X mitgetheilten Versuche geführten Nachweise des Mangels einer antiagglutinativen Fähigkeit der Exsudatflüssigkeit; dann aber imponierte zu dieser Zeit auch das ganz ungewöhnliche Versagen der haufenbildenden Serumwirkung so sehr, dafs daraus gefolgert wurde, es müsse ein inagglutinables Typhusbakterium auch in sonstiger Hinsicht von den gewöhnlichen Kulturbakterien verschieden sein.<sup>1)</sup> Dabei wurde namentlich an die Virulenz solcher »tierischer Mikroorganismen« gedacht, sowie an die Wirkung der schützenden Anteile eines Typhusimmunserums auf dieselben. Die Folge dieser irrigen Annahme war eine lange Reihe von zum Teil vergeblichen, jedenfalls dem Ziele einer Erklärung der beobachteten Grundthatsache nicht näher führenden Versuchen, über die nur insoweit ausführlicher berichtet werden soll, als sie einigermaßen neue Ergebnisse hatten. Vorher aber sei noch einer eigenartigen Erscheinung gedacht. Schon 1897 hatten Widal und Siccard<sup>2)</sup> gezeigt, dafs die Abtötung der

1) Prager medicin. Wochenschrift, Nr. 12.

2) Widal und Siccard, Soc. de Biologie, 30 janv. 1897, cit. nach Bousoude.

Typhusbakterien bei 57—60° die Agglutinationsreaktion nicht stört. Davon kann man sich jederzeit an gewöhnlichen, auf künstlichen Nährböden gezüchteten Bakterien überzeugen. Doch ist dazu zu bemerken, daß die Häufchenbildung nie so schön und groß ausfällt, wie das bei Anwendung lebender Kulturen in ausgezeichneter Weise der Fall zu sein pflegt. Auch bilden sich, namentlich in Bouillonkulturen, durch das Erwärmen leicht von selbst kleine Häufchen, welche die Beobachtung sehr stören. Überdies fällt dabei das sehr wertvolle Merkmal der Beweglichkeitsstörung weg.

Es zeigte sich nun, daß Typhusbakterien aus tierischen Exsudaten, welche 1 Stunde lang auf 60° erhitzt worden waren, leichter agglutiniert wurden als im lebenden Zustande.

#### Versuch XXI.

Meerschweinchen 32 war nach Injektion von  $\frac{1}{2}$  Typhusagarkultur innerhalb 12 Std. gestorben. Aus dem mit physiologischer NaCl-Lösung ausgespülten Peritonealexsudate werden die Bakterien in der üblichen Weise rein gewonnen und in NaCl-Lösung aufgeschwemmt. In gleicher Weise wird eine Suspension von Bouillonbakterien hergestellt. Je eine Hälfte dieser 2 Suspensionen wird  $\frac{1}{2}$  Std. auf 60° erhitzt. Darauf wird in hängenden Tropfen mit lebenden und toten Bakterien und den Serumverdünnungen 1 : 10, 50, 100, 500, 1000 und 2500 angefertigt. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Alle Bouillonbakterien agglutiniert, die toten in wesentlich kleineren Häufchen als die lebenden.

Lebende Exsudatbakterien sämtlich frei und zum großen Teil beweglich. Von den erhitzten Exsudatbakterien sind die in den Präparaten mit Serum verdünnungen 1 : 10, 50, 100 zweifellos zu kleinen Häufchen vereint. In den übrigen Präparaten finden sich wenige Häufchen neben freien Bakterien. Auch eine serumfreie Kontrolle zeigt kleine Häufchen.

Nach 1 Std. Lebende Exsudatbakterien nur bei Serum 1 : 10 immobilisiert und teilweise agglutiniert, tote bei Serum 1 : 10 und 50 in schönen Haufen, bei 1 : 300 und 500 ebenfalls agglutiniert, aber nur in kleinen Häufchen, bei den übrigen ist das Resultat aus dem bereits angegebenen Grunde zweifelhaft.

#### Versuch XXII.

Meerschweinchen 34 war 12 Std. nach der Infektion mit  $\frac{1}{2}$  Agarkultur gestorben. Die reichlich freies Exsudat enthaltende Bauchhöhle wird nach und nach mit 30 ccm destillierten Wassers ausgespült, das noch immer enorm bakterienreiche Spülwasser wird filtriert, centrifugiert, der Satz neuerdings in Wasser aufgenommen, filtriert und centrifugiert. Schließlich wird er in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt; die eine Hälfte dieser und einer gleich bereiteten Suspension der Bakterien einer Bouillonkultur wird

1 Std. auf 60° erhitzt. Mit den lebenden und toten Bakterien werden hängende Tropfen unter Zusatz der Verdünnungen 1 : 10, 25, 50, 100, 250 und 500 eines bis 1 : 5000 wirksamen Serums angefertigt. 37°.

Nach 1/2 Std. sind alle Bouillonbakterien, lebende wie tote agglutiniert.

Lebende Exsudatbakterien zeigen nur bei Serum 1 : 10 teilweise Immobilisation, sonst keine Beeinflussung; die toten zeigen neben freien Bakterien viele Häufchen, bis zur Serumverdünnung 1 : 100. Von da an kein Unterschied gegen eine serumfreie Kontrolle.

Nach 2 Std. ist bei den Präparaten mit lebenden Exsudatbakterien und Serum 1 : 10 und 25 ganz unvollständige Agglutination eingetreten, während die toten bis 1 : 250 unzweideutige Serumwirkung erkennen lassen.

Die übrigen Präparate sind unbeeinflusst.

Durch das Erwärmen ist also zweifellos der die schwere Agglutinierbarkeit der Exsudatbakterien bedingende Umstand, wenigstens teilweise, in Wegfall gekommen.

Ein Versuch, die Virulenz der aus dem Exsudate inficierter Meerschweinchen direkt erhaltenen Typhusbakterien zu bestimmen, hat natürlich nur dann einen Sinn, wenn es gelingt, in Kontrollversuchen die genau gleiche Menge von entsprechend gezüchteten Kulturbakterien Tieren beizubringen. Dafs die Mitübertragung anhaftender Exsudatreste auf das Sorgfältigste vermieden werden mufs, bedarf nicht erst eines Hinweises.

Es ist aber, wenn überhaupt möglich, jedenfalls sehr schwer, sowohl von gewaschenem Exsudat, wie von Kulturbakterien Aufschwemmungen herzustellen, welche eine gleich grofse Anzahl lebender Zellen enthalten. Das einzige Verfahren, welches einige Aussicht auf Erfolg darbietet, ist die Aussaat gleicher Flüssigkeitsmengen in Agar, Zählung der aufwachsenden Kolonien und eine, je nach dem Ergebnis derselben geregelte Verdünnung. Um dies aber durchzuführen, bedarf es wenigstens eines Zeitraumes von 24 Stunden, während welchen die Exsudatbakterien unkontrollierbare Veränderungen eingehen können.

Auffallend schlechte Resultate gab der Versuch, die Zahl der Bakterien in Aufschwemmungen von Exsudat und Bouillonbakterien im gefärbten Deckglaspräparate festzustellen und im Verhältnis der gewonnenen Werte, Verdünnungen vorzunehmen. Einige derart vorgenommene, ungemein zeitraubende Feststellungen wurden durch das Plattenzählverfahren nachgeprüft und



ergaben Differenzen von vielen Tausenden Kolonien für 1 Öse Aufschwemmung.

Noch die relativ besten Ergebnisse hatte die anscheinend gröbste Methode, die darin bestand, die gleich dicht zu machenden Aufschwemmungen in zwei völlig gleichartigen Eprovetten bis auf den gleichen optischen Trübungsgrad zu verdünnen. Dieses Verfahren lieferte halbwegs brauchbare Resultate, als es sich darum handelte, die Bindungskraft von Exsudat und Kulturbakterien zu bestimmen, wozu es ebenfalls notwendig war, von beiden ungefähr gleich viel in Anwendung zu bringen. Dabei kam es freilich nur auf sehr annähernde Genauigkeit an, denn es genügte schließlich festzustellen, daß von den Exsudatbakterien nicht weniger als von den Kulturmikroben verwendet worden waren. Bedenkt man aber, eine wie geringe Flüssigkeitsmenge man zahlenmäßig auf ihren Bakteriengehalt prüfen kann, und wie viel derselben man injizieren muß, so ergibt eine einfache Überlegung, daß Differenzen von einigen hundert Kolonien auf der Platte thatsächlich Verschiedenheiten von vielen Hunderttausenden Bakterien in Tierversuche entsprechen.

So wird es erklärlich, daß trotz vieler angewandeter Mühe keine wirklich einwandfreien Versuche angestellt werden konnten. Es würde wohl bei Verschwendung von Tieren und Anlage sehr großer Versuchsreihen, vielleicht mehr zufällig, gelingen, Tierpaare zu erhalten, denen genau gleich große Mengen des verschiedenartigen Bakterienmaterials einverleibt worden sind; so unbeschränkte Mengen von Tieren standen aber nicht zur Verfügung und ihr Verbrauch würde sich kaum gelohnt haben. Denn jedenfalls sind die Unterschiede in der Virulenz, falls solche überhaupt vorhanden sind, nicht sehr bedeutend. Ähnlich liegen die Schwierigkeiten auch dann, wenn es sich darum handelt, die schützende Wirkung eines auf die gewöhnliche Weise, durch Immunisieren mit abgetöteten Agarkulturen, gewonnenen Immunserums gegenüber Exsudat und Kulturbakterien zu vergleichen. Doch liegen hier die Verhältnisse insofern günstiger, als die Feststellung der früher oder später erfolgenden Sterilisation der Meerschweinchenbauchhöhle, nicht in so außer-

ordentlich hohem Grade von der Zahl der injicierten Bakterien abhängt, vorausgesetzt, daß das verwendete Serum genügend wirksam ist.

Es ergab sich auch hier, daß wesentliche Unterschiede bei Anwendung von Exsudat und Kulturbakterien nicht vorhanden sein können. Die Tiere waren durch die gleiche Menge Serums zu schützen und die eingespritzten Bakterien verschwanden ungefähr um dieselbe Zeit aus der Bauchhöhle. Ganz genaue Feststellungen mußten allerdings auch hier mit Rücksicht auf das relativ geringe, verfügbare Meerschweinchenmaterial unterbleiben, doch läßt sich trotzdem mit Sicherheit aussagen, daß im großen und ganzen die Abweichung der Exsudatbakterien von künstlich gezüchteten gegenüber der Wirkung eines Immunsarums sich hauptsächlich nur auf ihr Verhalten gegen die Agglutinine desselben beziehen kann.

Es mußte nun von Interesse sein, festzustellen, ob die Vorbehandlung von Kaninchen mit solchen, schwer agglutinablen Bakterien ein Serum liefern könne, welches in Bezug auf seine haufbildende Kraft Besonderheiten zeigt. Hier hatten die Versuche in der That Erfolge zu verzeichnen. Freilich sind dieselben auch hier nicht leicht anzustellen. Zu jedem mußten zwei Tiere von genau gleicher Größe und gleichem Ernährungszustande genommen werden. Die immunisierenden Injektionen mußten ungefähr gleichviel Bakterien in jedes der Tiere hineinbringen, Gewichtsverluste, die das eine Tier zeigte, nötigten auch zur Aussetzung der Behandlung des zweiten, auch dann, wenn es selbst gut gedieh.

Die von dem Tierpaare gewonnenen beiden Sera konnten aber nur dann verwendet werden, wenn sie gegenüber Bakterien aus künstlichen Kulturen ungefähr die gleiche agglutinierende Wirksamkeit besaßen. Nur dann hatte eine stärkere haufbildende Eigenschaft bei dem Serum des mit Exsudatbakterien behandelten Tieres beweisende Kraft.

Die Berücksichtigung aller dieser Umstände hatte zur Folge, daß schließlic nur zwei Serum liefernde Kaninchenpaare zur Verwendung kommen konnten. Die Resultate, die damit

erhalten wurden, waren zwar vollkommen eindeutig und die in mehrfacher Hinsicht vorhandenen Unterschiede ihrer Wirksamkeit waren so auffallende, daß an Zufälligkeiten nicht gut zu denken ist; immerhin aber ist wegen dieser geringen Anzahl der verwendeten Sera eine gewisse Vorsicht bei der Verallgemeinerung der erlangten Ergebnisse geboten.

Die Immunisierungstabelle eines derartigen Kaninchenpaares sei angeführt. Die injizierten Bakterien waren lebend und wurden so frisch als möglich verwendet. Gewichtsabnahmen erfolgten entweder gar nicht oder glichen sich bald aus. Erst ganz am Ende sank das Gewicht des einen Tieres ohne besonders bekannte Veranlassung so rapid ab, daß beide Tiere vorzeitig verblutet werden mußten.

Kaninchen d erhielt intravenös Bakterien aus dem Exsudate von Meerschweinchen, Kaninchen e die entsprechend behandelten und gewaschenen aus Bouillonkulturen.

- 6. II. 1901 1 Öse aus dem gewaschenen, zentrifugierten Satze des Typhusmeerschweinchens 23, bezw. ebensoviel Bouillonbakterien,
- 13. II. 1901 1 Öse aus dem gewaschenen, zentrifugierten Satze des Typhusmeerschweinchens 26, bezw. ebensoviel Bouillonbakterien,
- 19. II. 1901 2 Ösen aus dem gewaschenen, zentrifugierten Satze des Typhusmeerschweinchens 29, bezw. ebensoviel Bouillonbakterien,
- 22. II. 1901 den halben Bodensatz aus dem Exsudate von Nr. 30, bezw. Satz aus 5 ccm Bouillonkultur,
- 27. II. 1901 den halben Bodensatz aus dem Exsudate von Nr. 32, bezw. Satz aus 5 ccm Bouillonkultur,
- 3. III. 1901 fast der ganze Bakteriensatz aus dem Exsudate von Meerschweinchen 34, bezw. Satz aus 10 ccm Bouillonkultur,
- 6. III. 1901 Blut aus den rechten Jnglarvenen entnommen: Serum d und e.
- 7. III. 1901 Fast den ganzen Satz aus dem Exsudate von Meerschweinchen 36, bezw. Satz von 10 ccm Bouillonkultur,
- 11. IV. 1901 Ebensoviel aus dem Exsudate von Meerschweinchen 38, bezw. Bouillonkultur.
- 16. IV. 1901 Ebensoviel aus dem Exsudate von Meerschweinchen 45, bezw. Bouillonkultur.
- 22. IV. 1901 Aus den rechten Carotiden Blut entzogen: Serum d I und e I.

Im Anschlusse an die Blutentnahme magert Kaninchen d ohne sonstigen sichtbaren Grund so rasch ab, daß es am 6. V. ebenso wie Kaninchen c ganz verblutet wird: Serum d II und e II.

Ähnlich ist die Immunisierungstabelle des Kaninchenpaares g und h. Die erste Blutentnahme erfolgte nach 14 tägiger Behandlung mit ca. 6 Ösen Bakterienmaterials, die zweite nach weiterer ebensolangen mit größeren Mengen.

Die Verschiedenheit beider Sera gab sich zunächst in ihrem Verhalten gegen Exsudatbakterien zu erkennen.

**Versuch XXIII.**

Meerschweinchen 36 starb nach Infektion mit 1 Öse Typhusagarkultur in ca. 20 Std. Hängende Tropfen mit dem defibrinierten Vollexsudate und den Serumverdünnungen von c und d 1 : 25, 50, 100, 250, 500, 750, 1000, 2500, 5000. Kontrolle mit Bouillonkultur und den Verdünnungen 1 : 1000, 2500, 5000. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Bouillonkultur durch beide Sera vollständig agglutiniert.

Serum des mit Bouillonbakterien immunisierten Tieres hat bis 1 : 50 vollständig, von da bis 1 : 500 sehr unvollständig, von da an gar nicht mehr agglutiniert. Das andere Serum d hat bis 1 : 2500 durchgreifend agglutiniert.

Nach 1 und 2 Std. hat auch das Serum c bis 1 : 250 ziemlich vollständig agglutiniert und auch noch bei 1 : 500 viele Haufen gebildet, das Serum d hat bei 1 : 2500 vollständige, bei 1 : 5000 noch teilweise Agglutination hervor gebracht.

Die Überlegenheit des Serums d, das von dem mit Exsudatbakterien behandelten Tiere stammt, ist ganz auffallend. Zu bemerken ist, daß beide Sera c und d gegenüber Bouillonkulturen von Typhus ungefähr gleich wirksam waren, bei geringfügiger Überlegenheit des Serums d. Beide agglutinierten um diese Zeit bei der Verdünnung 1 : 10000 und 12500 noch vollständig; bei 1 : 15000 war die Haufenbildung bei Serum c bereits unvollständig, darüber hinaus auch bei Serum d. Doch erzeugte dieses auch noch bei 1 : 20 und 24000 teilweise Agglutination, während das andere in dieser Verdünnung bereits versagte. Ein derartiges Verhalten wurde noch bei anderen Seris konstatiert, doch ist es bisher nicht gelungen, eine Gesetzmäßigkeit aufzufinden.

Der mitgeteilte Versuch ist aber auch noch in anderer Hinsicht interessant. Er zeigt nämlich, daß das durch Behandlung mit Kulturbakterien gewonnene Serum gegen Exsudatbakterien ganz ungewohnt starke Wirkungen entfaltete. Ganz deutlich anders war das Resultat, als das Serum zwei Tage älter war, im folgenden Versuche. Diese, auch sonst beobachtete Eigentümlichkeit, die hier besonders klar hervortritt, wird späterhin von Wichtigkeit werden.

**Versuch XXIV.**

Vollexsudat eines der intraperitonealen Impfung mit  $\frac{1}{4}$  Typhusagarkultur nach 18 Std. erlegenen Meerschweinchens 37 mit den Verdünnungen 1 : 25, 50, 100, 500, 1000, 2500, 5000, 10000 der beiden 3 Tage alten Sera c und d. Kontrolle mit Bouillonkultur und den Serumverdünnungen 1 : 5000, 7500, 10000. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Stunde: Bouillonkultur in allen Präparaten agglutiniert, doch durch die Verdünnungen beider Sera auf 1 : 10000 nur unvollständig.

Gegen Exsudatbakterien hatte Serum c nur bei der Verdünnung 1 : 25 vollständig gewirkt, schon bei 1 : 50 fast ganz versagt.

Serum d hatte bis 1 : 500 typische Agglutination bewirkt, bei 1 : 1000 waren viele, aber nur kleine Häufchen vorhanden, sonst war es wirkungslos.

Nach 1 und 2 Std. war das Bild im wesentlichen dasselbe.

Unerwartet rasch war hier die haufenbildende Kraft gegenüber Bouillonkulturen gesunken und zwar glücklicherweise derart, daß jetzt beide Sera bei dem gleichen Verdünnungsgrade aufhörten, vollständige Agglutination herbeizuführen. Um so schöner tritt die Überlegenheit des Serums d gegen Exsudatbakterien hervor. Dennoch hatte dasselbe auch hierin gegen früher eine merkbare Einbuße erlitten und ganz gewaltig war die auch bei Serum c rudimentär vorhanden gewesene Wirkung gegen die tierischen Exsudate zurückgegangen.

Ähnlich, wenn auch nicht so schön, zeigen dies die beiden folgenden Versuche mit den letzten Seris, die von den Tieren c und d gewonnen worden waren.

#### Versuch XXV.

In der üblichen Weise erhaltene und gewaschene Bakterien aus dem Exsudate des Meerschweinchens 67, das der intraperitonealen Impfung mit  $\frac{1}{4}$  Agarkultur in 13 Std. erlegen war, werden mit den Verdünnungen 1 : 10, 50, 100, 500, 1000, 5000 und 10000 der ganz frischen Sera c II und d II zu hängenden Tropfen verarbeitet. Kontrolle mit ebenso erhaltenen Bouillonbakterien. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind die Bouillonbakterien durch alle Verdünnungen des Serums d II vollständig agglutiniert, während c II bei 1 : 10000 nur eine unvollkommene Haufenbildung geliefert hat.

Exsudatbakterien sind durch Serum d II bei 1 : 1000 agglutiniert, auch 1 : 5000 hat noch viele Häufchen erzeugen können. Serum c II zeigt bei 1 : 10 vollständige, bei 1 : 50 und 100 unvollständige, aber unzweifelhafte Wirkung.

Nach 2 Std. hat Serum d II auch bei 1 : 5000 ziemlich vollständige Haufenbildung hervorgebracht, Serum c II vollständige bei 1 : 50, ziemlich umfassende bei 1 : 100.

Die Wirkung der beiden Sera ist also:

Serum c II für Exsudat bis 1 : 100 für Bouillon bis 1 : 5000.

„ d II „ „ „ 1 : 5000 „ „ „ 1 : 10000.

**Versuch XXVI.**

In der üblichen Weise gewaschene Bakterien aus dem Exsudate des der intraperitonealen Impfung nach  $\frac{1}{3}$  Typhusagarkultur nach weniger als 12 Std. erlegenen Meerschweinchens 74 werden mit Verdünnungen 1 : 10, 100, 500, 1000, 2500 und 5000 der nunmehr 9 Tage alten Sera c II und d II zu hängenden Tropfen verarbeitet. Kontrolle mit ebenso behandelten Bouillonbakterien. 37°.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. haben beide Sera bei 1 : 2500 noch vollständig agglutiniert, doch sind bei Serum c II nur sehr kleine Häufchen vorhanden. In den Verdünnungen 1 : 5000 ist die Haufenbildung unvollständig.

Exsudatbakterien sind durch Serum c II nur bei 1 : 10 teilweise agglutiniert durch Serum d II bis 1 : 1000, in letzterer Verdünnung aber nicht mehr vollständig.

Nach 1 Std. sind Bouillonbakterien durch beide Sera zu Haufen verwandelt.

Exsudatbakterien sind durch Serum c II bei 1 : 10 vollständig, bei 1 : 100 fast gar nicht mehr beeinflusst worden, von Serum d II noch bei 1 : 1000 doch sind die gebildeten Häufchen hier nur klein.

Die Wirkung der beiden Sera ist somit beträchtlich gesunken.

Was die agglutinative Wirkung der Sera g und h des zweiten verwertbaren Kaninchenpaares betrifft, so war sie nach der ersten Blutentnahme nicht wesentlich verschieden. Die Wirkung gegen Bouillonkulturen hörte für beide bei der Verdünnung 1 : 10 000 auf; Exsudatbakterien gegenüber veranlafste das Serum g des mit Bouillonbakterien immunisierten Tieres nur bei der Verdünnung 1 : 10 Haufenbildung, das des mit Exsudatbakterien behandelten Kaninchens h bis zur Verdünnung 1 : 100. Die zweite Entnahme zeigte die gleichen Differenzen beider Sera im Verhalten gegen Exsudatbakterien, indem Serum g I bei 1 : 25 gerade noch vollständig agglutinierte, Serum h I dagegen noch bei 1 : 500. Dabei waren auffallenderweise die haufbildenden Werte gegen Bouillonkulturen gegen die Bestimmung der Sera der ersten Entnahme fast genau die gleichen geblieben.

**B. Die Entstehung von Fällungen in Typhusexsudaten und Filtraten von Bouillonkulturen durch Immunserum.**

Seitdem Kraus im Jahre 1897 zuerst die Aufmerksamkeit auf die Bildung von Niederschlägen in Filtraten von flüssigen Kulturen nach Zusatz des Serums gegen die betreffenden Mikroorganismen immunisierter Tiere gelenkt hatte, hat dieses

Phänomen in der Immunitätslehre stets eine große Rolle gespielt. Paltauf und Kraus selbst verwerteten dasselbe zunächst zu einem Erklärungsversuche des Mechanismus der Agglutination, indem sie annahmen, daß die Haufenbildung von Bakterien nichts anderes sei als eine sekundäre Zusammenballung infolge der Entstehung von Niederschlägen in der Kulturflüssigkeit.

Diesem Erklärungsversuche nähert sich die Auffassung Nicolles. Nicolle nimmt an, daß eine Agglutination nur beim Vorhandensein zweier Stoffe erfolgen könne, die sich gewissermaßen zu einer unlöslichen neuen Verbindung vereinigen. Die eine dieser Substanzen, die »agglutinierende« bilde einen Bestandteil des Immuserums, die zweite, die »agglutinierte« (wohl besser gesagt die »agglutinable«) sei ursprünglich nur in dem Bakterienleibe vorhanden und zwar in dessen äußeren Schichten. Bei länger dauernder Kultur gehe sie teilweise in Lösung und befinde sich auch in der Kulturflüssigkeit. Setzt man Immuserum zu Bakterien, so verbinde sich die agglutinierende Substanz in der Zelle selbst mit der agglutinablen, wodurch die Membran der Bakterien nunmehr fähig werde, mit der anderer, in gleicher Weise beeinfluster zu verkleben. Erfolgt der Zusatz des spezifischen Serums zu älteren flüssigen Kulturen, so verbindet sich die gelöste agglutinable Substanz mit der agglutinierenden zu einem makroskopisch sichtbaren, der Färbung zugänglichen Niederschlag. In einer späteren Arbeit von Kraus und Seng<sup>1)</sup> wird nochmals betont, daß die Entstehung von Niederschlägen bei der Agglutination das Wesentliche sei; durch diese werden erst die Bakterien passiv zu Haufen vereinigt.

Kritische Bemerkungen zu diesen Ansichten finden sich, mehr gelegentlich bei Nolf<sup>2)</sup>, ferner bei Bordet<sup>3)</sup> und namentlich in der Arbeit Radzievskys<sup>4)</sup>.

Radzievsky betont zunächst das zeitliche Mißverhältnis zwischen dem Eintreten der Agglutination und dem Entstehen

1) Kraus und Seng, Wiener klin. Wochenschrift, 1899, Nr. 1.

2) Nolf, Annales de l'Inst. Pasteur, 1900.

3) Bordet, a. a. O.

4) Radzievsky, Centralblatt f. Bakteriologie, 1899, Nr. 24; Zeitschrift f. Hygiene, 1900, S. 369 ff.

der Niederschläge; ersteres sei innerhalb von zwei Stunden im wesentlichen beendet, letzteres bedürfe zum bloßen Sichtbarwerden mindestens eines Zeitraumes von 6 Stunden. Ferner weist er darauf hin, daß junge Kulturen in ihrem Filtrate überhaupt noch keine Niederschläge entstehen lassen, während sie, so lange sie noch bakterienhaltig sind, schöne Agglutination liefern, ein Einwand, der weniger Nicolle, als namentlich die Kraus-Paltaufsche Hypothese trifft.

Durch direkte Versuche wies er nach, daß in einem Kulturfiltrate, dem Serum und durch dieses nicht agglutinable Bakterien zugesetzt worden sind, dennoch eine Klärung der Flüssigkeit nicht zu erfolgen braucht, daß also »ein spezifischer Bodensatz sich bilden kann, ohne die Mikroben mit sich niederzureißen«.

Die größte Bedeutung kommt jedoch einem Versuche Radzievskys zu, der die Unabhängigkeit des Agglutinationsphänomens von der Bildung spezifischer Fällungen in zwingender Weise klarlegt. Er versetzte Filtrat einer fünf Wochen alten Kultur von *Bacterium coli* mit dem zugehörigen Immunsérum; nach 24 Stunden hatte sich ein üppiger Bodensatz gebildet. Die über demselben stehende klare Flüssigkeit vermochte aber wiederum in Röhrchen mit frischer Bouillonkultur Agglutination hervorzurufen, was nicht mehr hätte der Fall sein dürfen, wenn die niederschlagsbildende und agglutinierende Kraft des Immunsérum auf denselben Stoff zurückgeführt werde. Man kann Radzievsky nur vollständig beistimmen, wenn er neben der bakteriolytischen und der agglutinativen Eigenschaft eines Immunsérum noch ein drittes, selbständiges Vermögen annimmt, das: »eine Reaktion der spezifischen Bodensätze im Filtrate alter Kulturen hervorzurufen«. In diesem Sinne stimmen die Anschauungen Radzievskys völlig mit den mehr minder deutlich ausgesprochenen Versuchsergebnissen Bordets und Noffs überein. Immerhin läßt sich gegen den erwähnten Versuch Radzievskys noch der Einwand erheben, daß die quantitativen Ausfällungsverhältnisse nicht genügend exakt berücksichtigt worden seien. Es geht aus seiner Mitteilung nicht hervor, daß



die ausfällende Substanz seines Coliserums wirklich durch das Colifiltrat erschöpft wurde. Zusammengehalten mit der Angabe, daß die Agglutination von lebenden Bakterien, durch das mit dem Filtrat in Berührung gewesene Serum verlangsamt eingetreten und etwas schwächer verlaufen sei, bleibt immer noch der Vermutung Raum, daß in dem Versuche von Radzievsky die Fällungskraft nicht wirklich erschöpft war. Damit würde natürlich der an sich vollständig richtige Versuch wesentlich an Beweiskraft verlieren. Gelegenheit zu eigenen Versuchen über die niederschlagbildende Komponente eines Typhusimmunsersums gab die Beobachtung, daß das Serum des mit Typhus-exsudatbakterien vorbehandelten Tieres in außerordentlich hohem Maße die Fähigkeit besaß, Fällungen bei Zusatz von Filtraten alter Typhusbouillonkulturen zu geben. Ein wesentlich höheres Interesse gewannen dieselben, als es sich zeigte, daß auf Zusatz von Immuns serum zu bakterienfrei gemachten Typhus-exsudaten ebenfalls eine außerordentlich starke Fällungsreaktion auftritt. Alle bisherigen Angaben über die Entstehung der Niederschläge in Filtraten von Bouillonkulturen stimmen darin überein, daß bis zum Sichtbarwerden einer Trübung in der vorher ganz klaren Flüssigkeit und weiterhin bis zur Zusammenballung der Trübung zu Flocken eine lange Zeit vergeht. Kraus stellte seine Versuchsproben 24 Stunden lang in den Brutschrank, Nicolle dehnte seine Versuche ebenfalls auf Stunden hinaus aus und Radzievsky, der offenbar bisher die stärksten Reaktionen erhalten hatte, giebt an, daß der Niederschlag, gleichgültig ob bei Zimmer- oder Bruttemperatur, gewöhnlich nach 5—6 und nur mitunter schon nach 3 Stunden entstand.

Alle zwölf untersuchten, auf gewöhnliche Weise, d. h. durch Behandlung mit toten oder lebenden Bakterien gewonnene, Typhusimmuns sera verhielten sich ähnlich. Doch wurde bemerkt, daß sich auf Zusatz größerer Mengen von Immuns serum zu relativ geringen Quantitäten Kulturfiltrates die Bildung einer Trübung wesentlich beschleunigen liefs.

Ebenso konnten die bisherigen Angaben dahin bestätigt werden, daß der Niederschlag um so reichlicher ausfällt, je älter

und je üppiger gewachsen die Kultur war, aus welcher das Filtrat hergestellt wurde.

Die Art und Weise der Ausbildung und Absetzung des Niederschlags wird in den folgenden Versuchsprotokollen angegeben werden. Die erste Beobachtung starker Fällungseigenschaften geschah bei Untersuchung des erstentnommenen Serums des mit Exsudatbakterien vorbehandelten Kaninchens d.

#### Versuch XXVII.

Zu je 5 ccm Filtrat einer 1 Monat alten Typhusbouillonkultur (die Filtration erfolgte in diesem wie in allen anderen Versuchen durch Berkefeldfilter) werden 0,2, 0,1 und 0,05 ccm Serum d und e (s. die Immunisierungstabelle auf S. 347) zugesetzt.

In allen Röhren entsteht fast unmittelbar nach dem Zusatze von Serum d dichte Trübung, die bei den Proben mit 0,2 und 0,1 ccm Serum nach  $\frac{1}{2}$  Std., bei der mit 0,05 ccm erst nach etwa 1 Std. bei Zimmertemperatur flockig wird und sich dann rasch absetzt. Nach 12 Std. ist überall ein starker Bodensatz gebildet, der aber deutlich an Menge von der Probe mit 0,2 zu der mit 0,05 ccm Serum abnimmt.

Serum e hatte bei Zusatz von 0,2 ccm nach 2 Std. eine spurenweise Trübung gezeigt, nach 12 Std. hatte sich darin ein geringfügiger Satz gebildet, das Röhren mit 0,1 ccm war leicht trüb, das mit 0,05 ccm blieb klar.

Das Wichtigste, was aus diesem sowie den folgenden Versuchen neben Feststellung der ungemein starken fällenden Wirkung des Serums d hervorgeht, ist die Thatsache, daß ein auf gewöhnliche Weise durch Immunisation mit Kulturbakterien gewonnenes Serum überhaupt nur relativ sehr wenig präcipitierende Kraft besitzt. Wenn trotzdem beide Sera, d und e, nahezu gleich stark lebende Bakterien agglutinierten, so folgt daraus unmittelbar der Schluß einer völligen Unabhängigkeit der niederschlags- und der haufenbildenden Wirkung.

#### Versuch XXVIII.

Mit dem zweiten, den Kaninchen e und d entnommenen Seris (als Serum e I und d I bezeichnet; s. die Immunisierungstabelle auf S. 347). Das selbe wird in der Menge von 0,4, 0,2, 0,1 ccm zu je 4 ccm Filtrat einer 2 Monate alten Typhusbouillonkultur zugesetzt.

Auf Zusatz von Serum d I entsteht in allen Proben sofort eine starke Trübung, die nach 2stünd. Stehen bei Zimmertemperatur bereits dicht flockig und nach 4 Std. bereits ganz unter Klärung der Flüssigkeit abgesetzt ist. Zusatz von 0,4 ccm Serum e I erzeugt nach etwa 10 Minuten eine leichte Trübung, die nach 2 Std. stärker ist, nach 6 Std. unverändert besteht. Bei

Zusatz von 0,2 ccm Serum e I wird erst nach 2 Std. eine leichte Trübung bemerkt, die nach 6 Std. unverändert ist. Nach 24 Std. hat sich bei 0,4 und 0,2 ccm Serum c I ein geringfügiger Bodensatz gebildet; Zusatz von 0,1 ccm Serum c I hat überhaupt weder Trübung noch Niederschlag erzeugt.

#### Versuch XXIX.

Mit dem dritten, den Kaninchen c und d entnommenen Seris (Serum c II und d II), welche in den Mengen von 0,1, 0,05 und 0,01 ccm zu je 5 ccm Typhusbouillonfiltrat von einer fast 2 Monate alten Kultur zugesetzt werden. Die Proben mit Serum d II werden fast sofort trüb, die Trübung wird nach 0,1 Serum binnen 2 Std. bei Zimmertemperatur grobflockig und setzt sich ab, viel schwerer erfolgt der Absatz bei 0,05 ccm, wo er nach 4 Std. noch nicht beendet ist. Zusatz von 0,01 ccm hat zwar die Flüssigkeit dicht getrübt, aber Flocken sind um diese Zeit noch nicht gebildet. Nach 24 Std. sind alle Röhrchen klar mit reichlichen, aber an Menge deutlich von 0,1 zu 0,01 Serum abnehmendem Satze. Serum c II hat erst bei 0,1 ccm nach 24 Std. eine zweifelhafte Trübung erzeugt und ist sonst wirkungslos geblieben.

Wie bereits erwähnt, waren bei der Immunisierung eines zweiten Kaninchenpaares, g und h, die zuerst entnommenen Sera beider Tiere wenig voneinander verschieden; jedenfalls war das des mit Exsudatbakterien vorbehandelten Tieres h lange nicht so agglutinativ wirksam gegen Typhusexsudat wie das des früher in gleicher Weise immunisierten Tieres d.

Ganz in Übereinstimmung damit waren auch seine fällenden Eigenschaften wenig ausgesprochen.

#### Versuch XXX.

Zu je 5 ccm Typhusbouillonfiltrat werden 0,25, 0,1 und 0,05 ccm Serum g und h zugesetzt. Nach ca. 10 Minuten zeigt sich schwache Trübung bei 0,25 ccm Serum h. Nach  $\frac{1}{2}$  stünd. Aufenthalte bei 37° erscheint eine ebensolche bei 0,1 ccm Serum h und 0,25 ccm Serum g. Die Trübungen werden binnen 3 Std. bei 37° nicht merkbar stärker. Nach weiterer 12 stünd. Aufbewahrung bei Zimmertemperatur hat sich in der Probe mit 0,25 Serum h ein ziemlich starker, in 0,1 ein wesentlich geringerer, in 0,05 ein sehr unbedeutender Satz gebildet. Serum g hat in der Menge von 0,25 ccm einen geringen Satz erzeugt und war sonst wirkungslos.

Mit dem Steigen der agglutinierenden Wirkung gegen Exsudatbakterien war auch eine vermehrte Fällungskraft für Typhusfiltrate verbunden. Dieses auffallende Zusammentreffen macht es, trotz der zu geringen Zahl untersuchter Sera wahrscheinlich, daß die Behandlung von Tieren mit Exsudatbakterien regelmäßig mit einer wesentlichen Steigerung der niederschlagsbildenden Wirkung einhergeht.

**Versuch XXXI.**

Zu je 5 ccm Typhusbouillonfiltrat werden 0,5, 0,25, 0,1 und 0,05 ccm Serum h I bzw. g I zugefügt. Bei 0,5 und 0,25 ccm Serum h I entsteht fast sofort Trübung, die nach  $\frac{1}{2}$  Std. sehr stark und nach 1 Std. (Zimmertemperatur) flockig wird. Bei 0,1 ccm Serum h I bedarf es 5, bei 0,05 ccm etwa 10 Minuten, ehe Trübung entsteht, die nach  $\frac{1}{4}$  Std. stärker und wenigstens bei 0,1 ccm Serum flockig wird. Serum g I erzeugt mit 0,5 ccm nach etwa  $\frac{1}{4}$  Std. leichte Trübung, die ebenso wie die etwas später bei 0,25 und die nach ca. 1 Std. entstehende, bei 0,1 ccm durch 2 Std. ohne stärker zu werden, bestehen bleibt. Nach weiteren 18 Std. bei Zimmertemperatur zeigen alle Proben mit Serum h I reichlichen Satz, der aber von 0,25 ccm Serum an bis 0,05 ccm an Menge deutlich abnimmt. Serum g I hat bei 0,5 und 0,25 ccm nur einen sehr geringen Satz, bei 0,1 ccm nur eine Trübung erzeugen können, 0,05 ccm sind wirkungslos geblieben.

Die starken fällenden Wirkungen des Serums d wurden dazu benutzt, um einige auf die Niederschlagsbildung bezügliche Fragen zu studieren. Zunächst galt es, die Abhängigkeit der agglutinierenden und präcipitierenden Serumwirkung voneinander festzustellen. Die dabei leitende Überlegung war dieselbe, welche auch den bereits besprochenen Versuch von Radziewsky veranlaßt hatte. Wenn die fällende Wirkung mit der haufenbildenden enge verbunden oder gar mit ihr identisch ist, so muß nach Erschöpfung eines Serums mit dem Filtrat von Typhusbouillonkulturen auch die bakterienagglutinierende Eigenschaft verschwunden oder doch wesentlich herabgemindert sein. Der Gang der Versuche ist aus den nachfolgenden Protokollen ersichtlich; zur Prüfung der etwa geschwächten agglutinierenden Wirkung wurden empfindliche junge Typhusbouillonkulturen und das der makroskopischen Beobachtung überlegene Verfahren<sup>1)</sup> der mikroskopischen Prüfung im hängenden Tropfen angewendet.

**Versuch XXXII.**

10 ccm Typhusbouillonfiltrates werden mit 0,1 ccm Serum d versetzt ebenso 10 ccm physiologische NaCl-Lösung zur Kontrolle. Es entsteht im Augenblicke des Einfallens der Serumtropfen eine weißliche Trübung, die sich sehr bald der ganzen Flüssigkeit mitteilt, nach  $\frac{1}{2}$  Std. sehr stark und nach 3 Std. (Zimmertemperatur) bereits ganz flockig geworden ist. Nach 20 Std. hat sich unter Klärung ein sehr reichlicher Satz gebildet.

1) Gruber, Münchner mediz. Wochenschrift, 1897, Nr. 17.

Die Probe wird centrifugiert, die überstehende, völlig klare Flüssigkeit abgegossen und gleichzeitig mit der Kontrolle auf ihre agglutinierende Kraft geprüft; ihr Serumgehalt (0,1 ccm zu 10 ccm Flüssigkeit) entspricht einer Verdünnung 1 : 100. Die mit 14 stünd. Bouillonkultur angelegten hängenden Tropfen zeigen hier wie in der Kontrolle nach  $\frac{1}{4}$  Std. vollkommene Agglutination.

Versuchsprobe wie Kontrolle werden nun nach und nach auf die Verdünnungen 1 : 1000, 5000, 7500, 10 000, 12 500, 15 000 gebracht und erzeugten unterschiedslos Agglutination. Von da an erzeugten die Verdünnungen 1 : 16, 17, 18, 19, 20, 22- und 24 000 noch unvollständige Agglutination, 1 : 25 000 war wirkungslos bei beiden.

Inzwischen war 1,5 ccm sowohl der abgegossenen Flüssigkeit als der Kontrollprobe mit 1,5 ccm frischen Typhusfiltrates versetzt. In der Kontrollprobe entsteht Trübung, die Versuchsprobe blieb klar. Es war somit alle fallende Substanz des Serums verbraucht worden. Schließlich wurden 4,5 ccm der abcentrifugierten Flüssigkeit mit 0,05 ccm frischen Serums d versetzt. Es entsteht nach Verlauf von  $\frac{1}{2}$  Std. eine leichte Trübung, die nach 3 Std. viel deutlicher wird und sich nach 24 Std. flockig abgesetzt hat. Ihre Intensität ist aber wesentlich geringer als die, die früher in einem unveränderten Filtrate aufgetreten war. Es hatte somit die zugesetzte Serummenge von 0,1 ccm die in 10 ccm Typhusfiltrat enthaltene Menge ausfallbarer Substanz nicht völlig niederschlagen können. Von einem etwa im Überschusse zugesetzten Serum ist also keine Rede.

### Versuch XXXIII.

Je 5 ccm Typhusbouillonfiltrat erhalten einen Zusatz von 0,2, 0,1, 0,05 ccm Serum d. Kontrolle mit ebensoviel Serum in 5 ccm steriler Bouillon.

Die fast augenblicklich trübe gewordenen und rasch abgesetzten Proben werden nach 24 stünd. Stehen bei Zimmertemperatur centrifugiert und die obenstehenden Flüssigkeiten im hängenden Tropfen geprüft; sie agglutinieren unterschiedslos bei 1 : 15 000 vollständig. Je 2 ccm der abcentrifugierten klaren Flüssigkeiten werden neuerdings mit je 1 ccm Typhusbouillonfiltrat versetzt. Die serumhaltige Kontrollbouillon wird fast augenblicklich trüb, von den Versuchsproben bleibt die, welche 0,05 ccm Serum d enthalten hatte, überhaupt klar, die mit 0,2 ccm Serum gibt nach  $\frac{1}{2}$  Std., die mit 0,1 ccm erst nach 2 Std. Trübung. Nach 24 stünd. Stehen wird centrifugiert, und die abgegossenen Flüssigkeiten werden insgesamt nochmals mit frischer Typhusbouillonkultur im hängenden Tropfen geprüft. Es zeigt sich unterschiedslos vollständige Agglutination bis 1 : 10 000. Bei 1 : 15 000 ist die Haufenbildung in allen Proben unvollständig, wohl infolge des 2 tägigen Stehens in verdünntem Zustande.

Danach kann es wohl keinem Zweifel mehr unterliegen, das Kraus'sche Phänomen mit der Agglutination in keinerlei engerem Zusammenhange steht, und das die, eine Fällung veranlassenden, präcipitierenden Substanzen des Typhusimmunserums

völlig unabhängig von den die Zusammenballung der Bakterien bewirkenden, agglutinierenden sind. Zusammengehalten mit den Erfahrungen Noffs, Tchistowichs und Bordets an roten Blutkörperchen, sowie denen Radzievskys an Colibakterien dürfte diesem Satze wohl Allgemeingültigkeit für sämtliche Immunsera zukommen.

Ganz entsprechende Fällungen wie im Filtrat von Typhuskulturen in künstlichen Medien erhält man nun auch in Typhus-exsudaten, welche durch Filtration oder ausgiebiges Centrifugieren von ihrem Bakteriengehalte befreit worden sind. Diese Niederschläge wurden schon mit gewöhnlichen Immunsersis erhalten, viel schöner und schneller aber traten sie wieder bei Verwendung von Seris des Kaninchens *d* auf.

#### Versuch XXXIV.

Die Bauchhöhle des der Infektion mit 3 Ösen Typhusagarkultur in weniger als 15 Std. erlegenen Meerschweinchens 33 wurde mit 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, das Spülwasser centrifugiert und die abgegossene, leicht opalisierende Flüssigkeit durch Berkefeldtfilter filtriert. Das ganz klare, wenig gelbe Filtrat wurde zu je 1 ccm mit 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 und 0,001 ccm eines auf gewöhnliche Weise gewonnenen bis 1 : 2500 agglutinierenden Serums versetzt. Kontrolle 1 ccm Exsudat mit 0,2 ccm Normalserum. Nach 3stünd. Aufenthalt bei 37° war nichts Besonderes zu bemerken, nach 20stünd. Stehen waren bei 0,1 und 0,05 ccm Serum grobflockige starke, bei 0,01 und 0,005 ebensolche, aber schwächere Bodensätze gebildet, die aus feinkörniger Masse bestanden. 0,001 ccm Serum hatte ebenso wie das Normalserum nicht gewirkt.

#### Versuch XXXV.

Exsudat der im Versuche XVI verwendeten Maus mit physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, 2fach centrifugiert, wird zu je 1 ccm mit 0,2, 0,1 und 0,05 ccm desselben Serums wie im vorigen Versuche versetzt. Kontrolle 2 Röhrchen mit 1 ccm Exsudat und 0,2 und 0,1 ccm Normalserum. 37°.

Nach 1 Std. ist in allen Proben mit Immunsersum dicke Flockenbildung eingetreten, der bald Absetzung und Klärung folgt. Das Normalserum hat keine Veränderung hervorgerufen.

#### Versuch XXXVII.

Vereinte Spülwässer der Peritonealhöhlen zweier Meerschweinechen werden centrifugiert und durch Berkefeldt filtriert. Die durch die starke Verdünnung nur mehr wenig gelb gefärbten Filtrate werden in Epronvetten zu je 5 ccm eingefüllt und mit 0,2, 0,1 und 0,05 ccm Serum c und d versetzt. Zimmertemperatur.

Binnen  $\frac{1}{4}$  Std. entsteht in den Proben mit 0,2 und 0,1 innerhalb 1 Std. in der mit 0,05 cem Serum d Trübung. Nach Verlauf von 3 Std., innerhalb welcher Zeit die Trübung immer stärker wurde, entsteht Flockenbildung und rascher Absatz. Serum c hat während dieser Zeit eine sichtbare Änderung nicht hervorgerufen.

Nach 20 Std. sind die Proben mit Serum d klar mit an Menge deutlich abgestuften Bodensätzen. Serum c hat nur bei 0,2 cem Bodensatz erzeugt.

Die Prüfung der überstehenden klaren Flüssigkeiten ergab unveränderte Agglutinationskraft gegen Typhusbouillonkultur

Die Thatsache der Niederschlagsbildung in selbst sehr stark verdünnten Typhusexsudaten hat an sich nichts Auffälliges. Denn offenbar beruht die Fällung auf dem Vorhandensein von Produkten des Typhusbakteriums, gleichgültig zunächst, ob das von vornherein lösliche Stoffwechselerzeugnisse sind, oder aber sekundär aufgelöste Bakteriensubstanzen. Beide müssen sich im Exsudate ebensogut wie in der Kultur finden. Die Besonderheit liegt nur darin, daß die Exsudate in so kurzer Zeit, 12 bis 20 Stunden, fertig gebildet sind und schon starke Niederschläge geben, während junge, 24 Stunden alte Kulturen, wenn sie überhaupt eine Fällungsreaktion erkennen lassen, auf Zusatz auch von Serum d, dI und dII, nur äußerst wenig reagieren. Es muß also die Ausbildung der mit Immunserum fällbaren Stoffe im Exsudate ungewöhnlich reichlich vor sich gehen.

Weitere Untersuchungen befaßten sich mit der Widerstandsfähigkeit der fällenden Stoffe des Immunserums und der ausgefallten der Kulturfiltrate gegen Hitze.

Was die ersteren betrifft, so vertragen sie jedenfalls Temperaturen von 60°, ohne zerstört zu werden.

#### Versuch XXXIX.

Serum dI wird  $\frac{1}{2}$  Std. und 1 Std. auf 60° erhitzt und zu je 0,25 cem je 5 cem Typhusbouillonfiltrat zugesetzt. 37°.

In allen Proben entsteht sofortige Trübung, ohne Unterschied gegen die Kontrolle, welche nicht erhitztes Serum enthielt. Schon nach  $\frac{1}{2}$  Std. beginnt Flockenbildung, nach 2 Std. ist der größte Teil der Flocken bereits am Boden abgesetzt.

Vielleicht findet aber doch durch die Temperatur von 60° eine gewisse Schädigung statt, wofür der folgende Versuch zu sprechen scheint. Diese betrifft vornehmlich das wenig fällende Serum c.

**Versuch XI.**

a) Je 4 ccm Typhusbouillonfiltrat werden mit 0,4, 0,2, 0,1 ccm Serum d I bzw. c I versetzt. In der einen Hälfte der Proben ist dasselbe unverändert, in der andern  $\frac{1}{2}$  Std. auf 60° erhitzt. (Für das unerhitzte Serum d I und c I bereits teilweise im Versuch XXIX mitgeteilt.) Die Proben mit erhitztem Serum d I werden fast augenblicklich trübe, doch ist die Trübung nach 2 Std. schwächer als in den nicht erhitzten Proben, und auch nach 4 und 6 Std. noch nicht flockig abgesetzt. Das erhitzte Serum e I hat binnen 6 Std. nur in der Menge von 0,4 ccm eine leichte Trübung erzeugt. Nach 24 Stunden haben alle Proben mit Serum d I Bodensatz gebildet, und unterscheiden sich nicht von den Proben mit normalem Serum. Wie die Trübung der mit 0,4 und 0,2 ccm erhitzten Serums e I versetzten Proben beweist, ist auch hier die Serumwirkung hervorgetreten, 0,1 ccm Serum c I hat in keinem Falle eine Wirkung geküfsert.

b) Spülwasser aus der Bauchhöhle des Typhusmeerschweinchens 49 wird durch Berkefeldfilter filtriert, und zu je 3 ccm mit 0,3 ccm teils normalem, teils  $\frac{1}{2}$  Std. auf 60° erhitztem Serum c I und d I versetzt. Bei Zusatz von Serum d I entsteht sofortige Trübung, die schon nach  $\frac{1}{2}$  Std. flockig wird und nach 3 Std. ganz abgesetzt ist; dabei besteht keinerlei Unterschied in der Wirkung erhitzten und normalen Serums. Unerhitztes Serum c I erzeugt nach 1 Stunde Trübung, die nach 3 Std. stärker geworden ist und nach 24 Std. einen schwachen Bodensatz bildet, das erhitzte Serum ruft erst nach 2 Std. eine schwache Trübung hervor, die auch nach 24 Std. stationär bleibt.

Bestimmtere Resultate ergaben sich bei der Untersuchung der Hitzebeständigkeit der aus Kultur- und Exsudatfiltraten ausfallenden Stoffe. Dieselben widersprechen aber den bisher über diesen Gegenstand vorliegenden Angaben, wobei zu bemerken ist, daß diese Angaben selbst nicht untereinander übereinstimmen.

Nicolle fand, daß seine »substance agglutinée« hitzebeständig sei und durch 120° nicht geschädigt werde. Nur die aus Typhuskulturen ausfällbare Substanz sei etwas empfindlicher.

Im Gegensatze dazu fand Spiegelberg<sup>1)</sup>, daß Erwärmung der Kulturfiltrate die Entstehung der Krausschen Niederschläge verhindere.

Im direkten Gegensatze zu diesen Angaben lieferte das Studium der Ausfällungserscheinungen mit Serum d das Resultat einer geradezu absoluten Hitzebeständigkeit der aus Typhuskulturen fällbaren Stoffe, ein Resultat, das durch die Unter-

1) Zeitschrift f. Hygiene, 1899.



suchung der Art dieser Substanzen eine Bestätigung und Erklärung fand.

### Versuch XLI.

Je 5 cem Typhusbouillonfiltrat werden folgenden Erwärmungen ausgesetzt:

1.  $\frac{1}{2}$  Std. auf  $60^{\circ}$
2. 1 „ „ „
3. 2 „ „ „
4.  $\frac{1}{2}$  „ „ „  $75^{\circ}$
5. 1 „ „ „
6. 2 „ „ „
7.  $\frac{1}{4}$  „ im siedenden Wasserbade
8.  $\frac{1}{2}$  „ „ „ „
9. 2 „ „ „ „
10. ohne jede Erhitzung, als Kontrolle.

Danach werden jedem Röhrchen 0,25 cem Serum d1 zugesetzt.

Die Trübung erfolgt in allen Proben fast sofort nach Zusatz des Serums, ist nach  $\frac{1}{2}$  stünd. Aufenthalt bei Zimmertemperatur dichter geworden, zeigt nach 2 Std. überall weit vorgeschrittene Flockenbildung und mehr oder weniger vollständigen Absatz, der am frühesten bei den auf  $100^{\circ}$  erhitzten Proben beendet wird.

Mit diesem Ergebnis stimmt völlig die Thatsache überein, daß man eine ältere Typhusbouillonkultur erst im strömenden Dampfe ( $\frac{1}{2}$ —1 Stunde) sterilisieren und dann erst filtrieren kann, ohne die Ausfällbarkeit derselben durch Immuns Serum sinnfällig zu schädigen.

Diese Hitzebeständigkeit gab durch folgende Überlegung Veranlassung zur Ermittlung der Natur der ausfallenden Stoffe. Von allen bisher bekannten Stoffen der Bakterienzelle sind es die Bakterienproteine im Sinne Buchners allein, welche ohne Schaden über  $100^{\circ}$  hinaus erwärmt werden können. Da sowohl in alten Bouillonkulturen, wie auch sehr rasch im Tierkörper eine Auflösung der Bakterienleiber stattfindet, so müssen sowohl in Kulturfiltraten, wie in tierischen Exsudaten derartige Proteine vorhanden sein. Sind sie es aber wirklich, welche auf Zusatz von Immuns Serum einen unlöslichen Niederschlag geben, so muß auch eine künstlich hergestellte Typhusproteinlösung durch Immuns Serum fällbar sein.

Teilweise hat schon Kraus in seiner ersten Mitteilung den Beweis für diese Anschauung erbracht. Denn was er durch das

Antrocknen von Bakterien und nachheriges Auslaugen in alkalischer Bouillon in Lösung brachte, waren wohl zum guten Teile Buchnersche Proteine.

Zur Herstellung der Proteine wurde ein schon bei früheren Untersuchungen verwendetes, dem Buchnerschen nachgebildetes Verfahren benutzt.

#### Versuch XLII.

12 üppig gewachsene Typhusagarkulturen werden in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und zentrifugiert. Nach vollständigem Abgießen der spurenweise gelblichen (infolge ihres Kondenswassergehaltes) Flüssigkeit wird der weissgrane Satz in 24 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und in einer Druckflasche im Ölbade 3 Std. lang bei 120 bis 130° gehalten. Nach dem Abkühlen resultiert eine trübe Flüssigkeit, die auffallend leicht durch Berkefeldfilter hindurchgeht. Das Filtrat, welches das Aussehen einer lichten Bouillon hat und völlig klar ist, wird zu je 2 ccm in Eprovetten verteilt und mit 0,2, 0,1, 0,05, 0,01, 0,005 und 0,001 ccm Serum d II versetzt.

Es entsteht auf Zusatz von 0,2, 0,1 und 0,05 ccm Serum fast augenblicklich dichte Trübung, die teilweise schon nach  $\frac{1}{4}$  Std. flockig wird. Bei 0,01 ccm Serum braucht es etwa eine, bei 0,005 ccm 10 Min. (37°), ehe Trübung eintritt. 0,001 ccm ist wirkungslos. Nach 24 stünd. Aufenthalte bei 37° ist überall Bodensatz gebildet, reichlich und gleich stark in den Röhren mit 0,2, 0,1, 0,05 ccm Serum, viel geringer bei 0,01 und 0,005 ccm. Nur die Probe mit 0,001 ccm Serum ist unverändert klar geblieben.

#### Versuch XLIII.

Je 5 ccm in der gleichen Weise wie im vorigen Versuche gewonnenen Typhusproteins erhalten einen Zusatz von je 0,1 ccm Serum d II und e II.

Das Serum d II ruft sofort Trübung hervor, die zusehends stärker und nach ca.  $1\frac{1}{2}$  Std. flockig wird; Serum e II bleibt ohne Wirkung. Nach 20 stünd. Aufenthalt bei Zimmertemperatur hat sich in den Röhren mit Serum d II ein starker Bodensatz gebildet, das andere ist unverändert.

Es tritt also auch die sehr charakteristische Differenz der Fällungsfähigkeit der beiden Immunsere in Proteinlösungen gerade so gut auf wie in Typhusbouillonfiltraten, eine sehr wertvolle Stütze der Annahme einer Proteinnatur der mit spezifischem Serum fällbaren Stoffe.

Diese wird noch weiter wahrscheinlich gemacht durch folgende Versuche, deren Prinzip ein sehr durchsichtiges ist. Die Versuche XXXII und XXXIII zeigen deutlich an, daß die agglutinierende Substanz eines Serums unabhängig ist

von der ausfallenden; denn die Erschöpfung der letzteren hat keine Schwächung der ersteren zur Folge. Theoretisch könnte nun auch umgekehrt ein durch Bakterienzusatz an Agglutininen erschöpftes Serum seine fällende Kraft beibehalten. Sind es aber die Proteine, welche durch die Serumpräcipitine ausgefällt werden, so muß dieser Fall nicht eintreten, da ein mit Typhusbakterien versetztes Serum Gelegenheit hat, sich mit den noch in den Zelleibern vorhandenen Proteinen zu verbinden. Falls wirklich die Verbindung Bakterienprotein-Serumpräcipitin ebenso gut bei den noch im Zelleibe vorhandenen Proteinen erfolgt, wie bei den gelösten, so muß ein mit Bakterien versetzt gewesenes Serum auch an präcipitirender Kraft verloren haben.

#### Versuch XLIV.

Je 1 ccm Serum d II wird mit 2 ccm physiologischer NaCl-Lösung versetzt. In diesen 2 ccm sind das eine Mal zehn mäÙig gewachsene Typhusagarkulturen aufgeschwemmt, die andern reinen 2 ccm dienen als Kontrollzusatz. Binnen kurzer Zeit erfolgt Agglutination. Hierauf wird centrifugiert, in der klar abgegossenen Flüssigkeit wird wieder eine Agarkultur aufgeschwemmt und die trübe Flüssigkeit mit dem früheren Bodensatz wieder vereint. In dieser Weise wurden nach und nach 17 Agarkulturen verwendet, ohne daß das Serum an Agglutininen völlig erschöpft gewesen wäre. Danach wird die durch Centrifugieren neuerdings geklärte Flüssigkeit zu je 2 ccm Typhusbouillonfiltrat zugesetzt; ebenso die bakterienfrei gebliebene Kontrolle, und zwar:

1. Je 2 ccm Typhusfiltrat	+ 0,1 ccm Versuchs- bzw.	1 a) Kontrollflüssigkeit
2. „ 2 „ „	+ 0,2 „ „	2 a) „
3. „ 2 „ „	+ 0,3 „ „	3 a) „
4. „ 2 „ „	+ 0,5 „ „	4 a) „
5. „ 2 „ „	+ 0,75 „ „	5 a) „
6. „ 2 „ „	+ 1 „ „	6 a) „

Sämtliche Proben mit der Kontrollflüssigkeit werden fast sofort trübe, in 4 a bis 6 a bilden sich binnen  $\frac{1}{2}$  Std. bei Zimmertemperatur grobe Flocken. Nach 1 Std. sind die Flocken in 3 a bis 6 a abgesetzt, 2 a ist grobflockig, 1 a dicht trüb.

Bei Zusatz der Versuchsflüssigkeit tritt in 5 und 6 nach 5 Min., in 4 nach  $\frac{1}{4}$  Std., in 3 und 2 nach  $\frac{1}{2}$  Std. schwache Trübung auf, die nach 2 Std. weder stärker geworden ist, noch Flockenbildung zeigt. Probe 1 bleibt überhaupt unverändert.

#### Versuch XLV.

6 frische, üppige Typhusagarkulturen werden in 5 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und  $\frac{1}{4}$  Std. lang im siedenden Wasserbade gehalten. Hierauf wird centrifugiert und vom Bodensatz so gut als möglich

abgegossen. Derselbe wird in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und ebenso wie 2 ccm reiner Kochsalzlösung mit 0,075 ccm Serum d II versetzt. Schon nach 10 Min. ist die obenstehende Flüssigkeit bei 37° ziemlich geklärt und der aus groben Flocken bestehende Bodensatz zeigt mikroskopisch typisch agglutinierte Bakterienhaufen, die sich nach Zerschütteln immer wieder neu bilden.

Die Proben bleiben 10 Std. bei Zimmertemperatur und dann über Nacht auf Eis stehen. Dann wird centrifugiert und die obenstehende Flüssigkeit in 3 ccm frisches Typhusbouillonfiltrat eingetragen, ebenso die Kontrolle.

Wie immer bei stark verdünntem Serum dauert es einige Zeit, ehe Trübung sichtbar wird. Doch ist nach 10 Min. die Kontrolle deutlich, nach 1 Std. bei 37° dicht trüb, beginnt nach 2 $\frac{1}{2}$  Std. Flocken zu bilden und ist nach 4 Std. größtenteils, nach 8 Std. ganz abgesetzt. Die Versuchsprobe hat während der ganzen Zeit nicht die geringste Veränderung erlitten<sup>1)</sup>.

Durch solche Versuche wird die Proteinnatur der aus Typhuskulturfiltraten ausgefällten Stoffe überaus wahrscheinlich und es läge kein Anstand vor, sie mit Sicherheit zu behaupten, wenn der bereits gewürdigte Widerspruch in den Angaben über die Hitzebeständigkeit nicht vorhanden wäre oder befriedigend aufgeklärt werden könnte. Vermutlich ist die geringe Fällungskraft der von den erwähnten Autoren benutzten Immunsera dabei irgendwie beteiligt.

Was dann noch weiter gefolgert werden müßte, wäre, daß bei der eigentlichen Agglutination die Bakterienproteine nur passiv und sekundär eine Rolle spielen. Denn sonst müßte die Erschöpfung der Immunsera durch Typhusfiltrate, also durch Proteine, einen Einfluß auf die Agglutination haben, was nicht der Fall ist.

Da man aber mit keimfrei gemachten Bouillonkulturen agglutinierende Sera erzeugen kann, so muß in solchen Kulturfiltraten neben den Proteinen noch der wirksame Bestandteil vorhanden sein. Da ferner auch mit bei 100° sterilisierten Bouillonkulturen Agglutinine erzeugt werden können, so muß die wirksame Substanz, bis zu einem gewissen Grade wenigstens, hitzebeständig sein.

Durch fraktionierte Fällungen und Immunisation mittels der partiell ausgefällten Substanzen wird sich möglicherweise noch

<sup>1)</sup> Die Versuche wurden in der Julisitzung des Vereines „Lotos“ vorgebracht.

ein genauerer Einblick in das Wesen der Agglutination erhalten lassen. Derartige Versuche beanspruchen aber lange Zeit, da sie nur dann beweisend sind, wenn sie gleichzeitig an vielen Tieren angestellt werden. Merkwürdigerweise vertragen aber Kaninchen derartige Behandlungen ziemlich schlecht, weswegen noch nichts über diese Versuche berichtet werden kann. Nur die in der zweiten Mitteilung über die vorliegenden Versuche ausgesprochene Hoffnung, daß die Behandlung von Kaninchen mit den Niederschlägen von Bouillonfiltraten durch Typhuserum wirksame Sera liefern könne, darf nach eingehenderen Versuchen schon jetzt als trügerisch bezeichnet werden.

Die Entstehung starker Fällungen in den Exsudaten typhusinfizierter Meerschweinchen klärt nun auch die Bildung der eingangs erwähnten oberflächlichen Haufen in Präparaten solcher Exsudate mit starkem Immuserum wenigstens teilweise auf. Denn daß derartige Niederschläge in einem so bakterienreichen Medium eine mehr minder große Zahl von Bakterien einschließen können, ist sehr wahrscheinlich. Damit stimmt nicht nur die langgestreckte Form dieser Haufen gut überein, sondern auch die Thatsache, daß sie um so weniger zu bemerken sind, je mehr das Exsudat von vornherein verdünnt wurde, und daß sie bei gut ausgewaschenen, isolierten Exsudatbakterien nicht auftreten. Leider gab die direkte mikroskopische Beobachtung hierüber nicht die wünschenswerte Klarheit. In einigen Fällen liefs sich sicher eine sehr feinkörnige Masse als schmaler Rand an einzelnen Stellen dieser Haufen wahrnehmen, in anderen aber wurde etwas Ähnliches nur sehr unsicher oder gar nicht bemerkt. Die Färbung, die, wie Nicolle und Kraus gezeigt haben, für Immuserumniederschläge sehr wohl anwendbar ist, gab hier wegen der Mitfärbung des Grundes keine sicheren Aufschlüsse.

### C. Versuche über die Konstitution der Agglutinine.

Die Thatsache der schweren Agglutinierbarkeit der Typhusbakterien im Meerschweinchenexsudate hat durch die bisher mitgeteilten Versuche eine befriedigende Erklärung nicht gefunden. Namentlich der Versuch einer Immunisation von

Kaninchen mit solchen Bakterien hatte die erhofften Aufschlüsse nicht gebracht. Die Versuche, dieselben auch in anderer Hinsicht als etwas von gewöhnlichen Kulturbakterien Verschiedenes zu erweisen, hatten, soweit sie nicht an technischen Schwierigkeiten überhaupt gescheitert waren, schliesslich ein völlig negatives Resultat ergeben. Dazu kam noch, dafs auch der Versuch, eine irgendwie andersartige Schutzwirkung des durch Immunisation mit tierischen Exsudatbakterien gewonnenen Serums nachzuweisen, mifslang.

Es blieb somit nichts wie das eigenartige Verhalten gegen die Serumagglutinine übrig. Aber gerade dieses schien in befriedigender Weise die Thatsache der fehlenden Haufenbildung im aktiv oder passiv immunisierten Tiere erklären zu können. Es schien nur wünschenswert, das für Typhus Gefundene nun auch für andere Mikroorganismen zu bestätigen, in allererster Reihe für den Cholera vibrio, von dem ja die Agglutinationsuntersuchungen s. Z. ihren Ausgangspunkt genommen hatten.

Diese Bestätigung jedoch blieb aus: die Cholera vibriolen im Exsudate inficierter Meerschweinchen wurden gerade so gut von gewöhnlichem Choleraserum agglutiniert, wie wenn sie in Bouillon oder auf sonst einem künstlichen Nährboden gewachsen gewesen wären. Dies wurde zuerst bei einem sehr wenig virulenten Cholera stamme der Institutssammlung festgestellt, dann aber auch für die hochvirulente Königsberger Cholera, die Herr Professor Pfeiffer in dankenswertester Weise zur Verfügung gestellt hatte.

#### Versuch XLVI.

Meerschweinchen III, mit 2 Ösen Choleraagarkultur inticiert, stirbt nach ca. 15 Std. Liefert ein sehr vibriolen- und auch leukocytenreiches Exsudat, welches wegen seiner geringen Menge mit 10 cem physiologischer NaCl-Lösung ausgespült wird. Das Spülwasser wird mit den Verdünnungen 1:10, 25, 50, 75, 100, 250, 500, 1000, 2500 und 5000 eines auf gewöhnliche Weise gewonnenen Cholera-Immunserums zu hängenden Tropfen verarbeitet. Kontrolle mit Bouillonkultur.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. ist überall Agglutination eingetreten; es besteht kein bemerkenswerter Unterschied zwischen Exsudat und Bouillon.

Nach 1 Std. ebenso; eher sind die Häufchen im Exsudate schöner und gröfser als in der Bouillon. Mehrfach undeutliches Pfeiffersches Phänomen.

**Versuch XLVII.**

Mit physiologischer NaCl-Lösung aus der Bauchhöhle des mit  $\frac{1}{4}$  Agarkultur Cholera Pfeiffer infizierten Meerschweinchens V ausgespülte, in der üblichen Weise gewaschene und in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmte Vibriolen mit den Serumverdünnungen 1 : 100, 250, 500, 1000, 5000, 10000 und 15000 zu hängenden Tropfen verarbeitet. Kontrolle mit Bouillonvibriolen, die in gleicher Weise behandelt wurden.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind in allen Präparaten mit Exsudatvibriolen bis 1 : 1000 Serumverdünnung schöne große Haufen ausgebildet, von da an sind die Häufchen kleiner und reicher als vollständige Agglutination bis 1 : 10000. Im Gegensatz dazu sind die Bouillonvibriolen bis 1 : 15000 agglutiniert, wo im Exsudate die Serumwirkung schon aufhört, die Häufchen sind aber durchgehends nur sehr klein. Nach 1 und 2 Std. ungefähr das gleiche Bild.

**Versuch XLVIII.**

Die Aufschwemmung der gleichen Vibriolen wie im vorigen Versuche wird zu je 1 ccm in Röhrchen gefüllt und mit der gleichen Menge der Serumverdünnungen 1 : 10, 100, 500, 1000, 5000, 10000 und 15000 versetzt. 37°.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind in den Exsudatvibriolen mit Serum 1 : 10 und 100 größere Flocken sichtbar. Alle anderen Proben gleichmäßig trüb.

Nach 2 Std. haben die Serumverdünnungen bis 1 : 1000 sowohl in den Exsudat wie in den Bouillonvibriolen-Suspensionen agglutiniert. Die Verdünnungen 1 : 5000 und 10000 haben kleinste Flockchen, aber ohne Klärung der Flüssigkeit erzeugt.

Nach 12stünd. weiterer Aufbewahrung bei Zimmertemperatur sind alle Proben bis 1 : 5000 ausnahmslos agglutiniert; darüber hinaus hat das Serum in gleicher Weise für Exsudat wie für Bouillonvibriolen versagt.

Danach erschien es nutzlos, weitere Versuche mit Cholera anzustellen, da von einer Allgemeingültigkeit der für Typhus aufgefundenen, schweren Agglutinierbarkeit durch Immenserum offenbar keine Rede war. Die Verhältnisse, welche im Tierkörper das Versagen der Typhusimmenserumwirkung veranlaßten, waren bei Cholera einfach nicht ausgebildet. Es schien zweckmäßiger zu sein, erst diesen Verhältnissen nachzuspüren.

Einen Fingerzeig hierfür boten Beobachtungen der Exsudatbildung bei Typhus, wonach während der Infektion Agglutinine nachweisbar sind. Eine Wiederholung der Versuche an den Meerschweinchchen 75 und 76 ergab das gleiche Resultat. Es zeigten sich in den ersten Stunden nach der Typhusinfektion Agglutinationssymptome, indem ein Teil der aus der Peritonealhöhle entnommenen Bakterien zu ganz typischen Häufchen zusammentrat. Diese partielle Haufenbildung hörte nach einiger

Zeit auf und ungefähr gleichzeitig damit waren auch die jetzt kapillar entnommenen Bakterien inagglutinabel geworden, während sie vorher auf Serumzusatz reagiert hatten.

Dieses Verhalten führte auf die Vermutung, es könnte infolge des Aufenthaltes der Bakterien in einem Medium, dem in geringer Menge, aber fortwährend Agglutinine hinzugefügt werden, eine Gewöhnung an dieselben eingetreten sein, eine Art Immunisation der Typhusbakterien gegen Agglutinine. Analoga dafür würden die Gewöhnung von Bakterien an Alexine nach Trommsdorff sowie die Versuche Danysz' geliefert haben, nach denen eine Gewöhnung und damit eine Widerstandsfähigkeit von Milzbrandbacillen gegen die baktericiden Wirkungen des Rattenserums relativ leicht zu erzielen ist.

Normale Meerschweinchenexsudate bringen keine Agglutinationsresistenz hervor, wenn man Typhusbakterien in ihnen wachsen läßt.

#### Versuch XLIX.

Meerschweinchen 78 wird 24 Std. nach einer intraperitonealen Injektion von 5 ccm steriler Bouillon, der etwas Aleuronatbrei zugesetzt ist, durch Verbluten getötet. Die Bauchhöhle wird mit physiologischer NaCl-Lösung ausgespült, so daß sich 10 ccm einer dicht trüben Flüssigkeit gewinnen lassen. Die Trübung besteht aus massenhaft vorhandenen, zum größten Teil polynucleären, lebenden Leukocyten. Das leicht gerinnende Exsudat wird zerschüttelt, die eine Hälfte desselben wird centrifugiert, die klare Flüssigkeit wird abgesehen, der Zellsatz in 5 ccm physiologischer NaCl-Lösung aufgenommen. Alle drei so erhaltenen Flüssigkeiten: zellhaltiges Exsudat, zellfreies und Zellsuspension werden  $\frac{1}{2}$  Std. auf 60° erhitzt und dann nach Absetzen der Zellen auf der Centrifuge, aber ohne Abgießen der Flüssigkeit, mit Typhus geimpft. Am nächsten Tage sind die Röhren trübe, die gewachsenen Bakterien werden aber durch Serum g ebenso wie Bouillontyphus schon nach  $\frac{1}{4}$  Std. agglutiniert.

Vom selben Meerschweinchen wurden durch nochmaliges Ausspülen der Bauchhöhle ca. 10 ccm trüber leukocytenreicher Flüssigkeit gewonnen, aus der die Zellen durch Centrifugieren isoliert wurden. Der Satz wurde mit  $\frac{1}{2}$  ccm Serum g übergossen, ebenso eine gleiche Menge von Serum als Kontrolle aufgestellt und beide Proben 3 Std. bei 37° in mit Kautschukappen versehenen Eprouvetten aufbewahrt. Hierauf wurde mit 4,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung verdünnt, centrifugiert und nunmehr Verdünnungen von der klaren Flüssigkeit, welche Serum 1 : 10, 100, 250, 500, 750, 1000 enthält, mit Typhus aus dem Exsudate des Meerschweinchens 79



zu hängenden Tropfen verarbeitet. Die Leukocyten waren durch die Serumbehandlung alle tot, teilweise blasig degeneriert.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. nur bei der Verdünnung 1:10 unvollständige Agglutination. Nach 1 Std. vollständige Agglutination bei Serumverdünnung 1:10, sehr unvollständige bei 100, alle anderen Proben unbeeinflusst. Ein Unterschied in der Wirkung beider Sera besteht nicht.

Es kann somit durch Zusatz normaler Leukocyten zum Serum unter Bedingungen, welche eine, wenigstens teilweise Lösung derselben herbeiführen<sup>1)</sup>, eine Erhöhung der agglutinierenden Serumwirkung gegen Exsudatbakterien nicht erreicht werden.

Wurden Typhusbakterien in den Exsudaten typhusinfizierter Meerschweinchen gezüchtet, so waren die Resultate schwankend; es gelang aber in einigen Fällen mit Sicherheit, in derartigen Flüssigkeiten Kulturen heranzuzüchten, die eine gewisse Resistenz gegen Serumagglutinine aufwiesen.

#### Versuch I.

Die Bauchhöhle des der Infektion mit  $\frac{1}{4}$  Typhusagarkultur in weniger als 15 Std. erlegenen Meerschweinchens 80 wird nach und nach mit 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung ausgespült, worauf sich über 30 ccm einer trüben, sehr bakterienreichen, aber zellarmen Flüssigkeit erhalten lassen. Die Hälfte derselben wird durch Berkefeldt filtriert. Im ganzen werden vier verschieden behandelte Medien hergestellt und gleichzeitig mit Bouillon als Kontrolle mit Typhus geimpft:

1. Exsudat 1 Std. auf 60° erhitzt, dann centrifugiert und abgossen. Gibt eine trotz sorgfältigen Ausschleuderns opalisierende Flüssigkeit.
2. Exsudat centrifugiert, dann 1 Std. auf 60° erhitzt. Klare, gelbliche Flüssigkeit.
3. Exsudat durch Berkefeldt filtriert. Klare, schwach gelbliche Flüssigkeit.
4. Exsudat durch Berkefeldt filtriert, dann 1 Std. auf 60° erhitzt.
5. Bouillon.

Nach 24 stünd. Wachstum bei 37° sind alle Proben trüb und zeigen im hängenden Tropfen mit Serum g in den Verdünnungen 1:100, 500, 1000 nach 1 Std.:

Kultur in 1. bei 1:100 viele typische Haufen, daneben bewegliche Bakterien, bei 1:500 Präparat wimmelnd von beweglichen Bakterien, daneben wenige aber typische Haufen, bei 1:1000 fast alle Bakterien frei, wenige Haufen;

Kultur in 2 1:100 und 500 vollständige, 1:1000 ziemlich vollständige Agglutination;

1) Buchner, Archiv f. Hygiene. Van der Velde, Centralblatt f. Bakteriologie. Laschtschenko, Archiv f. Hygiene.

Kultur in 3. 1:100 sehr zahlreiche freie, z. T. bewegliche Bakterien neben Haufen,

1:500 wenige typische Haufen, etwas mehr lockere Aueinanderlagerungen, die Mehrzahl der Bakterien wimmelnd;

1:1000 wimmelnd, auch in den sehr spärlichen Haufen lebhaft Bewegung;

Kultur in 4. vollständige Agglutination bei 1:100 und 500; fast vollständige bei 1:1000;

Kultur in 5 überall Agglutination.

Der Befund spricht ganz deutlich dafür, daß unter Umständen der die Agglutinationsresistenz bedingende Faktor im Exsudate typhusinfizierter Meerschweinchen auch nach deren Tode außerhalb des Tierkörpers zur Wirkung kommen kann. Doch lassen sich sichere Schlüsse daraus nicht ziehen, weil der in Versuch L verzeichnete Erfolg nur in einem Bruchteile der Fälle eintrat; ebenso kam es nur selten vor, daß im Exsudat bereits gestorbener Meerschweinchen eine Spur agglutinativer Wirkung auf gewöhnlichem Kulturtyphus sich zeigte.

Viel bessere Resultate, die schließlichs zur Aufklärung des eigenartigen Phänomens der Agglutinationsresistenz führten, ergab die Züchtung von Typhus in agglutininhaltiger Bouillon. Die Herstellung derselben geschah in der Weise, daß kleine Quantitäten von Immunserum zu je 5 ccm Bouillon zugesetzt wurden, worauf das Gemisch 1 Stunde auf 60° erwärmt wurde. Letzteres geschah einerseits, um etwaige baktericide und lytische Wirkungen zu beseitigen und andererseits, um vor Verunreinigungen geschützt zu sein.

Es gelang für Typhus sehr leicht, für Cholera nur sehr schwer<sup>1)</sup>, eine »Gewölmung« an die Agglutinine herbeizuführen, in der Art, daß Wachstum nicht mehr ausschließlich in wand- und bodenständigen Flocken, sondern nebenher auch trübend erfolgte. Schon eine Züchtung durch wenige Generationen führte dieses Resultat herbei.

#### Versuch LI

(abgekürzt wiedergegeben; es waren stets eine Anzahl Bouillonon mit verschiedenem Gehalt an agglutinierendem Serum hergestellt worden, die dann weiter verimpft wurden. Nur das Wachstum einer solchen Serie wird hier mitgeteilt.)

1) Siehe Citat auf S. 313.

1. Tag. Bouillon mit 0,002 cem Serum g (I) und serumfreie Bouillon (II) mit Typhus geimpft. 37°.

2. Tag. II Typisches trübes Wachstum. I Wenig trüb mit kleinflockigem Bodensatz. Geimpft Bouillon mit 0,002 cem Serum aus I, (Ia) und II, (Ib), Bouillon aus II, (IIa).

3. Tag. Wie früher. Geimpft Bouillon mit 0,002 cem Serum Ib aus Ia und Bouillon II b aus II a.

4. Tag. Ib trüb, ohne wesentlichen Unterschied gegen II b.

Geimpft Bouillon mit 0,01 cem Serum aus Ib (Ic) und II b (Id). Bouillon mit II b (IIc).

5. Tag. Ic ist leicht trüb mit Wand- und Bodenfloeken. Id ist fast klar, mit flockigem Satze.

Geimpft Bouillon mit 0,02 cem Serum aus Ic (Ie) und II c (If), Bouillon mit II e (IId).

6. Tag. Ie ist leicht aber deutlich trüb, ziemlich starker, aus kleinen Floeken bestehender Satz. If ist klar mit starkem, festflockigem Satze.

Geimpft Bouillon mit 0,02 cem Serum aus Ie (Ig) und IId (Ih). Bouillon mit IId (IIe).

7. Tag. Ig leicht trüb, mit leicht zerfallenden Wandfloeken und festflockigem Satze, Ih ist fast klar mit flockigem Satze.

Es hat wenig Zweck, weitere Versuche anzuführen, deren Resultat, die »Gewöhnung«, ein deutliches, aber im ganzen, auch nach langer Züchtung in agglutininhaltigen Medien, ein ziemlich mäßiges war. Der eigentliche Wert dieser Versuche liegt auch gar nicht in der mehr oder minder deutlichen Trübung, welche die Bouillon trotz uoch vorhandener agglutinierender Wirkung aufweist, sondern in folgendem Verhalten: entfernt man auf geeignete Weise die gebildeten, agglutinierten Floeken und untersucht die frei gebliebenen Typhusbakterien, so findet man diese resistent gegen die Agglutinine.

Für derartige Untersuchungen ist die Anwendung der makroskopischen Beobachtungsmethode unerläßlich. Die Entfernung der Floeken ist durch Filtration mittels guten Filterpapiers ziemlich leicht, aber kleine Häufchen gehen doch durch und stören die Beobachtung im hängenden Tropfen ungemein. Ferner sind die filtrierte Flüssigkeiten in der Regel recht bakterienarm geworden, so dafs es notwendig wird, die geringe Zahl der vorhandenen Mikroorganismen durch Ausschleudern in einer kleinen Flüssigkeitsmenge zu konzentrieren. Auch damit sind Aneinanderlagerungen verbunden, die zwar bei gehöriger Vorsicht das Unter-

suchungsergebnis nicht zweifelhaft machen können, wie es die Versuche mit dem Waschen der Exsudatbakterien beweisen, immerhin aber zeitraubende Herstellungen und Beobachtungen von Kontrollpräparaten bedingen. Bei der makroskopischen Besichtigung sind solche unvermeidliche, kleine Aneinanderlagerungen von Bakterien einfluß- und bedeutungslos. Die unbezweifelte Überlegenheit der Feinheit der Beobachtung im hängenden Tropfen spielte bei Versuchen, in denen, wie sofort zu erwähnen sein wird, ausschließlich starke Sera zur Anwendung kamen, keine Rolle mehr.

#### Versuch LII.

(Versuchsergebnis nur für die Kulturen angegeben, deren Herstellung und Wachstum im vorigen Versuche beschrieben wurde.) Die Kulturen I b und II b werden filtriert, die Filtrate centrifugiert. Vom Bodensatz wird so vollständig wie möglich abgossen und derselbe in wenig physiologischer NaCl-Lösung verteilt. Je 10 Tropfen der betreffenden Aufschwemmungen werden mit ebensoviel Serum 1:100, 500, 1000 versetzt. 37°.

Schon nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind die Bakterien von II b in Serum 1:100 und 500 grobflockig geworden, nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind alle Proben von II b vollständig agglutiniert und abgesetzt. Die Röhrchen mit den Bakterien von I b sind gleichmäßig trüb bis 3 Std. nach dem Einsetzen in den Brutschrank. Dann beginnt Agglutination, die nach 7 Std. beendet ist.

#### Versuch LIII.

In gleicher Weise wie der vorige mit den Proben I g, I h und II e angestellt. Serumverdünnungen 1:100, 500 und 750. 37°.

Die Bakterien aus II e sind schon nach  $\frac{1}{4}$  Std. in vollster Flockenbildung und nach 1 Std. gänzlich abgesetzt, die aus I g und I h fangen bei Serum 1:100 erst nach 2 Std. an, sich zusammenzuballen und bleiben sonst trübend.

Die von I g und I h abgessene agglutininhaltige Bouillon agglutiniert frische Bouillonkulturen im hängenden Tropfen binnen  $\frac{1}{4}$  Std. vollständig.

Das Ergebnis dieser Versuche ist von außerordentlicher Wichtigkeit: es zeigt, daß der Faktor, welcher die Agglutinationsresistenz bedingt, auch außerhalb des Tierkörpers, im agglutinierenden Immuserum vorhanden ist und hier unter Umständen in Wirksamkeit treten kann.

Daß es sich dabei lediglich um eine »Gewöhnung« der Bakterien an die Serumagglutinine handeln könne, wird durch den als LIII angeführten Versuch im höchsten Grade unwahrscheinlich; denn die Unwirksamkeit des Serums tritt bei den

Typhusbakterien, die vorher mehrere Generationen in agglutininhaltiger Bouillon erzeugt hatten, gerade so gut hervor wie bei denen, welche ebenso lange vorher in gewöhnlicher Bouillon gelebt hatten. Der Aufenthalt in einem auf 60° erhitzten, verdünnten Immunserum scheint nach Maßgabe der Versuche LII und LIII das Wesentliche zu sein. Da aber in den Bouillonen, welche zur Erzeugung der für diese Versuche benutzten Bakterien gedient hatten. Haufenbildung eingetreten war, und da noch, wie die Wirksamkeit derselben nach Entfernung der Bakterien beweist, aktive Agglutinine vorhanden waren, so muß der fragliche, die Agglutinationsresistenz bedingende Faktor neben den Agglutininen selbst im erhitzten Serum vorhanden gewesen sein. Die Verhältnisse würden demnach so liegen, daß ein auf 60° erwärmtes Serum wirksame Agglutinine enthält, welche Haufenbildung veranlassen und daneben einen Faktor, welcher Agglutinationsresistenz verleiht, so daß in einer für Typhusbakterien noch wirksamen Serumverdünnung eine Anzahl solcher vorhanden sind, welche weder durch diese Verdünnung noch durch ein anderes Immunserum agglutiniert werden können.

#### Versuch LIV.

1 ccm Serumverdünnung g wird 1 Std. auf 60° erhitzt, hierauf mit 5 ccm einer Aufschwemmung von einmal gewaschenen Typhusbakterien (aus Agarkultur) versetzt und 3 Std. bei 37° belassen. Nach dieser Zeit haben sich reichlich Flocken abgesetzt, aber die überstehende Flüssigkeit ist noch trüb. Sie wird vorsichtig durch ein steriles Papierfilter abgesehen, und das Filtrat, wie ein nicht mit Serum versetzt gewesener, in gleicher Weise behandelter und entsprechend verdünnter Teil der Aufschwemmung centrifugiert. Die Bodensätze werden in wenig physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt und je 10 Tropfen der Suspensionen mit ebensoviel Serum verdünnungen g 1:500 und 750 versetzt.

In den Kontrollproben ist nach  $\frac{1}{2}$  Std. bei 37° alles dicht von groben Flocken erfüllt, nach 1 Std. sind die Flüssigkeiten unter Absetzen geklärt; die Versuchsproben sind bei 2 stünd. Aufenthalt in 37° und weiteren 16 Std. bei niedriger Zimmertemperatur gleichmäßig trüb.

#### Versuch LV.

Zum Versuche dient ein sehr wenig wirksames Kaninchenserum n, welches nur bis 1:200 sicher agglutiniert. Je 1 ccm der Verdünnung 1:10 wird 1. als solches, 2. nach 1 stünd. Erhitzung auf 60°, 3. nach ebensolanger Erwärmung auf 75° mit 1 ccm Aufschwemmungen von Typhusagarkulturen versetzt. Nach 2 stünd. Aufenthalt bei 37° ist in 1. Agglutination in groben

Flocken vorhanden, bei ziemlicher Klärung, in 2. sind Flocken in gleichmäßiger trüber Flüssigkeit eben sichtbar, 3. ist trüb. Es werden neuerdings je 0,5 cem Aufschwemmung zugesetzt. Nach  $\frac{1}{4}$  Std. ist 1. wie vorher unter Flockenbildung etwas geklärt, 2. ist dicht trüb, doch erkennt man eben noch Flocken, 3. ist gleichmäßig trüb. Neuerlicher Zusatz von 1 cem Aufschwemmung, worauf alle Proben trüb bleiben. Die Flüssigkeiten werden durch Papier filtriert, dabei zeigt sich, daß das Filtrat von 1. nur wenig, von 2. viel stärker, von 3. stark trüb ist. Die Proben werden centrifugiert, die Sätze in wenig physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und sodann je 5 Tropfen der Aufschwemmungen in engen Röhrchen versetzt mit:

- |    |   |          |
|----|---|----------|
| 1. | 5 Tropfen Bakterien aus 1. mit 5 Tropfen Serum n            | 1 : 50   |
| 2. | 5 „ „ „ 1. „ 5 „ „ „  | 1 : 100  |
| 3. | 5 „ „ „ 2. „ 5 „ „ „  | 1 : 50   |
| 4. | 5 „ „ „ 2. „ 5 „ „ „  | 1 : 100  |
| 5. | 5 „ „ „ 3. „ 5 „ „ „  | 1 : 50   |
| 6. | 5 „ „ „ 3. „ 5 „ „ „  | 1 : 100  |
| 7. | 5 „ Bakteriensuspension ohne Serum mit<br>5 Tropfen Serum n | 1 : 50   |
| 8. | 5 „ Bakteriensuspension ohne Serum mit<br>5 Tropfen Serum n | 1 : 100. |

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. bei  $37^{\circ}$  ist die Agglutination in 7. und 8. weit vorgeschritten, nach  $\frac{3}{4}$  Std. beendet. Erst nach  $1\frac{1}{2}$  Std. beginnt Flockenbildung in 1., 3. und 5., nach 2 Std. sind hier Flocken sichtbar, die sich absetzen, aber die Flüssigkeit bleibt auch nach 3 Std. noch trüb. In den übrigen Proben trat keine Veränderung ein.

#### Versuch LVI.

Typhusimmenserum von einem Hunde, bis 1:250 agglutinierend, wird in drei Eprouvetten zu je 1 cem 1. als solches, 2. nach 1stünd. Erhitzung auf  $60^{\circ}$ , 3. nach 1stünd. Erhitzung auf  $75^{\circ}$  mit lebenden, gewaschenen Typhusbakterien von Agarkulturen versetzt. Der erste Zusatz von 1 cem Aufschwemmung ist bei  $37^{\circ}$  in 1. binnen  $\frac{1}{2}$  Std. so vollständig agglutiniert, daß die obenstehende Flüssigkeit klar erscheint, in 2. flockig abgesetzt, aber bei Freibleiben der oberen Schichten; 3. bleibt trüb. Nun wurde stets zu allen drei Proben gleichviel Bakteriensuspension zugesetzt, bis auch in 1. die Flüssigkeit leicht diffus trüb blieb. Es wiederholte sich immer der Befund, daß das auf  $60^{\circ}$  erhitze Serum nur Flocken erzeugen, die Flüssigkeit aber nicht klären konnte.

Nachdem im ganzen 1,95 cem Bakterienaufschwemmung zugesetzt worden waren, wurden die Proben durch Papier filtriert, wobei 1. relativ wenig, 2. stärker, 3. dicht trüb durchs Filter ging. Hierauf wurde centrifugiert und die Sätze in wenig physiologischer NaCl-Lösung suspendiert. Darnach wurden in engen Eprouvetten gemischt:

- |    |  |         |
|----|--|---------|
| 1. | 5 Tropfen d. Bakteriensusp. aus unerhitzt. Serum + 5 Tropfen Serum | 1 : 10  |
| 2. | 5 „ „ „ „ „ „ + 5 „ „ „  | 1 : 100 |
| 3. | 5 „ „ „ „ „ „ + 5 „ „ „  | 1 : 10  |
| 4. | 5 „ „ „ „ „ „ + 5 „ „ „  | 1 : 100 |

5.	5 Tropfen d. Bakteriensusp. aus 1h 75° erhitzt.	Ser	+ 5 Tropfen Serum	1 : 10
6.	5	,	+ 5	1 : 100
7.	5	Suspension normaler Typhusbakterien	+ 5	1 : 10
8.	5	,	+ 5	1 : 100

Nach 1/2 Std. war 7. abgesetzt und geklärt, 8. mit groben Flocken dicht erfüllt.

Nach 3/4 Std. war die Agglutination der Kontrollproben beendet.

Nach 1 Std. war in Nr. 5 eine Spur Haufenbildung wahrzunehmen, nach 3/4 Std. bestand deutliche Haufenbildung in 1., 3. und 5., die nach 1/4 Std. zur Klärung führte.

2., 4., 6 waren nach 2 Std. unverändert. Erst nach 4 Std. war Flockenbildung in 2. und 4. zu bemerken, wobei aber die Flüssigkeit trüb blieb.

Aus den mitgeteilten Versuchen geht ganz übereinstimmend hervor, daß ein genügend langer Aufenthalt von Bakterien in einem Immuserum, vorausgesetzt, daß sie nicht selbst agglutiniert werden, Agglutinationsresistenz erzeugt. Solche inagglutinable Bakterien kann man erhalten, entweder indem man z. B. Typhusagarkultur in sehr geringem Überschuß über die Agglutinationskraft hinaus dem unveränderten Serum zusetzt, oder indem man sie in Serum suspendiert, dessen Agglutinine durch Erhitzen auf 60° etwas geschädigt oder durch Erwärmen auf 75° anscheinend vernichtet worden sind. Auf eine Schädigung der Agglutinine bei 60° muß man aus dem Umstande schließen, daß zur Sättigung eines derart behandelten Serums weit weniger Bakterienmaterial erforderlich ist als zu der eines unveränderten, wie dies namentlich aus Versuch LVI, entgegen den Angaben der Autoren, mit Sicherheit hervorgeht.

Schon zu Anfang der Versuche wurden auf diese Weise mitunter Bakterien so unempfindlich gemacht, daß sie so gut wie gar nicht mehr mit Immuserum reagierten.

#### Versuch LVII.

Je 1 ccm Serumverdünnung cII 1 : 250 wird 1. 1 Std. auf 60°, 2. 1 Std. auf 75° erwärmt. Danach werden je 1 ccm Suspension, entsprechend einer Typhusagarkultur zugesetzt und die Proben 6 Std. bei 37° belassen. Nach dieser Zeit war in dem auf 60° erhitzten Serum teilweise, in den anderen keine Agglutination eingetreten. Die Proben wurden filtriert, die Filtrate zentrifugiert, die Bodensätze gewaschen und schließlich in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Es wurden dann in engen Eproutvetten gemischt:

1.	5 Tr	Suspens. d. Bakt. aus d. auf 60° erwärmten Serum	+ 5 Tr	Ser	cII 1 : 250
2.	5	,	+ 5	,	1 : 500

3.	5 Tr. Suspens. d. Bakt. aus d. auf 75° erwärmten Serum	+ 5 Tr. Ser. cII	1 : 250
4.	5 „ „ „ „ „ 75°	+ 5 „ „ „	1 : 500
5.	5 „ „ „ normaler Typhusbakterien	+ 5 „ „ „	1 : 250
6.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 500

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. war die Agglutination in 5. fast beendet, in 6. weit vorgeschritten.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. waren die Proben 5 und 6 klar abgesetzt; alle anderen Proben blieben bei der 2stünd. Beobachtungsdauer bei 37° gleichmäßig trüb.

#### Versuch LVIII.

Je 1 ccm Serum g 1 : 10 verdünnt, wird 1. als solches, 2. nach 1stünd. Erhitzung auf 75° mit je 2 ccm Aufschwemmung von Typhusagarkulturen versetzt. Bleibt 2 Std. in 37°, wonach in 2. keine, in 1. starke Agglutination, aber mit leichter Trübung der überstehenden Flüssigkeit eingetreten ist. Wird in der in den früheren Versuchen angegebenen Weise filtriert, centrifugiert etc.

Es werden schliesslich hergestellt:

1.	5 Tr. Suspension v. Bakt. aus unverändertem Serum	+ 5 Tr. Serum g	1 : 10
2.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 500
3.	5 „ „ „ „ „ auf 75° erhitzt.	+ 5 „ „ „	1 : 10
4.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 500
5.	5 „ „ „ normaler Bakterien	+ 5 „ „ „	1 : 10
6.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 500

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. sind die Kontrollproben vollständig agglutiniert; die Versuchsproben bleiben während der 2stünd. Beobachtungsdauer bei 37° gleichmäßig trüb.

Von erheblichem Interesse und später näher zu besprechen sind Versuche wie der folgende.

#### Versuch LIX.

Je 1 ccm der Verdünnungen 1 : 10 des Serums g (durch Behandlung von Kaninchen mit Kulturtyphus erhalten) und h (durch Immunisation mit Exsudatypus hergestellt) werden 1 Std. auf 75° erhitzt und dann mit 2 ccm Typhusagarkultur-Aufschwemmungen versetzt, und ohne dass Agglutination eingetreten wäre, 3 Std. bei 37° belassen. Danach werden in der oft beschriebenen Weise Bakteriensuspensionen hergestellt, die mit agglutinierendem Serum versetzt werden:

1.	5 Tropfen Suspension d. Bakt. aus erhitzt. Serum g	+ 5 Tr. Serum g	1 : 10
2.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 100
3.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	h 1 : 10
4.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 100
5.	5 „ „ „ „ „ „	h + 5 „ „ „	1 : 10
6.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 100
7.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	g 1 : 10
8.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „ „	1 : 100



9.	5 Tropfen Suspension normaler Bakterien	+ 5 Tropfen Serum	g 1 : 10
10.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „	h 1 : 100
11.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „	h 1 : 10
12.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „	h 1 : 100

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. (immer 37°) ist 9. und 11. beendet, in 10. und 12. weit vorgeschrittene Haufenbildung. Sonst 0.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. 9., 10., 11., 12. beendet, sonst 0.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. 9.—12. beendet, 3. deutlicher, 5. zweifelhafter Beginn der Agglutination, sonst 0.

Nach 1 Std. 1., 2. 0, 3. weit vorgeschrittene Haufenbildung, 4 unentlicher Beginn derselben, 5. schwache Agglutination, 6., 7. 8. 0.

Nach  $1\frac{1}{4}$  Std. 1., 2. 0, 3. fast beendete, 4. sehr deutliche Agglutination, 5. Flocken in trüber Flüssigkeit, 6. Spur von Flockenbildung?, 7., 8. 0.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Std. 1., 2. 0, 3., 4., 5. und in geringem Grade 6. Flockenbildung mit mehr oder weniger vollständigem Absetzen der Haufen, aber trüber, überstehender Flüssigkeit, 7. und 8. 0.

Nach 2 St. Unverändert

Bei diesem Versuche ist besonders die Wirkung des Serums h zu beachten; genau so wie dieses, durch Immunisation von Kaninchen mit Exsudatbakterien gewonnene, die Typhusbakterien aus dem Tierkörper leichter zur Haufenbildung veranlassen konnte, so vermag es auch künstlich resistent gemachte Kulturbakterien besser zu agglutinieren wie ein gewöhnliches Immunsrum. Das ist ein sehr deutlicher Hinweis darauf, daß die Agglutinationsresistenz nicht durch eine Vielheit von Ursachen bedingt wird, sondern durch eine einzige, die im Tierkörper in gleicher Weise wirksam ist wie in einem etwa auf 75° erhitzten Serum. Es bedarf nun einer genaueren Analyse, ob die bisherigen Erklärungsweisen des Agglutinationsphänomens irgendwie ein Verständnis dieser Erscheinungen ermöglichen. Die älteste, die Grubersche Anschauung nimmt bekanntlich ein Verquellen und Klebrigwerden der Bakterienhülle als Ursache der Haufenbildung an. Man könnte sich, abgesehen von den bereits erwähnten, gegen diese Auffassung geltend gemachten Bedenken, ganz gut vorstellen, daß sich einmal Typhusbakterien finden, welche eine nicht quellbare Membran besitzen und infolgedessen ungeeignet zur Aneinanderlagerung sind.

Es bestände demnach der Grund der Agglutinationsresistenz in einer Veränderung der Konstitution der Bakterienmembran, etwa im Sinne der Nicolleschen Anschauung, daß weniger

agglutinable Substanz innerhalb der äußeren Schichten der Bakterienzelle abgelagert wäre. Etwas Derartiges könnte in einer Änderung der Arteigenschaften seinen Grund haben: durch irgend welche Veranlassungen gezwungen, wandelt sich der bisher agglutininempfindliche Typhus in einen resistenten um. Im Sinne der bereits mitgeteilten Gewöhnungsversuche würde etwa bei der Störung der normalen Lebensvorgänge, wie eine solche die Agglutination doch sicher bedeutet, dasjenige Individuum, welches von vornherein etwas resistenter ist, sich besser in einer agglutininhaltigen Bouillon vermehren und hätte schließlic Aussicht, durch eine Art natürlicher Zuchtwahl eine neue, agglutininunempfindliche Rasse zu bilden. Der unter der Zahl LI mitgeteilte Gewöhnungsversuch widerspricht einer solchen Annahme nicht. Vielleicht wäre es bei entsprechender genügend langer Züchtung wirklich gelungen, einen inagglutinablen Stamm aus den wenigen ursprünglich in die Bouillon eingeimpften Keimen zu erlangen. Die Thatsache, dafs schließlic bei relativ hohem Agglutiningehalt ein gewisses trübendes Wachstum konstatiert wurde, liefse sich als scheinbarer Beweis anführen; es wäre auch wirklich möglich, dafs unter den durch das Papierfilter gegangenen Bakterien sich schon Angehörige der neu entstehenden inagglutinablen Rasse befunden hätten: die Mehrzahl war es aber sicher nicht; denn sonst hätte die unmittelbar aus einer längeren Zeit agglutininfrei gezüchteten Kultur in die gleich stark agglutinierende Bouillon vorgenommene Überimpfung nicht ebenfalls agglutinationsresistente Bakterien liefern dürfen.

Für die Verhältnisse im Tierkörper trifft diese Ausnahme erst recht nicht zu. Denn hier werden agglutinierbare Bakterien injiziert und ebensolche erhält man sofort wieder, wenn man etwas von dem gebildeten Exsudate in Bouillon oder auf Agar überträgt.

An eine plötzlich entstandene neue Rasse, eine Art Bakterienmutation, läßt sich natürlich aus dem gleichen Grunde nicht denken.

Es wäre weiterhin im Sinne der Gruberschen Anschauung noch möglich, daran zu denken, dafs die quellbare

Membran, welche die Haufenbildung durch ihr Klebrigwerden veranlaßt, etwas für das Typhusbakterium ganz Nebensächliches sei, das zwar regelmäßig ausgebildet wird, aber ohne wesentlichen Schaden für das Leben auch wegbleiben könnte, etwa so wie große Kapseln bei gewissen Bakterien nur auf bestimmten Substraten entstehen, bei Überimpfung auf andere Nährböden aber kleiner werden oder ganz wegbleiben können, ohne Wachstum und Fortpflanzung sichtbar zu beeinträchtigen. Soweit sich die Litteratur überblicken läßt, gibt es zwar kein Beispiel für einen Nährboden, auf dem der Typhus agglutinationsresistent wüchse, aber mehr minder naheliegende Analogien ließen sich finden, etwa in dem verzögerten Auftreten der Fluorescenz beim Wachstum des *Pyocyanus* im Serum u. dergl. Dann wäre es leicht erklärlich, warum Rückversetzung in ein normales Nährsubstrat das Wiederauftreten der Agglutination zur Folge hat. Dem widerspricht aber wieder der Gewöhnungsversuch, welcher zeigt, daß agglutinierbare und resistente Bakterien in der gleichen serunhaltigen Bouillon nebeneinander zur Entwicklung kommen.

Somit läßt die Grubersche Hypothese eine Deutung der berichteten Versuche nicht zu und das Gleiche gilt, meist aus denselben Gründen, für die Ansichten von Dineur und Nicolle.

Nicht minderen Schwierigkeiten begegnet man, wenn man die Thatsache der Agglutinationsresistenz der Paltauf-Krauschen Erklärungsweise anpassen will, immer abgesehen von den sonst gegen diese Hypothese sprechenden Erfahrungen.

Warum in einer agglutininhaltigen Flüssigkeit eine Anzahl Bakterien durch die gebildeten Niederschläge agglutiniert werden und andere nicht, obwohl von einer Erschöpfung keine Rede sein kann, ist ebensowenig einzusehen, wie die Erscheinung zu erklären ist, daß bei der Niederschlagsbildung überhaupt Bakterien unbehelligt bleiben können. Nach der Paltauf-Krauschen Theorie in ihrer gegenwärtigen Form kann es agglutinationsresistente Bakterien überhaupt nicht geben, so lange noch wirksames Serum zugegen ist; die Änderung der Arteeigenschaft oder der Wachstumsverhältnisse, die bei der Gruberschen

Lehre unter Umständen hätte erklärend wirken können, würde für die Zusammenballung durch Niederschläge völlig irrelevant sein. Deshalb kann man auch nicht annehmen, daß erst eine gewisse Stärke der Niederschlagsbildung gefordert werden müsse, ehe Agglutination eintritt, und daß diese Stärke für die Exsudatbakterien durch die Verdünnungen eines gewöhnlichen Immunserrums nicht zu erzielen sei. Auf den ersten Blick schiene dafür allerdings die Erscheinung zu sprechen, daß die oft erwähnten Sera d und h, welche auch Exsudatbakterien noch agglutinierten, gleichzeitig stärker fällende Eigenschaften besaßen. Warum sie aber dann ungefähr die gleiche agglutinierende Kraft für Typhusbouillon besaßen wie Sera, welche für Exsudatbakterien relativ unwirksam waren, bliebe unerklärt.

Was die Bordetsche Auffassung des Agglutinationsphänomens betrifft, so wurde bereits in der historischen Einleitung die Einteilung der Bakterien in zwei Phasen als ein sehr wesentlicher Fortschritt bezeichnet. Zu bedauern ist nur, daß die Bordetsche Theorie in sehr wesentlichen Punkten ganz unbestimmt sich äußert. Der erste Teil der Reaktion besitzt nach Bordet einen rein »biologischen« Charakter. Dafür spreche namentlich die spezifische Natur der Serumwirkung, die zunächst in dem Unbeweglichwerden der Mikroorganismen ihren Ausdruck fände. Ist dieser erste Teil vorüber, so verhalten sich die Bakterien wie beliebige sonstige, feinverteilte Partikelchen, welche auf Zusatz gewisser Stoffe infolge geänderter Molekularattraktion zu Haufen zusammenfließen.

Die Art und Weise, wie Bordet sich den Verlauf der ersten Phase, deren Sichtbarwerden durch die spezifische Beweglichkeitsstörung angedeutet ist, vorstellt, ist aus seinen Angaben nirgends zu ersehen; denn daß die Aufhebung der Motilität der Faktor sein sollte, der an sich schon das Eintreten eines die Molekularattraktion der Bakterien mit der umgebenden Flüssigkeit ändernden Einflusses ermöglicht, geht aus Bordets Angaben nicht hervor und wäre ja auch nicht wahrscheinlich, da sonst die nicht spezifische Agglutination durch chemische Stoffe viel weiter verbreitet sein müßte, als sie es ohnehin ist (Blachstein,

Malvoz u. a.) und fast von jedem Desinfektionsmittel bewirkt werden könnte.

Aus der ganzen Darstellungsweise Bordets scheint aber hervorzugehen, daß er sich seine erste Agglutinationsphase, die »période de l'impression«, ähnlich vorstellt wie die Sensibilisierung einer Bakterienzelle durch den spezifischen Bestandteil eines bakteriolytischen Serums, die sich Bordet als mehr physikalischen Vorgang deutet, während bekanntlich Ehrlich eine mehr chemische Bindung anzunehmen geneigt ist.

Ist diese Auffassung der Bordetschen Lehre richtig, so würde ein in der ersten Agglutinationsphase befindlicher Mikroorganismus sich, die Beweglichkeitsstörung etwa abgerechnet, ebenso verhalten wie ein spezifisch für die Wirkung der Alexine sensibilisierter, der seinerseits von einem normalen nicht zu unterscheiden ist, so lange er nicht mit frischem, normalem Serum in Berührung tritt. Man könnte in der That annehmen, daß ein Typhusbakterium in einem Meerschweinchenexsudate sich in dieser ersten Phase befände. Es sieht normal aus, vermag sich zu vermehren, und wenn Bordet eine Bewegungsstörung mit als charakteristisches Kennzeichen der Impressionszeit auffaßt, so hat man an den tierischen Exsudatbakterien wie an solchen, die im erhitzten Serum verweilt hatten, oft genug Gelegenheit, eine mehr oder weniger weitgehende Immobilisation oder Bewegungsbeeinträchtigung während einiger Zeit zu beobachten. Ein derartiger Mikroorganismus müßte nun auf Zusatz des entsprechenden Serums sofort agglutiniert werden. Denn ein solches Serum muß nach der ganzen Darlegung Bordets zwei Substanzen enthalten, deren eine die Impressionsperiode, deren zweite die Periode der gestörten Molekularattraktion hervorbringt. Leider sagt Bordet von dieser zweiten Phase auch nichts Näheres, namentlich ob er sich die dieselbe veranlassenden Einflüsse als spezifisch denkt oder nicht, wird nirgends erwähnt. Sein aus Duclaux' Theorien entlehntes Beispiel vermag da keinen Aufschluß zu geben. Besteht beispielsweise das Wesen der Labgerinnung der Milch wirklich, wie Duclaux annimmt, in einer Zusammenballung der nur scheinbar

gelöst, in Wirklichkeit nur sehr fein verteilten Kaseinteilchen, die auf Labzusatz durch Haufenbildung sichtbar werden, so fragt es sich, ob hier ein einheitlicher Vorgang vorliegt oder nicht ebenfalls eine Zerteilung: ob nicht die Spezifität des Labenzymns darin zu suchen ist, daß es feinverteiltes Kasein und nur dieses in eine »période de l'impression« versetzt, vermöge deren nun die Molekularattraktion zwischen Kasein und Milchflüssigkeit jetzt schon durch den geringsten Eingriff, z. B. schon durch das Lösungsmittel des Labpulvers, das mit zugesetzt wurde, geändert werden kann. In einem solchen Falle würde die Agglutination von Typhusbakterien und die Labgerinnung der Milch dem Wesen nach identisch sein.

Ist aber nach Duclaux' Theorie die Labwirkung ein einheitlicher Vorgang, der einfach in einer spezifischen Änderung der Molekularattraktion besteht, so ist nicht recht einzusehen, warum die erste Phase notwendig sein soll. Dann ist ebenfalls Agglutination und Labwirkung im Wesen gleichzusetzen.

Der Lähmung der Beweglichkeit kann ein weitgehender Einfluß nicht zukommen, da unbewegliche Bakterien durch zugehörige Sera oder infolge Erhitzung auf 60° oder durch Formalin u. dgl. unbeweglich gemachte Typhusbakterien durch Typhuserum nicht anders zu Haufen vereinigt werden wie lebende.

Ob man heute das Recht besitzt, mit den bisherigen Erfahrungen eine spezifisch erfolgende Änderung der Molekularattraktion anzunehmen, ist eine Frage, deren Erörterung nicht hierher gehört. Jedenfalls zeigt eine genauere Analyse der Ansichten Bordets, daß sie einfach eine absolute Identifizierung des Wesens der Agglutination und dem der Gerinnung im Sinne der Duclauxschen Theorie darstellt. Die Arbeit Bordets enthält aber noch ein überaus interessantes Experiment, dessen Gelingen Bordet als wesentliche Stütze seiner Ansichten heranziehen möchte. Wenn Tieren eine Zeitlang Milch injiziert wird, so liefern sie schließlich ein Serum, welches imstande ist, das Kasein der Milch auszufällen. Es ist kaum anzunehmen, daß dieser schöne Versuch überhaupt in den Kreis der eigentlichen Agglutinationsversuche hineingehört. Hier handelt es sich offen-

bar, wie bereits erwähnt, um denselben Vorgang, der das Auftreten von sichtbaren Niederschlägen bei Zusatz des Serums eines gegen Eiweiß immunisierten Tieres in Eiweißlösungen, oder eines gegen Menschenblut immunisierten in Menschenblut, oder eines mit Typhus immunisierten in Typhusbouillonfiltraten erzeugt. Wo dies aber möglich ist, läßt sich nachweisen, daß diese fällenden Eigenschaften ganz unabhängig sind von den agglutinierenden; das gilt für die Agglutination von Typhusbakterien gerade so gut wie für die von Coli oder Blutkörperchen.

Ist das Wesen des Agglutinationsvorganges wirklich auf eine Änderung der Attraktionsverhältnisse zwischen Bakterien untereinander und Bakterien und umgebenden Flüssigkeitsteilchen zu beziehen, so ergibt sich die Annahme einer ungeheuer wirksamen Substanz, für die eben nur die Immunitätslehre Analoga liefern kann. Wenn eine Thonemulsion in Wasser durch Kochsalzzusatz zur Klärung und Haufenbildung veranlaßt werden kann, so ist dies schließlich nicht allzu auffallend. Wenn aber reine, gewaschene Bakterien in physiologischer Kochsalzlösung durch eine mit derselben Lösung bereitete Serumverdünnung von 1:40000 oder 1:500000 (wie ein Grubersches Serum) noch eine so weitgehende Störung der molekularen Anziehungen herbeiführt, so kann man sich von der Wirksamkeit der veranlassenden Substanz kaum mehr einen Begriff machen. Auffallend ist aber auch noch eine andere Erscheinung: die Substanz, welche die Änderung der molekularen Attraktion herbeiführt, verschwindet, wird verbraucht; das thut das Kochsalz nicht, welches die Haufenbildung der Thonteilchen hervorbringt. Es müßte überhaupt noch näher untersucht werden, ob die anscheinende Analogie zwischen der Klärung der Thonemulsion und einer Bakterienschwemmung wirklich eine vollkommene ist.

Daß die Anwesenheit von Salz zur Ausbildung der Agglutinationsreaktion unbedingt notwendig ist, wie Bordet zuerst gesagt und später andere bestätigt haben, deutet nur darauf hin, daß die Agglutininwirkung eben gewisser unterstützender

Momente bedarf, genau so wie etwa die Alexine eben auch nur bei Anwesenheit von Salzen wirken können.

Trotz dieser mehr angedeuteten als ausgeführten Bedenken kommt der Betrachtungsweise Bordets eine sehr große Bedeutung zu. Denn nur die Annahme einer »Impressionsperiode«, welche der eigentlichen Agglutination vorausgeht, allerdings in der Regel nur um einen unmeßbar kleinen Zeitraum, kann die beobachtete Agglutinationsresistenz der Typhusbakterien befriedigend erklären.

Angenommen, dieselben befänden sich, so wie sie aus einem infizierten Meerschweinchen oder aus einem vorher auf 75° erhitzten Serum kommen, in dieser Periode, so würden sie mit Mikroorganismen, welche durch den spezifischen, hitzebeständigen Anteil eines bakteriolytischen Immunserums »sensibilisiert« sind, weitgehende Ähnlichkeit darbieten. Sie sehen normal aus, sind vielleicht weniger beweglich wie sonst, können sich aber regelrecht teilen und vermehren. Eine tiefgreifende Störung haben sie jedenfalls nicht erfahren. Aber normal sind sie ebensowenig wie diejenigen, die in einem erhitzten spezifisch baktericiden Serum waren. Diese lösen sich bei Anwesenheit geringer freier Alexinmengen auf, jene widerstehen der Einwirkung der Agglutinine, welche auf normale Bakterien sofort wirken. Wie sich später zeigen wird, ist die Analogie allerdings nicht vollständig, da Alexine und Agglutinin, d. h. jenes Agglutinin, wie man sich es bisher als im Serum vorhanden vorstellte, nicht direkt vergleichbar sind. Aber auf den ersten Blick sieht es doch so aus, als ob die »Impressionsperiode« Bordets die Typhusbakterien nicht agglutinabel, sondern resistent gemacht hätte.

Verständlich wird das Wesen der Bordetschen »Impression« erst dann, wenn man darauf die Vorstellungsweise Ehrlichs anwendet, die bereits so viele Punkte der Immunitätslehre dem Verständnisse näher gebracht hat.

Ehrlich hat sich mit dem Phänomen der Agglutination im Vergleich zu seinen eingehenden Studien der Hämolyse nur wenig und mehr nebenbei befaßt. In der Zusammenfassung seiner



Lehre, die als bekannt vorausgesetzt werden muß, betrachtet er die Agglutinine als frei im Blute kreisende Receptoren zweiter Ordnung, bei denen haptophore und zymotoxische Gruppe untrennbar verbunden sind.

Nach dieser Anschauungsweise würde sich der Receptor mit der ersteren an die geeignete Gruppe des Typhusbakteriums anlagern. An sich bedeutet diese Anlagerung noch keine tiefergehende Schädigung der Bakterienzelle. Da aber gleichzeitig mit der haptophoren Gruppe die mit ihr unzertrennlich verbundene zymotoxische verkettet wird, so übt die letztere sofort ihre charakteristische Wirkung, deren Wesen Ehrlich unbestimmt läßt, das aber in der Haufenbildung seinen sichtbaren Ausdruck findet. Mit dieser Anschauung ist die Thatsache des Verschwindens der Agglutinine durch die Bindung derselben an die Bakterienzelle vollständig erklärt. Es ist aber danach ausgeschlossen, daß ein Mikroorganismus in einem Serum, welches die zugehörigen Agglutinine in genügender Menge enthält, inagglutinabel sein könnte. Für ein etwaiges Fehlen der Atomgruppierung im Bakterienleibe, welche zur haptophoren Gruppe paßt, liefert die bisherige Litteratur keine einwandfreien Beweise. Da aber ein solcher Mangel einzig und allein die Thatsache der Agglutinationsresistenz erklären könnte, so muß diese Möglichkeit berücksichtigt werden.

Gäbe es Typhusbakterien, denen infolge irgend welcher Umstände die zu den Agglutininen passende Gruppe fehlt, so dürften sie unter gar keinen Umständen agglutiniert werden. Die Exsudatbakterien reagieren aber auf konzentrierte Sera, und die in vitro resistent gemachten noch auf ganz andere Flüssigkeiten, wie später zu zeigen sein wird. Eine Annahme einer nur schwach ausgebildeten, passenden Gruppe im Bakterienkörper, die erst durch eine besonders starke haptophore besetzt werden kann, widerspricht natürlich vollständig dem Sinne der Ehrlichschen Theorie, die eine stärkere Serumwirkung einzig und allein durch eine vermehrte Anhäufung gleichkräftiger Einzelreceptoren erklären muß. Überdies wäre eine solche Ansicht auch mit dem Folgenden unvereinbar.

Es wäre aber wohl denkbar, daß die zum vollständigen Agglutinin verbundenen beiden Gruppen des Ehrlichschen Receptors zweiter Ordnung doch insofern unabhängig voneinander sind, als sie sich gegen verschiedene Eingriffe ungleich widerstandsfähig zeigen, daß z. B. die Erhitzung auf 75° nur die zymotoxische, nicht aber die haptophore Gruppe vernichtet. Die letztere würde dann ihre spezifische Verwandtschaft und Anlagerungsfähigkeit zur entsprechenden Atomgruppierung in der Bakterienzelle beibehalten und diese besetzen. Ein derart besetzter Mikroorganismus könnte durch ein neu hinzutretendes vollständiges Agglutinin nicht mehr beeinflusst werden: denn die bindende Gruppe hat er zwar, aber sie ist von dem agglutinativen unwirksamen Reste des Receptors zweiter Ordnung so eingenommen, daß sich die haptophore Gruppe eines neuen, vollständigen Agglutinins nicht mehr anlagern und infolgedessen auch die zymotoxische nicht in Wirkung treten kann.

Wäre ein Typhusbakterium im Meerschweinchenexsudate oder im erhitzten Serum in dieser Weise besetzt worden, so könnte es tatsächlich resistent sein. Die Resistenz müßte bei einer Teilung und Vermehrung sofort schwinden; denn dann könnte natürlich von einer Besetzung der zum Agglutinin passenden neuen Gruppen nicht mehr die Rede sein. Aber eine derartige Bakterienzelle würde, so wie im vorher erörterten Falle, für immer inagglutinabel sein. Eine Ergänzung der einmal zerstörten zymophoren Gruppe könnte nicht stattfinden, weil die haptophore nicht die Konstruktion eines Amboceptors hat.

Da aber tatsächlich derartige Bakterien durch konzentrierte oder besonders wirkende Sera (s. Serum h in Versuch LIX) zur Haufenbildung gebracht werden können, so ist auch diese Annahme unhaltbar.

Läßt man aber die Anordnung der haptophoren und zymotoxischen Gruppe zum Ehrlichschen Receptor zweiter Ordnung beiseite und schreibt den Agglutininen im wesentlichen dieselbe Struktur zu wie den Bakterio- und Hämolytinen, so lassen sich nicht nur alle beobachteten Erscheinungen befriedigend erklären

sondern die Versuche können auch in bestätigender Weise erweitert werden.

Als sicherste Anordnung für diese Versuche hat sich die folgende bewährt. Die Abspaltung und Isolierung der haptophoren Agglutinierungsgruppe, des Agglutinophors, wie sie der Kürze halber bezeichnet werden möge, erfolgt teilweise aber unzulänglich durch 1stünd. Erhitzung auf  $60^{\circ}$ . Eine gänzliche Reindarstellung gelingt aber erst dann, wenn das Serum 1 Stunde lang bei  $75^{\circ}$  gehalten wird. Auf genaue Einhaltung der Temperatur muß gut geachtet werden, da bei nicht ganz sorgfältiger Durchführung dieser Manipulation mehrfach noch eine Spur von rückgebliebener Agglutinationswirkung beobachtet wurde.

Da reines Serum natürlich mehr oder minder vollständig gerinnen würde, kann man nur mit Verdünnungen arbeiten, welche aber nicht hoch getrieben werden dürfen. Eine Verdünnung 1:10 dürfte in den meisten Fällen entsprechen; sie ist nach dem Erhitzen opaleszierend in verschieden hohem Grade. Die Sera, die untersucht wurden, verhielten sich in dieser Hinsicht aus einem nicht näher zu ermittelnden Grunde keineswegs gleichartig. So lief ein Typhus-Immuns Serum i bei 1stünd. Erhitzung der Verdünnung 1:10 bereits eine Menge Eiweiß geronnen ausfallen, während ein Choleraserum, 1:5 verdünnt, gerade nur opalescierte.

In dieses Serum wird nach erfolgter Abkühlung die Typhussuspension eingetragen. Es empfiehlt sich durchaus, von dem erhitzten Serum, nicht wie in den bisherigen Versuchen eine geringe Quantität, sondern mindestens 5—10 ccm anzuwenden.

Was die Menge der anzuwendenden Bakterien anbetrifft, so ergibt nach dem bereits Erwähnten eine einfache Überlegung, daß theoretisch ebensoviel Bakterien vom Agglutinophor besetzt werden können, als vom nichterhitzten Serum agglutiniert werden. Thatsächlich könnte sogar dieses Quantum noch ohne Schaden um ein Geringes überschritten werden, da man, wie z. B. Versuch LVIII zeigt, einen nicht mehr agglutinablen Überschuss von Bakterien zusetzen kann, welcher sich weiterhin als resistent erweist; daraus folgt, daß auch im unveränderten, besonders im

länger aufbewahrten Serum eine gewisse Menge freier Agglutinophore vorhanden sein muß. Erhitztes Serum und Bakterien bleiben dann längere Zeit bei 37°. Viel besser aber ist es, die Besetzung durch Agglutinophore bei höherer Temperatur eintreten zu lassen; man hält daher die Proben  $\frac{1}{2}$ —1 Stunde im Wasserbade von 42—43°, einer Temperatur, welche Typhusbakterien noch nicht wesentlich schädigt (Stern) und jedenfalls ihre Agglutinationsfähigkeit unter normalen Verhältnissen nicht beeinträchtigt. Das weitere Verfahren ist aus dem detailliert mitgeteilten Versuche LX zu ersehen.

Dieser Versuch wurde durch das Ergebnis des als Nr. LIX bezeichneten veranlaßt. In diesem war das eine Serum g während der Beobachtungsdauer für Bakterien unwirksam gewesen, die vorher dem Einflusse einer auf 75° erhitzten Serumverdünnung 1:10 ausgesetzt gewesen waren, gleichgültig, ob diese Verdünnung mit dem gleichen Serum g oder mit Serum h bereitet war. Hingegen hatte das Serum h überall, wenn auch beträchtlich verspätet, Agglutination hervorgerufen.

Dieser Versuch mußte die Vermutung wachrufen, daß das Serum h nicht nur fertige Agglutinine enthalte. Stellt man sich den Agglutinophor mit derselben Struktur vor, wie ihn nach Ehrlich der Immunkörper eines Hämolytins besitzt, so muß die complementophile Gruppe des Amboceptors ergänzt werden können. Vorausgesetzt, daß das Serum h wirklich solche »Agglutinations-Complemente« oder, wie sie weiterhin genannt sein mögen, »Hemiagglutinine« enthält, so konnten sie sich mit den Agglutinophoren, die bereits an die Bakterien herangetreten waren, zu fertigen Agglutininen verbinden und Haufenbildung herbeiführen.

Der exakte Nachweis der Hemiagglutinine war natürlich für die soeben entwickelte Anschauung von höchster Wichtigkeit. Gemäß derselben durften sie selbst nicht gewöhnliche Typhusbakterien agglutinieren, mußten aber bei Bakterien aus erhitztem Serum, welche einem Immunagglutinin gegenüber resistent waren, Zusammenballung veranlassen. Gelang es, eine Flüssigkeit ausfindig zu machen, welche diesen Anforderungen entsprach, so

war damit der vollständige Nachweis der Übereinstimmung der Konstitution der Agglutinine mit der der Häm- und Bakteriolysine erbracht.

Zunächst wurde der zufällige Befund am Serum h verwertet. Es gab drei Wege, hier die Hemiagglutinine, die durch Erhitzen naturgemäß nicht von den Agglutinophoren zu trennen waren, aufzufinden. Einmal konnte versucht werden, in der Flüssigkeit, die in Versuche LIX die mit dem Agglutinophor besetzten Bakterien zur Agglutination gebracht hatte, den restlichen Agglutiningehalt zu bestimmen. Thatsächlich ergab die Bestimmung den gleichen Agglutinationswert wie vorher, so daß daraus eine völlige Nichtbeteiligung der fertigen Agglutinine an der Haufenbildung der besetzten Bakterien hervorging. Aber man darf dieser Methode, die mühsam zu handhaben ist, kein allzu großes Vertrauen schenken. Denn die Unterschiede müssen hier bei der relativ kleinen Menge der in Betracht kommenden Bakterien so gering sein, daß sie der Beobachtung wohl entgehen können.

Die zweite Methode bestand darin, die im Serum h als frei vermuteten Hemiagglutinine zu binden, ehe man das Serum auf die mit dem Agglutinophor besetzten Bakterien einwirken läßt. Dies konnte wieder auf doppelte Weise geschehen: 1. durch Typhusbakterien, die schon vorher mit dem Agglutinophor beladen waren (dieser Weg verdiente aus ähnlichen, wie den vorher angeführten Gründen wenig Vertrauen und wurde daher gar nicht versucht); 2. durch freie Agglutinophore, in der Hoffnung, daß bei Mischung von solchen mit Hemiagglutininen fertige Agglutinine gebildet würden, auch ohne daß Bakterien zugegen sind. Das Resultat war nicht absolut ungünstig, aber auch nicht unzweideutig.

#### Versuch LX.

5 ccm Serum h in der Verdünnung 1:10 werden 1 Std. auf 75° erhitzt. Mit dieser Flüssigkeit wird der Satz aus der Suspension von zwei mäßig gewachsenen Agarkulturen von Typhus übergossen und in derselben durch oftmaliges Aufsaugen der Flüssigkeit in einer Pipette mit enger Öffnung so gleichmäßig als möglich verteilt. Die Probe wird sodann  $\frac{1}{2}$  Std. bei 42—43° gehalten, wobei keine Agglutination eintrat, hierauf verdünnt,

zur Entfernung noch vom Centrifugieren zurückgebliebener oder etwa doch neugebildeter Häufchen durch Fließpapier filtriert. Wie die relativ geringe Trübung lehrt, wird dabei ein sehr großer Teil der Bakterien zurückgehalten. Dann wird centrifugiert und der durch Abgießen völlig frei gemachte Bodensatz in physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Inzwischen wurden folgende Verdünnungen von Serum h hergestellt:

- I. 0,1 ccm reinen Serums h + 0,9 ccm Serum h in Verdünnung 1:10  
1 Std. auf 75° erhitzt,  
II. 0,1 „ „ „ „ + 0,9 ccm physiologischer NaCl-Lösung,  
III. 0,1 „ „ „ „ + 4,9 ccm Serum h in Verdünnung 1:10  
1 Std. auf 75° erhitzt,  
IV. 0,1 „ „ „ „ + 4,9 ccm physiologischer NaCl-Lösung,  
V. 0,1 ccm der Verdünnung I + 0,9 ccm Serum h in Verdünnung 1:10  
1 Std. auf 75° erhitzt,  
VI. 0,1 „ „ „ „ II + 0,9 ccm physiologischer NaCl-Lösung,  
VII. 0,1 „ „ „ „ III + 0,9 ccm Serum h in Verdünnung 1:10  
1 Std. auf 75° erhitzt,  
VIII. 0,1 „ „ „ „ IV + 0,9 ccm physiologischer NaCl-Lösung.

Daraus wurden hergestellt:

- |     |  |                        |      |
|-----|--|------------------------|------|
| 1.  | 8 Tr. Suspens. v. Bakt. aus Serum h 1:10, 1 Std. 75° | + 8 Tr. reines Serum h |      |
| 2.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ d. Verdünn. I    |      |
| 3.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | II   |
| 4.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | III  |
| 5.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | IV   |
| 6.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | V    |
| 7.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | VI   |
| 8.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | VII  |
| 9.  | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „ „            | VIII |
| 10. | 8 Tropfen Suspension normaler Bakterien              | + 8 „ „ „              | I    |
| 11. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | II   |
| 12. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | III  |
| 13. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | IV   |
| 14. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | V    |
| 15. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | VI   |
| 16. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | VII  |
| 17. | 8 „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „ „                        | + 8 „ „ „              | VIII |

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. 1.—9. 0. 10., 11., 13. fast beendete, 15. weit vorgeschrittene Agglutination, 12. deutlicher Beginn derselben, 14., 16., 17. 0.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. 1.—9. 0. 10., 11., 12., 13., 15., 17. beendete, 14. deutlich beginnende Agglutination, 16. 0.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. 1.—9. 0. 10., 11., 12., 13., 15., 17. beendete, 14. fast beendete Agglutination, 16. 0.

Nach 1 Std. 1.—9. 0. 10.—15. und 17. beendete, 16. beginnende Agglutination.

Nach  $1\frac{1}{4}$  Std. 1., 2., 3., 4., 6., 8., 9. 0. in 5. und 7. deutliche kleinste Flöckchen in trüber Flüssigkeit sichtbar, 10.—15. und 17. beendete, 16. fast beendete Agglutination.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Std. 1., 2., 4., 6., 8., 9. 0. 3., 5., 7. kleine Flockchen in trüber Flüssigkeit, 10.—17. beendete Agglutination.

Das Bild bleibt weiterhin während der zweistündigen Beobachtung bei 37° unverändert. Die Flockenbildung in 3., 5., 7. ist nicht zu verkennen, doch kommt es nur zu einem unvollständigen Absetzen, und die Flüssigkeit bleibt trüb.

In diesem Versuche wirkt nur das Eine störend, dafs von dem mit Kochsalzlösung verdünnten Serum h noch eine gewisse Wirkung auf die mit dem Agglutinophor beladenen Typhusbakterien ausgeübt wurde, während das reine Serum wirkungslos blieb. Von Interesse ist aber weiter, dafs auch normale Bakterien in einer Serumverdünnung, welche im Überschufs isolierte Agglutinophore enthält, viel weniger beeinflusst werden als durch die gleich starke, mit Kochsalzlösung hergestellte Verdünnung. Dieses, ganz auffallend an die von Neisser und Wechsberg aufgeklärten, paradoxen Verhältnisse bei den bakteriolytischen Seris erinnernde Verhalten wiederholte sich mehr oder weniger deutlich auch in den späteren Versuchen.

Schliesslich war es noch möglich, die Wirkung der etwa vorhandenen freien Hemiagglutinine durch Erhitzen zu beseitigen. Denn aus dem Umstande, dafs ein auf 60° erwärmtes Serum bereits eine gewisse Menge von Agglutinophoren frei werden läfst, geht mit Wahrscheinlichkeit hervor, dafs die ergänzenden Hemiagglutinine diese Temperatur nur schlecht vertragen. In der That erwies sich auch ein reines, auf 60° 1 Stunde lang erhitztes Serum absolut unfähig, Bakterien, die mit dem Agglutinophor besetzt waren, zur Haufenbildung zu bringen.

Von weit gröfserer Bedeutung als die Versuche, in hochwertigem Immuns Serum freie Hemiagglutinine nachzuweisen, waren die Bemühungen, sie in normalen, womöglich an sich gar nicht agglutinierenden Flüssigkeiten festzustellen.

In der That gelang es manchmal, durch normales Serum von Meerschweinchen, das an sich nicht agglutinierte, ein sonst für mit Agglutinophoren beladene Typhusbakterien inaktives Serum wirkungsvoll zu ergänzen.

#### Versuch LXI.

Bakterien in der gewöhnlichen Weise mit auf 75° erhitztem Serum cII behandelt. Zugesezt aufser reinem Serum gI noch ein Meerschweinchen-serum, das weder makroskopisch noch mikroskopisch agglutinierte.

1. 5 Tropfen Bakteriensuspension aus auf 75° erhitztem Serum + 5 Tropfen NaCl-Lösung + 5 Tropfen reines Serum gII,
2. 5 Tropfen Bakteriensuspension aus auf 75° erhitztem Serum + 5 Tropfen Meerschweinchenserum + 5 Tropfen reines Serum gII,
3. 5 Tropfen Suspension normaler Bakterien + 5 Tropfen NaCl-Lösung + 5 Tropfen reines Serum gII,
4. 5 Tropfen Suspension normaler Bakterien + 5 Tropfen Meerschweinchenserum + 5 Tropfen reines Serum gII.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. ist in 3. und 4. weitvorgeschr. Agglutination zu konstatieren, die nach  $\frac{1}{2}$  Std. unter völliger Klärung der Flüssigkeit beendet ist.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. beginnt in 2. Agglutination, die rasch fortschreitet und nach 1 Std. beendet ist; 1. bleibt trübe.

Ein solches Resultat war aber nicht häufig; viel besser wirkte das Peritonealexsudat von Meerschweinchen, wie es durch eine vorübergehende Injektion von Bouillon oder noch sicherer von Typhuskultur erzielt wurde. Die Entnahme des Exsudates mufs, in letzterem Falle besonders, bald nach der Einspritzung erfolgen, da sonst das Auftreten inagglutinabler Bakterien auf reichliche Entstehung von freien Agglutinophoren hinweist.

#### Versuch LXII.

Gewaschene Bakterien von zwei Agarkulturen werden mit 10 ccm 1:10 verdünntem, 1 Std. auf 75° erhitztem Serum hI  $\frac{3}{4}$  Std. bei 42—43° gehalten. Hierauf wird verdünnt, filtriert, zentrifugiert, abgossen und in wenig physiologischer NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Inzwischen hatte Meerschweinchen 91 5 ccm gewöhnlicher steriler Bouillon, Meerschweinchen 92 5 ccm Kochsalzlösung und  $\frac{1}{2}$  Typhusagarkultur erhalten. Beide Tiere wurden  $1\frac{1}{2}$  Std. später durch Verbluten getötet. Nr. 91 lieferte fast 7 ccm mäfsig roten Exsudates, das nach dem Zentrifugieren klar und nur wenig gelblich gefärbt ist. Der Satz besteht aus roten und weissen, meist zu Klumpen vereinigten Blutkörperchen. Nr. 92 gibt ca. 4 ccm trüben, wenig roten Exsudates, das nach dem Zentrifugieren fast wasserhell ist, und einen aus roten, einigen weissen Blutkörperchen und massenhaften Typhusbakterien bestehenden Satz hat. Es werden folgende Proben hergestellt:

- |     |  |                        |                     |  |
|-----|--|------------------------|---------------------|--|
| 1.  | 5 Tr. Suspens. v. Bakt. }<br>aus Serum hI 1h 75° } | + 5 Tr. Serum hI conc. | + 5 Tr. NaCl-Lösung |  |
| 2.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » Exsudat v. Nr. 92                  |
| 3.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » Exs. v. Nr. 92 $\frac{1}{2}$ h 60° |
| 4.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » Exs. v. Nr. 91                     |
| 5.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » » » $\frac{1}{2}$ h 60°            |
| 6.  | do.  | + 5                    | » » » 1:10          | + 5 » NaCl-Lösung                        |
| 7.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » Exs. v. Nr. 92                     |
| 8.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » » » $\frac{1}{2}$ h 60°            |
| 9.  | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » Exs. v. Nr. 91                     |
| 10. | do.  | + 5                    | » » » »             | + 5 » » » $\frac{1}{2}$ h 60°            |



11.	5 Tr. Suspens. v. Bakt. } aus Serum h I 1 h 75°	+ 5 Tr. NaCl-Lösung	+ 5 Tr. Exs. v. Nr. 92
12.	do.	+ 5 „ „	+ 5 „ „ „ „ 1/2 h 60°
13.	do.	+ 5 „ „	+ 5 „ Exs. v. Nr. 91
14.	do.	+ 5 „ „	+ 5 „ „ „ „ 1/2 h 60°
15.	5 Tr. Suspens. norm. Bakt. } + 5 Tr. Serum h I 1:10	+ 5 Tr. NaCl-Lösung	
16.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ Exs. v. Nr. 92
17.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „ 1/2 h 60°
18.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ Exs. v. Nr. 91
19.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „ 1/2 h 60°
20.	5 „ „ „ „	+ 5 Tr. NaCl-Lösung	+ 5 „ Exs. v. Nr. 92
21.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „ 1/2 h 60°
22.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ Exs. v. Nr. 91
23.	5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „ „ „ „ 1/2 h 60°

Nach 1/4 Std. Deutliche Agglutination in 2. und 4., weit vorgeschritten in 15.—19.

Nach 1/2 Std. 15.—19. vollendete, 2. und 4. weit vorgeschrittene Agglutination; deutlicher Beginn derselben in 7., unsicherer in 9. Sonst keine Beeinflussung.

Nach 3/4 Std. 2. und 4. beendete, 7. weit vorgeschrittene, 9. deutliche Agglutination.

Nach 1 Std. 2., 4., 7., 9. beendete oder fast beendete Reaktion; schwacher Beginn derselben in 3., 5., zweifelhafter in 8. Deutliche Agglutination in 11.

Nach 1 1/4 Std. 2., 3., 4., 7., 8., 9. beendete, in 11. und 13. weit vorgeschrittene Agglutination.

Nach 1 1/2 Std. Wesentlich unverändert bis auf 22., wo schwacher Beginn der Haufenbildung zu konstatieren ist.

Nach 1 3/4 Std. Wesentlich unverändert.

Nach 2 Std. Zur Zeit des Abbruches fehlt jede Reaktion in 1., 5., 6., 10., 14., 20., 21., 23. Beendet, aber mit leichter zurückgebliebener Trübung der obenstehenden Flüssigkeit ist die Agglutination in 2., 3., 4., 7., 8., 9., 11. und 13., in deutlicher Ausbildung in 12. und 22. Vollständige Klärung mit Satzbildung ist in den Kontrollen 15.—19. vorhanden.

### Versuch LXIII.

In genau gleicher Weise wie der vorige, mit den Exsudaten der gleichen Meerschweinchen angestellt. Die verwendeten Bakterien waren aber der Einwirkung eines 1:10 verdünnten, 1 Std. bei 75° erhitzten Serums g I ausgesetzt. Bezeichnung ist die gleiche wie im vorigen Versuch, die Kontrollen 20.—23. gelten auch hier, in den Proben 1.—19. ist statt Serum h I Serum g I einzusetzen.

Nach 1/4 Std. Undeutlich beginnende Agglutination in 2., weit vorgeschrittene in 15.—19.

Nach 1/2 Std. In 15.—19. beendete Agglutination, in 2. immer noch undeutlich.

Nach 3/4 Std. In 2. weit vorgeschrittene, in 4. undeutliche Agglutination. Sie beginnt sicher in 7. und 11., zweifelhaft in 9.

Nach 1 Std. In 2., 7., 11. weit vorgeschrittene, in 4., 9. deutliche, in 8. und 12. zweifelhafte Agglutination.

Nach  $1\frac{1}{4}$  Std. In 2., 4., 7., 9., 11. beendete, in 3. und 8. deutliche Agglutination. Weiterhin nicht wesentlich verändert.

Nach 2 Std. Zur Zeit des Abbruches der Beobachtung ist in 1., 5., 6., 10., 13. und 14. keine Veränderung eingetreten, tadellos, d. h. unter vollständiger Klärung der obenstehenden Flüssigkeit ist die Agglutination beendet in 2., 7., 11., 15.—19. Abgesetzt, aber mit Trübung der obenstehenden Flüssigkeit, sind die Proben 4., 8., 9. Unvollständig ist die Reaktion in 3. und 12.

#### Versuch LXIV.

Zur Verwendung kommt ein frisches, bis 1:5000 agglutinierendes Typhusserum i, in dessen 1 Std. auf 75° erhitzter Verdünnung 1:10 der Satz von drei schwachen Typhusagarkulturen  $\frac{1}{2}$  Std. bei 42° gehalten wird (10 ccm Gesamtlöslichkeit). Hierauf Herstellung der Proben, ähnlich wie beim vorigen Versuche, mit dem centrifugierten Exsudate zweier Meer-schweinchen, von denen das eine (Nr. 85) 5 ccm stärkehaltiger Bouillon, das andere (Nr. 86) eine schwache Typhusagarkultur in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung intraperitoneal erhalten hatte. Sie wurden 2 Std. nach der Injektion verblutet.

1.	5 Tr. Suspens. v. Bakt. } + 5 Tr. Serum i conc + 5 Tr. NaCl-Lösung			
	aus Serum i, 1 h 75° }			
2.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , Exsudat von Nr. 86
3.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , , , , 85
4.	do.	+ 5 ,	, , 1:10	+ 5 , NaCl-Lösung
5.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , Exsudat von Nr. 86
6.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , , , , 85
7.	do.	+ 5 ,	, , 1:100	+ 5 , NaCl-Lösung
8.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , Exsudat von Nr. 86
9.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , , , , 85
10.	do.	+ 5 ,	NaCl-Lösung	+ 5 , , , , 86
11.	do.	+ 5 ,	, ,	+ 5 , , , , 85

Die Zahlen 12.—22 bezeichnen die entsprechenden Kontrollproben mit einer Aufschwemmung von normalen Typhusbakterien.

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. 12.—20. weit vorgeschrittene Agglutination, sonst keine Wirkung.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. 12.—20. beendete Agglutination. Deutlicher Beginn ist zu sehen in 10 und 22.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. Außer den abgesetzten Kontrollproben 12.—20. ist in 5., 8., 10. und 22. deutliche Agglutination wahrzunehmen.

Nach 1 Std. ist in 5., 8., 10., 22. die Agglutination beendet oder fast beendet und beginnt undeutlich in 21.

Nach  $1\frac{1}{4}$  Std. ist die Flockenbildung in 21. noch stärker geworden, dabei aber ist die Flüssigkeit trüb.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Std. beginnt Flockenbildung bei 2.

Nach  $1\frac{3}{4}$  Std. ist nichts Wesentliches verändert.

Nach 2 Std. Zur Zeit des Abbruches der Beobachtung ergibt sich folgendes Resultat: In 1., 3., 4., 6., 7., 9., 11. ist jede Reaktion ausgeblieben, in 2., 5., 8., 10., 12.—22. ist die Reaktion vollendet, oder die obenstehende Flüssigkeit doch nur unbedeutend trüb.

Der Versuch LXIV zeigt aufs deutlichste, dafs Ergänzungs-fähigkeit für Agglutinophore und Agglutinationskraft für eine Flüssigkeit ganz verschiedene Dinge sind. Das Exsudat des Meerschweinchens 85 hat nach Einspritzung stärkehaltiger Bouillon unzweideutig eine beträchtlich agglutinierende Wirkung, da es schon nach  $\frac{1}{2}$  Stunde normale Bakterien zusammenballen konnte. Hingegen vermochte es die mit dem Agglutinophor besetzten Bakterien weder für sich allein (Probe 11), noch in Verbindung mit dem Immunserum i (Probe 3, 6, 9) zu agglutinieren; es enthielt also wahrscheinlich gar keine freien Hemiagglutinine. In Gegensatz dazu brachte das Exsudat des mit Typhus inficierten Meerschweinchens normale Bakterien (Probe 21) erst nach 1 Stunde undeutlich zur Flockenbildung, solche, die mit Agglutinophoren besetzt waren (Probe 10) für sich allein nach  $\frac{1}{2}$  Stunde, mit Verdünnungen des Immunserums zusammen nach  $\frac{3}{4}$  Stunden zur Agglutination.

Die interessante Erscheinung, dafs Hemiagglutinine allein frühzeitig, in Verbindung mit verdünntem Immunserum später, und erst ganz zuletzt mit reinem Immunserum wirkten, ist vorläufig nicht zu erklären, gehört aber jedenfalls auch in den Kreis jener merkwürdigen Befunde, um deren Aufhellung sich die Ehrlichsche Theorie und die Neisser-Wechsbergische Arbeit so verdient gemacht haben.

In der Regel enthalten Meerschweinchenexsudate nebeneinander Hemiagglutinine und fertige Agglutinine. Dafs erstere nicht spezifisch sind, geht schon aus ihrem Vorkommen im normalen Organismus unzweideutig hervor.

Versuch LXIII zeigt ferner, dafs sie Temperaturen von 60° nicht mehr gut ertragen, wenn sie auch durch dieselben zunächst nicht vollständig zerstört zu werden brauchen.

#### Versuch LXV.

Eine Verdünnung des Serums g1 2:14 (also 16 ccm) wird 1 Std. auf 75° erhitzt. Dann wird damit der gewaschene Satz von drei Agarkulturen

übergossen, die so gleichmäßig als möglich verteilte Aufschwemmung  $\frac{1}{3}$  Std. bei 42–43° gehalten, hierauf filtriert, centrifugiert, und aus dem Satze mit wenig physiologischer Kochsalzlösung eine dichte Aufschwemmung bereitet.

Inzwischen hatten die beiden Meerschweinchen 93 und 94 eine intraperitoneale Injektion von 5 ccm Bouillon bezw. 5 ccm NaCl-Lösung und eine Typhusagarkultur erhalten und waren  $\frac{3}{4}$  Std. später verblutet worden. 93 gab 5 ccm farblosen, wenig trüben Exsudates, 94 kaum 3 ccm heller, aber trüber Flüssigkeit, so daß die Bauchhöhle noch mit 2 ccm NaCl-Lösung ausgespült und das Spülwasser mit dem Reineksudate vereint werden mußte. Beide Exsudate wurden zur vollen Klarheit centrifugiert und, wie folgt, verwendet:

1.	5 Tr. Bakteriensuspens. } aus Ser. g I 2:14 1h 75°	+ 5 Tr. Serum g I conc.	+ 5 Tr. NaCl-Lösung	
2.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ Exs. v. Nr. 94
3.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ h 60°
4.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
5.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ Nr. 93
6.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ h 60°
7.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
8.	do.	+ 5 „	NaCl-Lösung	+ 5 „ „ „ „ Nr. 94
9.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ h 60°
10.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
11.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ Nr. 93
12.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ h 60°
13.	do.	+ 5 „	„	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
14.	5 Tr. Susp. normaler Bakt.	+ 5 Tr. Serum g I conc.	+ 5 Tr. NaCl-Lösung	
15.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ Exs. v. Nr. 94
16.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
17.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ Nr. 93
18.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
19.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ Nr. 94
20.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ h 60°
21.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°
22.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ Nr. 93
23.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ $\frac{1}{2}$ h 60°
24.	5 „ „ „	„	+ 5 „	+ 5 „ „ „ „ 1h 60°

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. sind die Proben 14.—18. fast vollständig agglutiniert, in 2. und 8. ist bereits sehr deutliche Haufenbildung sichtbar.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. Wesentlich ebenso.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. Ebenso.

Nach 1 Std. 2. beendet, aber mit leichter Trübung der obenstehenden Flüssigkeit; in 3. und 11. undentlicher Beginn, 8. Ende der Agglutination; in 22. beginnt deutliche Haufenbildung.

Nach 1  $\frac{1}{4}$  Std. In 3. noch immer zweifelhafte, in 11. und 22. weit vorgeschrittene, in 19. eben beginnende Agglutination.

Nach 1  $\frac{1}{2}$  Std. Beginnt Flockenbildung auch in 9. und 10., 19. und 22. haben Flocken in trüber Flüssigkeit entstehen lassen.

Nach 1  $\frac{3}{4}$  Std. Wesentlich unverändert.

Nach 2 Std. Zur Zeit des Abbruches der Beobachtung war in 1., 4., 5., 6., 7., 12., 13., 20., 21., 23. und 24. keine Reaktion eingetreten, in 2., 9., 10., 11., 19., 22. ist viel Bakterienmaterial flockig abgesetzt, die obenstehende Flüssigkeit aber trübe, in 3. ist eben ein Absetzen in der dicht trüben Flüssigkeit merkbar, 8., 14.—18. zeigen vollständig geklärte Flüssigkeiten.

Die Prüfung der Meerschweinchenexsudate im hängenden Tropfen mit normalen Bakterien hatte ergeben, daß das von Nr. 93 noch bei der Verdünnung 1 : 25 ziemlich vollständig, das von Nr. 94 gerade noch bei 1 : 10, nicht mehr bei 1 : 25 agglutinierte. Damit stimmt das frische Auftreten der Flockenbildung in Probe 22, das verspätete in 19 genau überein. Gerade umgekehrt verhalten sich beide Exsudate gegen Bakterien, die mit dem Agglutinophor beladen waren, und bei gleichzeitigem Zusatz von Exsudat und Serum versagte das Exsudat von 93 ganz. Die Übereinstimmung mit dem Ergebnisse des vorigen Versuches ist also eine weitgehende; auch hier muß man im Exsudate des typhusinfizierten Tieres einen relativ hohen, in dem des normalen Tieres einen sehr geringen Gehalt an freien Hemiagglutininen annehmen.

Auch die Thatsache, daß Hemiagglutinine allein ebensogut oder noch besser als in Verbindung mit Immenserum den Agglutinophor ergänzen, tritt hier, besonders beim Exsudate des Meerschweinchens 93 wieder auf.

Aber das Resultat änderte sich, als bei Anwendung der gleichen Meerschweinchenexsudate das durch Immunisation eines Kaninchens mit Exsudatbakterien erhaltene Serum hI benutzt wurde.

#### Versuch LXVI.

Die Bezeichnung ist, bis auf den Umstand, daß statt Serum gI überall Serum hI zu setzen ist, die gleiche wie im vorigen Versuche. Die Kontrollen 19.—24. gelten auch hier. (Beide Versuche wurden, ebenso wie der folgende, am selben Tage angestellt.)

Nach  $\frac{1}{4}$  Std. Deutliche Agglutination in 2. und 5., fast beendete in 14.—18.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. Ebenso, in 14.—18. vollständige Klärung der Flüssigkeiten.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. 2. und 5. fast beendeter Absatz, aber bei noch trüber, obenstehender Flüssigkeit. In 8. ist deutlicher, in 3. und 11. undeutlicher Beginn der Agglutination wahrzunehmen.

Nach 1 Std. Entsprechend weiter vorgeschritten.

Nach  $1\frac{1}{4}$  Std. Agglutination beginnt auch in 9., vielleicht in 10.

Nach  $1\frac{1}{2}$  Std. Beginn der Haufenbildung in 4., deutliche Reaktion in 9. und 10.

Nach  $1\frac{3}{4}$  Std. Wesentlich ebenso.

Nach 2 Std. Fehlt jede Reaktion in 1., 6., 7., 12., 13. Vollständige Agglutination mit Klärung der obenstehenden Flüssigkeit ist eingetreten bei 8., 11. und 14.—18. Absetzung in Flocken bei trüber Flüssigkeit zeigt sich in 2., 3., 4., 5., 9., 10.

Hier hatte sowohl das Exsudat des normalen wie das des typhusinfizierten Meerschweinchens ungefähr gleichzeitig die mit dem Agglutinophor des Serums hI beladenen Bakterien zur Agglutination gebracht, woraus sich ein ungefähr gleich hoher Gehalt an Hemiagglutinin ergeben würde. Nur daraus, daß die Erhitzung auf  $60^{\circ}$  das normale Exsudat jeder ergänzenden Fähigkeit beraubt hatte, während dieselbe im Typhusexsudate noch teilweise erhalten war, ergibt sich gleichwohl der größere Gehalt an Hemiagglutinin für das Typhusmeerschweinchen.

Auch der Umstand, daß diesmal, ungleich dem vorigen Versuche, Exsudat und Immuserum schneller gewirkt hatte als Exsudat allein, wird wieder ausgeglichen durch das vollständige Auftreten der Agglutination bei letzterer, das sehr unvollständige bei ersterer Flüssigkeit.

Vermutlich ist es der geringfügige Eigengehalt des Serums hI an Hemiagglutininen, der diese Unregelmäßigkeit bedingt. Jedenfalls liegt die Schuld nicht an einer Verschiedenheit der Agglutinophore in den beiden Seris hI und gI, wie der folgende Versuch es deutlich macht.

#### Versuch LXVII.

Exsudate der gleichen beiden Meerschweinchen wie vorher.

1.	5 Tr. Suspens. v. Bakt. } aus Serum gI 1h $75^{\circ}$	+ 5 Tr. Serum hI conc.	+ 5 Tr. NaCl-Lösung	
2.	do.	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „	Exsudat v. Nr. 94
3.	do.	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „	„ „ „ „ 93
4.	do. Serum hI	+ 5 „ „ gI	+ 5 „	NaCl-Lösung
5.	do.	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „	Exsudat v. Nr. 94
6.	do.	+ 5 „ „ „ „	+ 5 „	„ „ „ „ 93

Die entsprechenden Kontrollen siehe in Versuch LXV und LXVI.

	1/4 h	1/2 h	3/4 h	1 h	1 1/4 h	1 1/2 h	1 3/4 h	2 h
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	Weit vorgeschritt.	Fast beendet	Beendet	—	—	—	—	} Wolkiger Satz, dabei deutlich trüb
3	Weit vorgeschritt.	Fast beendet	Beendet	—	—	—	—	
4	0	0	0	0	0	0	0	0
5	Deutlicher Beginn	Weit vorgeschritt.	Fast beendet	Beendet	Trüb beendet	—	—	} Satz mit starker Trübung
6	0	0	0	Weit vorgeschritt.	Flocken daneben ganz trüb	—	—	

Abgesehen von der erst sehr verspätet aufgetretenen und sehr unvollständig gebliebenen Agglutination in der sechsten Probe herrschen somit absolut die gleichen Verhältnisse wie in den Versuchen LXV und LXVI.

Wie bereits bemerkt, beweist das Vorkommen von freien Hemiagglutininen im Exsudate wie auch im Serum normaler Meerschweinchen bereits deutlich, daß es sich hier um regelmäßig im Körper vorhandene, nicht spezifische Stoffe handelt. Daß dieselben auf einen spezifischen Anstofs hin stärker konzentriert in Körperflüssigkeiten auftreten, beweist nur, daß sie sehr leicht im Organismus mobilisiert werden können.

Ihre relativ geringe Hitzebeständigkeit geht aus den ausführlich wiedergegebenen Versuchen ebenfalls klar hervor: schon eine halb-, noch mehr eine einstündige Erhitzung auf 60° schädigt sie schwer. Vernichtet werden sie bei solchen Temperaturen nicht vollständig, was schon durch die relative Beständigkeit eines, wesentlich vollständige Agglutinine enthaltenden Immunserums von vornherein wahrscheinlich war.

Hingegen handelt es sich bei den Agglutinophoren, soweit dies untersucht werden konnte, um streng spezifische Körper.

Auch Choleravibrionen lassen sich, wie vorher bemerkt werden muß, durch Aufenthalt in einem zugehörigen, auf 75° erwärmten Immunserum gegen die in dem unveränderten enthaltenen Agglutinine unempfindlich machen. Doch scheint, wie

aus den bereits Seite 366 erwähnten Tierversuchen hervorgeht die Spaltung der Agglutinine in ihre beiden Anteile und die Produktion der freien Agglutinophore hier schwerer zu erfolgen als bei Typhus. Immerhin gelang es durch Einwirkung von möglichst wenig verdünntem, hochwertigem, 1 Stunde auf 75° erhitztem Immuneserum Cholera vibriionen absolut inagglutinabel zu machen.

#### Versuch LXIX.

Choleraserum (im hängenden Tropfen noch bei 1:10000, nur noch unvollständig bei 1:12500 agglutinierend) im Verhältnisse 1:5 verdünnt, wird 1 Std. auf 75° erhitzt. Mit 5 ccm dieser Flüssigkeit wird der Satz von zwei gewaschenen Agarkulturen übergossen, 1/2 Std. bei 42—43° gehalten und in der üblichen Weise filtriert, centrifugiert und in wenig NaCl-Lösung aufgenommen.

1.	10 Tr. Vibriionensusp. aus Immuneserum 1 <sup>h</sup> 75°	+ 10 Tr. Choleraserum conc.	
2.	10 „ „ „ „ „ „	+ 10 „ „	1:10
3.	10 „ „ „ „ „ „	+ 10 „ „	1:50
4.	10 „ Suspension normaler Vibrionen	+ 10 „ „	conc.
5.	10 „ „ „ „ „ „	+ 10 „ „	1:10
6.	10 „ „ „ „ „ „	+ 10 „ „	1:50

Nach 1/4 Std. beginnt deutliche Agglutination bei 4. und 5., ist nach 1/2 Std. in allen drei Kontrollproben weit vorgeschritten und nach 1 Std. beendet.

Die Proben 1.—3. bleiben während der zweistündigen Beobachtungsdauer und auch noch 3 Std. nachher, bei 37° aufbewahrt, gleichmäÙig trüb.

Mit diesem Choleraserum wurde die Spezifität der Agglutinophore und der durch sie veranlaÙten Inagglutinabilität geprüft.

#### Versuch LXX.

Choleraserum, im Verhältnis 1:7,5 mit physiologischer NaCl-Lösung verdünnt, wird 1 Std. lang auf 75° erhitzt. Je 5 ccm dieser Flüssigkeit werden zu dem Satze von je zwei centrifugierten Agarkulturaufschwemmungen von Typhus und Cholera gegeben, und die Suspensionen je 1/2 Std. bei 42—43° gehalten. Hierauf werden in der üblichen Weise Suspensionen hergestellt.

1.	5 Tr. Typhussusp. aus 1 <sup>h</sup> 75° erhitzt.	Choleraser. + 5 Tr. Typhusser. g conc.	
2.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „	1:10
3.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ Choleraserum conc.	
4.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „	1:10
5.	5 „ Cholerasusp. „ „ „ „	+ 5 „ Typhusser. g conc.	
6.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „	1:10
7.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ Choleraserum conc.	
8.	5 „ „ „ „ „ „	+ 5 „ „	1:10



9.	5 Tr.	Suspension normaler Typhusbakterien	+ 5 Tr. Typhusserum conc.
10.	5	„	+ 5 „ „ 1:10
11.	5	„	+ 5 „ Choleraserum conc.
12.	5	„	+ 5 „ „ 1:10
13.	5	„ Cholera-vibrionen	+ 5 „ Typhusserum conc.
14.	5	„	+ 5 „ „ 1:10
15.	5	„	+ 5 „ Choleraserum conc.
16.	5	„	+ 5 „ „ 1:10

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. Weit vorgeschrittene Agglutination in 1., 2., 9., 10., 15., 16. Deutlicher Beginn in 3. und 11.

Nach  $\frac{1}{2}$  Std. Vollständig beendete Agglutination in 1., 2., 9., 10., 15., 16. Weit vorgeschrittene in 3. und 11. Deutlicher Beginn in 4. und 12.

Nach  $\frac{3}{4}$  Std. ist die Reaktion auch in 3. und 11. ganz, in 4. und 12. fast ganz beendet. Weiterhin tritt während der zweiten Beobachtungsdauer keine Veränderung ein.

Der Versuch ist besonders aus dem Grunde lehrreich, weil hier das Choleraserum gleichzeitig Typhusbakterien agglutinierte. Die Untersuchung im hängenden Tropfen mit Typhusbouillon ergab noch vollständige Haufenbildung bei 1:50, sehr unvollständige bei 1:75. Wahrscheinlich handelt es sich hier um einen jener durchaus nicht seltenen Fälle, wo bereits normales Kaninchenserum Typhusbakterien agglutiniert; allerdings ist diese Fähigkeit hier außerordentlich stark. Die Konzentration dieser normalen Typhusagglutinine war aber viel zu gering, um durch Spaltung bei 75° genügend Agglutinophore zur Besetzung der großen Menge eingetragener Bakterien hervorzubringen. Die Folge davon war, daß selbst so relativ unbedeutende agglutinative Effekte, wie sie das Choleraserum auf Typhus ausübte, bei den im erhitzten Cholera-Immunsrum gewesenen Typhusbakterien gerade so deutlich sichtbar wurden wie bei normalen. Dieser Beweis für die spezifische Wirkung der Agglutinophore erschien so schlagend, daß weitere Versuche nicht mehr angestellt wurden. Durch die Fähigkeit eines auf 75° erhitzten Choleraserums, in dem erst Typhusbakterien bei 42° verweilt hatten, nunmehr noch Cholera-vibrionen inagglutinabel zu machen, würde sich ein weiterer Beweis wohl unschwer erbringen lassen.

Der große Umfang, den die Untersuchungen bereits angenommen hatten, machte eine weitere Ausdehnung derselben

einerseits auf andere als die benutzten Typhus- und Cholera-stämme, anderseits auf andere Bakterienarten für den Einzelnen unmöglich. Namentlich die Untersuchung der Coli-Immunsera hätte viel des Interessanten versprochen, besonders in der Hinsicht, ob die verschiedene Wirksamkeit eines Serums gegen verschiedene Colistämme auf einer Verschiedenheit der agglutinophoren Gruppen beruht.

Immerhin berechtigen die angestellten Versuche zur Zusammenfassung folgender Sätze:

1. Die Agglutinine des Typhus-Immuserums sind keine einheitlichen Körper, wie man bisher angenommen hat.

2. Ihre Konstitution setzt sie vielmehr in vollkommene Analogie mit den Bakterio und Hämolytinen.

3. Wie diese bestehen sie aus einem spezifisch wirksamen Teile, dem Agglutinophor, der von dem zweiten, nicht spezifischen, dem Hemiagglutinin durch Erwärmen eines Serums auf 75° getrennt werden kann.

4. Die von Ehrlich zuerst auf die Agglutinine angewendete Zweiteilung ihrer Wirkung in den Effekt einer haptophoren und einer zymotoxischen Gruppe trifft vollständig zu und entspricht der Agglutinophor der haptophoren, das Hemiagglutinin der zymotoxischen Gruppe Ehrlichs.

5. Wie in allen bisher aus der Immunitätslehre bekannten Fällen, ist auch hier die Wirksamkeit der haptophoren Gruppe zunächst eine unsichtbare. Sie vermag sich mit dem zugehörigen Bakterium zu verbinden und versetzt dasselbe, trotz seines normalen Aussehens, seiner ungestörten Vermehrungsfähigkeit u. dgl. in einen besonderen Zustand, welcher dem der ersten Agglutinationsphase Bordets entsprechen dürfte.

6. Dieser Zustand ist dadurch charakterisiert, dafs das für sich allein unwirksame Hemiagglutinin sich jetzt ebenfalls an das Bakterium anlagern und dasselbe zur Haufenbildung bringen kann.

7. Die Hemiagglutinine im freien Zustande lassen sich in verschiedenen, teils agglutinierenden, teils nicht agglutinierenden Flüssigkeiten nachweisen; am reichlichsten scheinen sie im Exsudate intraperitoneal mit Typhus inficierter Meerschweinchen aufzutreten, ohne dafs man ihnen aber deswegen eine Spezifität zuschreiben dürfte.

8. Durch diese Ergänzungsmöglichkeit der freien haptophoren Gruppe, des Agglutinophors, durch eine freie zymotoxische, das Hemiagglutinin, wird der ersteren der Charakter eines Amboceptors verliehen. Das fertige Agglutinin gehört daher in die Reihe der Rezeptoren dritter Ordnung nach Ehrlich, während die Rezeptoren zweiter Ordnung, bei denen die beiden Gruppen untrennbar verbunden sein sollen und für welche kein weiteres sicheres Beispiel bekannt ist, als die bisher dazu gerechneten Agglutinine, nicht länger aufrecht erhalten werden können.

9. Infolge der Besetzung eines Typhusbakteriums mit dem isolierten Agglutinophor wird dasselbe in einer Flüssigkeit, welche nur fertige Agglutinine enthält, inagglutinabel.

10. Eine derartige Besetzung erfolgt unter natürlichen Verhältnissen in der Bauchhöhle intraperitoneal mit Typhus infizierter Meerschweinchen. Während dieser Infektion kommt es anfänglich zur reichlichen Bildung von freien Hemiagglutininen; Beweis dafür die Möglichkeit, mit frühzeitig entnommenen Exsudaten freie Agglutinophore ergänzen zu können. Daneben werden auch Agglutinophore gebildet, aber in geringer Menge. Dieselben treten sofort mit den Hemiagglutininen zu fertigen Agglutininen zusammen; Beweis dafür das rudimentäre Auftreten von Haufenbildungen im Exsudate, kurze Zeit nach der Infektion. Etwa 3 Stunden nach Einspritzung gröfserer Kulturmengen hört die Bildung der freien Hemiagglutinine auf, während die der Agglutinophore andauert, unter fortwährender Bindung derselben an die im Exsudate befindlichen Bakterien; Beweis dafür ist das Aufhören der spontanen Haufenbildung im Exsudate und das Versagen der Wirkung eines Immunserums gegen die jetzt die Peritonealhöhle einnehmenden Mikroben.

11. Bei der Infektion mit Choleravibrien unterbleibt eine weitgehende Ausbildung freier Agglutinophore; denn die Vibrien im Exsudate sind der Wirkung eines Immunserums zugänglich. Sonst aber läßt sich auch für ein Choleraserum die Zusammensetzung der Agglutinine aus Agglutinophor und Hemiagglutinin nachweisen.

12. Über die Art und Weise der Wirkung der zymotoxischen Gruppe, des Hemiagglutinins, geben die Versuche noch keinen Aufschluß.

---

Nachsatz zur Korrektur: Während der Drucklegung erschien aus dem Paltauf'schen Institute eine inhaltsreiche Mitteilung über ein ähnliches Thema von Eisenberg und Volk (Wiener klinische Wochenschrift, 1901, Nr. 50). Obgleich die kurzen Angaben der Autoren einen vollen Einblick in die wichtigen und interessanten Ergebnisse ihrer Untersuchungen noch nicht recht gewähren, so bilden doch die Punkte 15 bis 17 der Arbeit eine deutliche Bestätigung der vorstehend mitgeteilten Versuchsergebnisse. Die von den Herren Verfassern konstatierte Übereinstimmung der Konstitution der agglutinierbaren Bakteriensubstanz mit den bakteriellen Giften (Punkt 8—11) gewährt eine Klarstellung der so verwickelten Verhältnisse, welcher eine hohe Bedeutung zukommt. Nur bezüglich des Namens »Agglutinoid«, welchen die Herren Verfasser der bindenden Gruppe des Agglutinins geben, möge die Priorität zu gunsten der oben angewendeten Bezeichnung: »Agglutinophor« gewahrt bleiben. Der Überfluß an Namen, über den die Immunitätslehre verfügt, rechtfertigt dieses Ersuchen selbst dann, wenn sich Differenzen in der intimeren Auffassung der bindenden Gruppe zwischen der Ansicht der Herren Autoren und der oben vertretenen herausstellen sollten.

---





# ARCHIV FÜR HYGIENE.

(BEGRÜNDET VON **MAX v. PETTENKOPFER.**)

UNTER MITWIRKUNG  
VON

Prof. Dr. O. BOLLINGER, München; Prof. Dr. BONHOFF, Marburg a. L.; Prof. Dr. R. ENMERICH, München;  
Prof. Dr. F. ERISMANN, Zürich; Prof. Dr. HEIM, Erlangen; Prof. Dr. A. HILGER, München; Prof. Dr.  
F. HUEPPE, Prag; Prof. Dr. KABRHEL, Prag; Prof. Dr. F. KRATSCHMER, Wien; Prof. Dr. K. LEHMANN,  
Würzburg; Prof. Dr. LODE, Innsbruck; Prof. Dr. L. PFEIFFER, Rostock; Generalarzt Dr. J. PORT,  
Würzburg; Prof. Dr. W. PRAUSNITZ, Graz; Prof. Dr. F. RENK, Dresden; Prof. Dr. SCHOTTELIUS,  
Freiburg i. B.; Generaloberarzt Dr. A. SCHUSTER, München; Prof. Dr. WERNICKE, Posen.

HERAUSGEGEBEN

VON

**J. FORSTER, M. GRUBER, FR. HOFMANN, M. RUBNER,**

O. Ö. PROFESSOREN DER HYGIENE UND DIRECTOREN DER HYGIENISCHEN INSTITUTE AN DEN UNIVERSITÄTEN ZU  
**STRASSBURG                      WIEN                      LEIPZIG                      BERLIN.**

**DREIUNDVIERZIGSTER BAND.**



**MÜNCHEN UND BERLIN.**

**DRUCK UND VERLAG VON R. OLDENBOURG.**

**1902.**

# Inhalt.

	Seite
Untersuchungen über die Reifung von Weichkäsen. Von Dr. Stanislaus Epstein, Assistenten am Institute. (Aus dem hygien. Institute der k. k. deutschen Karl-Ferdinands-Universität Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe) . . . . .	1
Über den Einfluß des Windes auf die Atmungsgröße des Menschen. Von Privatdozent Dr. Heinrich Wolpert. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . . .	21
Über die baktericide Wirkung von Blutserum und Blutplasma. Von Dr. med. Alfred Pettersson. (Aus dem pathol. Institute in Upsala) . . . . .	49
Die Straßenhygiene im Altertume. Von Prof. Dr. H. A. Nielsen, Kopenhagen . . . . .	85
Über das Vorkommen löslicher Antimonverbindungen in Kleidungsstoffen. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann und Dr. Franz Göbel. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg) . . . . .	116
Über die Bedeutung der Zerkleinerung und des Kochens der Speisen für die Verdauung. Von Prof. Dr. K. B. Lehmann in Würzburg. Nach in Gemeinschaft mit den Herren Dr. Felix Meyer aus Magdeburg und Dr. Moritz Götz aus Fischach ausgeführten Untersuchungen. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg) . . . . .	123
Über die Wirkung des Einlegens von Fleisch in verschiedene Salze. Von Dr. phil. Kuschel, früher Assistent am hygienischen Institut der Universität Berlin . . . . .	134
Bakterielles Verhalten der Milch bei Boraxzusatz. Von Marinestabsarzt Dr. Albrecht P. F. Richter, Assistent. (Aus dem hygienischen Institut der Königl. Universität Berlin) . . . . .	151
Über die Verfahren und Apparate zur Entwicklung von Formaldehyd für die Zwecke der Wohnungsdesinfektion. Von Dr. Eugen Mayer, Stabsarzt, früher Assistent am Institut, und Dr. Heinrich Wolpert, Privatdozent, Oberassistent am Institut. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . . .	157



	Seite
Über die Verstärkung der Desinfektionswirkung des Formaldehyds durch allseitigen künstlichen Innenwind. Von Dr. Eugen Mayer, Stabsarzt, früher Assistent am Institut, und Dr. Heinrich Wolpert, Privatdozent, Oberassistent am Institut. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . . .	171
Über den Einfluss der Lufttemperatur auf die Desinfektionswirkung des Formaldehyds. Von Dr. Eugen Mayer, Stabsarzt, früher Assistent am Institut, und Dr. Heinrich Wolpert, Privatdozent, Oberassistent am Institut. (Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin) . . . . .	221
Studien zur relativen Photometrie. Vom Dozenten Dr. Stanislav Růžička, Assistenten am Institut. (Aus dem hygienischen Institute des Prof. Dr. G. Kabrhel in Prag) . . . . .	232
Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen, nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. Von Dr. med. et phil. Teisi Matzuschita aus Nippon. (Aus dem botanischen Institut der Universität Halle a/S) (Mit Tafel I und II) . . . . .	267

# Untersuchungen über die Reifung von Weichkäsen.

Von

**Dr. Stanislaus Epstein,**

Assistenten am Institute.

(Aus dem hygienischen Institute der k. k. deutschen Karl-Ferdinands-Universität Prag. Vorstand: Prof. F. Hueppe.)

Die moderne Bakteriologie hat im Molkereiwesen große Fortschritte angebahnt. Wenn in dieser Beziehung auch zunächst wissenschaftliche Ziele maßgebend waren, so konnten doch bald auch der Praxis wertvolle Anregungen gegeben werden.

Die Untersuchungen über die Zersetzungen der Milch durch Mikroorganismen führten zunächst zum Verständnisse über den Keimgehalt der Milch überhaupt. Damit wurde eine Vorfrage für alle anderen Untersuchungen exakt lösbar, nämlich die Frage der Sterilisation der Milch. Wir besitzen jetzt nach den Forschungen von Hueppe mehrere Methoden, welche ein Sterilisieren der Milch ermöglichen.

Der zweite Fortschritt für die Praxis bestand darin, daß man nach Hueppe durch Reinkulturen von Milchsäurebakterien, sogen. Säurewecker, in der Lage ist, Butter von ganz bestimmten Eigenschaften zu gewinnen.

Der dritte praktische Fortschritt wurde angebahnt für die Herstellung des neben der Butter wichtigsten Milchproduktes, des Käses, gleichfalls durch Verwendung von Reinkulturen.

In dieser Hinsicht lagen bereits gewisse praktische Erfahrungen vor, welche zeigten, daß bestimmte Arten von Kleintierbewesen auf das fertige Produkt von großem Einflusse sind. In dieser Beziehung ist die Verwendung des sogen. Edelpilzes (Varietäten von *Penicillium glaucum*) bei Roquefort und Gorgonzola längst bekannt. Man kann auch mit einiger Wahrscheinlichkeit annehmen, daß in Gegenden, in denen seit langer Zeit Käse bestimmter Art hergestellt werden, unabsichtlich wohl längst reine Massenkulturen bestimmter Bakterien in Betracht kommen.

Klare Vorstellungen in dieser Hinsicht finden wir aber erst bei F. Cohn<sup>1)</sup>, welcher das Reifen des Käses mit der Vegetation des *Bacillus subtilis* in Verbindung brachte. Damit war die Käseerzeugung zugleich in schroffen Gegensatz gesetzt zur Gerinnung des Käsestoffes durch Milchsäurebakterien, weil das Erweichen der Käse beim Reifen als eine Auflösung des Käsestoffes gedeutet wurde. Die nächsten exakten bakteriologischen Untersuchungen ergaben in der That grundsätzliche Unterschiede in dem Verhalten verschiedener Bakterienarten gegenüber der Milch und dem aus der Milch ausgeschiedenen Käsestoff. Schon Pasteur hatte gelegentlich in der Milch, wenn sie beim Versuche der Sterilisierung nicht durch Säurebakterien zur Gerinnung gebracht war, trotz dieser Konservierung durch Erhitzen »Infusorien« beobachtet, die Cohn a. a. O. für Buttersäurebakterien hielt. Nägeli<sup>2)</sup> glaubte ähnliche Beobachtungen im Sinne der Umwandlung einer Bakterienart in eine andere deuten zu können, indem er annahm, daß die Milchsäurebakterien durch Erwärmen in andere Modifikationen übergehen, welche andere Wirkungen hervorrufen.

Diese Frage wurde von Hueppe<sup>3)</sup> dahin gelöst, daß er zwei Arten der Kaseinausscheidung durch Bakterien sicherstellte; die eine Gerinnungsweise erfolgt unter der Wirkung der Milchsäurebakterien dadurch, daß diese so viel Säure bilden, daß das

1) Beitr. z. Biologie d. Pflanzen, 1872, Heft 2, S. 172; 1875, Heft 3, S. 193.

2) Die niederen Pilze, 1877, S. 21, 63.

3) Mitteilungen aus dem kais. Gesundheitsamte, II, 1884.

Kasein ausgeschieden wird; die andere erfolgt durch Bakterien, welche ohne wesentliche Änderung der Anfangsreaktion oder bei alkalischer Reaktion das Kasein durch ein labähnliches Enzym zur Ausscheidung bringen. Das so ausgeschiedene Kasein wird dann durch proteolytische Enzyme mehr oder weniger gelöst, wobei gleichzeitig die weiße Farbe des Käsestoffes in Gelb übergeht und meist gleichzeitig eine Änderung des Geschmacks, z. B. Bitterwerden, eintritt und verschiedene Gerüche auftreten, die von angenehmem Aroma bis zum unangenehmen Gestank wechseln können. Ganz besonders finden sich Bakterien, welche derartige Wirkungen ausüben, unter den Sammelspezies der Heu-, Buttersäure-, Erd- und Kartoffelbakterien.

Duclaux<sup>1)</sup> hatte schon vor dieser Feststellung von Hueppe und in Anlehnung an den Gedankengang von Cohn in ausgedehnten Untersuchungen die bestimmte Ansicht ausgesprochen, daß Bakterien, welchen er den Namen Tyrothrix beilegte, die Käsereifung veranlassen. Diese Tyrothrixarten gehören übrigens, wie Hueppe später an alten eingeschmolzenen Kulturen feststellte, die von Duclaux zugesetzt waren, ohne Ausnahme den obengenannten Sammelspezies an.

Diese Identifizierung der Duclauxschen Tyrothrixarten mit den peptonisierenden gewöhnlichen Arten mußte in Verbindungen mit den Ermittlungen Hueppe's über die Wirkungsweise dieser Arten die Auffassung von Cohn und Duclaux über die Käsereifung ausschließlich durch peptonisierende Bakterienarten zunächst stützen.

Nur ließen sich die großen Unterschiede im Verhalten von Hart- und Weichkäse nicht so leicht mit diesen Vorstellungen in Einklang bringen, und es stimmte mit der Auffassung von verschiedenen Bakterienarten als spezifischen Erregern der Reifung besonderer Käsesorten schlecht zusammen. Mindestens hätte man erwarten müssen, daß wenigstens verschiedene Gruppen von Käsen auch verschiedene Gruppen, selbst verschiedene Arten von Bakterien causal erkennen ließen.

1) Le Lait, 1882.

Die Feststellung der Beziehungen der Bakterien als der äußeren Erreger von Gärungen zu dem gärungsfähigen Material, als der inneren Anlage, und zu den äußeren Gärungsbedingungen, die Hueppe<sup>1)</sup> gab, klärte manches auf. So muß erfahrungsgemäß die Milch zur Darstellung von Hart- oder Weichkäsen bei verschiedenen Temperaturen, kürzer oder schneller gelabt, das Koagulum in verschiedener Weise gepreßt und bei verschiedenen Temperaturen zur Reife gebracht werden. Dies erscheint uns jetzt fast selbstverständlich, da derartige verschiedene Vorbedingungen ein Material liefern müssen, welches in ganz verschiedener Weise für Gärungsvorgänge disponiert oder veranlagt ist. Diese Vorgänge, in deren Verwertung die Erfahrung der Theorie vorausgegangen ist, bedürfen jetzt gerade so gut wie die bakteriologischen Ermittlungen sorgfältiger wissenschaftlicher Prüfung, wenn man Käse einer bestimmten Gattung herstellen will.

Aber auch bei Berücksichtigung dieser Verhältnisse liegen sowohl praktische wie wissenschaftliche Erfahrungen vor über die Käsereifung, die mit den Vorstellungen von Cohn und Duclaux nicht in Einklang zu bringen sind.

In Holland hat man schon seit längerer Zeit gelegentlich saure Molken der zu labenden Milch zugesetzt; man wollte damit zunächst das Laben selbst günstiger und gleichmäßiger gestalten und hat in dieser Hinsicht erfahrungsgemäß etwas festgestellt, was wissenschaftlich erst in den letzten Jahren genauer ermittelt wurde; Milch nämlich, welche so hoch erhitzt ist, daß sie bei ihrer Anfangsreaktion nicht mehr durch Lab koaguliert wird, kann bei Zusatz von saurer Molke oder unter vorheriger Einwirkung von Milchsäurebakterien wieder in normaler Weise durch Lab zur Gerinnung gebracht und damit zur Käsefabrikation verwendet werden. Man begreift auf diese Weise einigermaßen, weshalb sich der Irrtum von Soxhlet so lange halten konnte,

---

1) Über einige Prinzipienfragen der Gärungsphysiologie; Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen, 1888, Nr. 7, und Über die Ursachen der Gärungen und Infektionskrankheiten und deren Beziehungen zum Causalproblem und zur Energetik, Berlin 1893.

dafs Lab- und Säuregerinnung identisch seien. Derartige Erfahrungen über günstige Beeinflussung der Labwirkung durch saure Molke hatten Persyn<sup>1)</sup> dazu geführt, saure Molken bestimmter Beschaffenheit planmäfsig für die Herstellung von Hartkäsen in Holland in Betracht zu ziehen. Persyn hat auf empirischem Wege ermittelt, dafs die saure Gärung, die bei den Holländischen Hartkäsen von entscheidender Bedeutung ist, und in seinen weiteren Versuchen mit Hueppe wurde mit voller Sicherheit festgestellt, dafs nach erfolgter Labwirkung die absichtlich mit der sogen. »langen Wei« zugewetzten Milchsäurebakterien (*Streptococcus Hollandicus* Hueppe) die besondere Richtung der Käsereifung in diesen Hartkäsen herbeiführen. Damit war wissenschaftlich und praktisch zum erstenmal ermittelt, dafs die Reifung bestimmter Hartkäse durch Milchsäure-Erreger eingeleitet und vielleicht zu Ende geführt wird. Ähnliche Erfahrungen über den Nutzen von saurer Molke bei der Herstellung von Emmenthaler Käse hat v. Freudenreich<sup>2)</sup> zum Ausgange von Untersuchungen benutzt, die ergaben, dafs auch für die Schweizer Hartkäse jedenfalls die Säurebakterien das Bestimmende sind. Ich<sup>3)</sup> selbst habe dann in exakter Weise mit Reinkulturen und sterilisierten Medien festgestellt, dafs die Arten der Milchsäurebakterien für die Einleitung und den Verlauf der Reifung von Hartkäsen entscheidend sind. Über günstige Erfahrungen bei Verwendung von Milchsäurebakterien bei der Käsereifung berichtet auch J. R. Campbell<sup>4)</sup>. Er erzielte bei der Herstellung von Cheddarkäsen vorzügliche Resultate durch Anwendung von reinen Massenkulturen — im Hueppe'schen Sinne — von Milchsäurebakterien. Dazu diente eine mehrmals umgezüchtete saure Milch, in der die Milchsäurebakterien vorherrschen.

Er nennt eine solche Kultur »a homemade starter«. Es ist selbstverständlich, dafs je nach dem Ausgangsmaterial und nach

1) Milchzeitung, 1889, Nr. 22.

2) Centralblatt f. Bakteriologie, 1895, Abt. II, Bd. XVII, S. 168, 230, 271, 342, 854.

3) Archiv f. Hygiene, 1900, Bd. 37, S. 329.

4) Exp. Stat. Record Wash., 1899, II, 283; citiert nach Weigmanns Referat in Chemiker Zeitung, 1900, Nr. 96.

der Art des Arbeitens solche »reine« Massenkulturen wirkliche Reinkulturen sein können, wie dies Grotenfelt<sup>1)</sup> festgestellt hat, oder daß sie neben Milchsäurebakterien auch andere auf sauerem Nährboden wachsende Bakterien mitenthalten. In der Regel findet man unter solchen Umständen keine so reichhaltige Flora, wie die Gegner von Freudenreich meinen. Oft sind mehrere Varietäten von Milchsäurebakterien vorhanden, oft aber auch Reinkulturen einer Art oder Varietät. Das Letzte wird um so wahrscheinlicher, wenn in einer Molkerei jahrelang nach demselben Verfahren eine bestimmte Käsesorte hergestellt wird.

Diese Erfahrungen aus Amerika stehen im vollen Einklange mit den Erfahrungen in der Schweiz und Holland. Man muß schon sehr voreingenommen sein, wenn man diese grundlegenden Thatsachen für die Reifung der Hartkäse nicht achten will, wie dies besonders von Weigmann geschieht. Diese »primäre« Reifung durch den ganzen Käse durch ist für den Verlauf der Reifung und das Aussehen der Hartkäse von entscheidender Bedeutung.

Daneben können die Milchsäurebakterien noch die Bedeutung haben, daß sie andere Bakterien beseitigen oder in Schach halten, welche ohne dieses Moment sogen. »Krankheiten« des Käses verursachen können.

Nach dem Aussehen der reifen Käse zu urteilen, könnte aber auch bei Hartkäsen noch eine »sekundäre« Reifung von außen nach innen mitbeteiligt sein. In diesem Sinne werden die Resultate verständlich, die Adametz und Klecki<sup>2)</sup> erhielten, indem sie Emmenthaler Käse mit einer, *Bacillus nobilis* genannten Tyrothrixart herstellten. Diese Ermittlungen werden aber neuerdings von Freudenreich und Orla Jensen bestritten. Hält man an der Möglichkeit fest, daß an der Rinde wachsende Keime nach innen vordringen oder durch Enzyme Wirkungen ausüben können, so bedürfen gerade bei Hartkäsen diese Dinge sorgfältigerer Untersuchungen, als sie in den letzten

1) Fortschritte der Medizin, 1889, VII, Nr. 2 u. 4.

2) Österr. Molkerei-Ztg., VI, 1900, Nr. 19—24; Österr. Molkerei-Ztg., VII, 1900, Nr. 16—18; vergl. auch Winkler in Molkerei-Ztg., 1900, Nr. 51 u. 52.

Jahren erfahren haben. Es ist bis jetzt gar nicht berücksichtigt, daß gerade die Veränderungen, welche die Eiweißkörper im Käse durch die Vegetation der Milchsäurebakterien erfahren, die Vegetation und Wirkungsweise der von der Oberfläche wirkenden Keime beeinflussen müssen. Dann ist bis jetzt nicht berücksichtigt worden, daß bei denjenigen Käsen, deren Oberfläche stark gesalzen wird, dieser Salzgehalt auf das Leben der Keime von größtem Einflusse sein muß, wie dies durch die Untersuchungen von Petterssen<sup>1)</sup> für die Reifung der Fischkonserven nahe gelegt wird, die manche Analogie mit der Käsercifung bieten. Wir behalten uns diese Untersuchungen vor.

Wenn ich diese Arbeiten zunächst nicht in Angriff genommen habe, so lag es daran, daß die Reifung der Weichkäse es zu ermöglichen schien, diese Frage von einem anderen Gesichtspunkte aus zu bearbeiten.

Die Milch und die aus ihr gewonnenen Produkte sind infolge ihrer chemischen Zusammensetzung geeignet, den heterogensten Bakterien- und Pilzarten günstige Existenzbedingungen zu bieten, so daß bekanntlich die Milch bei der bakteriologischen Differentialdiagnose längst eine große Bedeutung erlangt hat. Im Verlaufe der Zersetzungen durch die eine oder andere Art ändern sich die Produkte und damit werden weitere neue Lebensbedingungen für andere Arten geschaffen. Gerade die methodischen Schwierigkeiten, die sich daraus ergeben, haben es so lange verhindert, die Zersetzungen der Milch an der Hand von Reinkulturen zu untersuchen, bis die Vorversuche von Pasteur und Lister einen vorläufigen Einblick gewährten, und die Versuche von Hueppe die erste Lösung brachten. Trotzdem wir demnach eigentlich sowohl im Ausgangsmaterial, der Milch, als in den zur Käseherstellung daraus hergestellten Produkten erwarten mußten, jedesmal eine außerordentliche Vielheit der Bakterienflora zu finden, ist dies in Wirklichkeit durchaus nicht in so hohem Grade der Fall. Wenn man von den *Penicillium*-Vegetationen bei Gorgonzola und Roquefort absieht, so erkennt

---

1) Archiv f. Hygiene, 1900, Bd. 37, S. 171.



man bald, daß die überaus wechselnden Pilzvegetationen meist nur sekundärer Art sind, daß sie meist erst auf Kosten des Käses leben, denselben unangenehm beeinflussen, sich an der Bildung der spezifischen Eigenschaften aber nicht beteiligen. Nur für einige Weichkäse bedarf noch die Rolle der Pilze einer genauen Untersuchung nach der Richtung, ob dieselben für deren Reifung oder den Geschmack unerläßlich sind. Die Untersuchungen sind bereits in Gang und wird darüber bald berichtet werden. Für die meisten Hart- und Weichkäse kommt dieser Faktor jedoch nicht primär in Betracht.

Untersucht man nach diesen Ermittlungen die Hartkäse, so fällt ohne Rücksicht auf das Reifungsstadium im allgemeinen eine Armut an Tyrothrixarten auf, welche Arten noch dabei sehr wechseln, während sich die Milchsäure-Erreger in typischen Verhältnissen vorfinden. Gerade umgekehrt ergaben Untersuchungen über Weichkäse eine relative Armut der konstant vorhandenen Milchsäurebakterien gegenüber dem Reichtum an peptonisierenden Arten. Das veranlaßte mich nunmehr, den Camembert-Käse einer besonderen Untersuchung zu unterwerfen; ich benutzte zu den definitiven Versuchen die beste Qualität — le favorit — der Firma Le Breton & Aussenac in Paris, zur Orientierung auch die sehr gute Qualität Jockey-Club der Firma Früh & Maurice in Paris. Im ganzen habe ich 20 Camembert-Käse von verschiedenen Daten der ersten Art genauer untersucht.

Während Façon-Weichkäse aus Böhmen in Aussehen, Geruch, Geschmack, Bakterienbefund außerordentlich schwankten, zeigten von diesen 20 Käsen 19 ein gleichmäßiges Aussehen und denselben tadellosen Geschmack und Geruch, nur einer entsprach nicht den Anforderungen eines erstklassigen Produktes, aber wohl nur wegen sekundärer Schimmelvegetation. Man ersieht daraus, daß es ebenso wie bei Hartkäsen auch bei Weichkäsen gelingt, in der Praxis gleichmäßige Bedingungen herzustellen, die — wie in der Gärungsindustrie überhaupt — einem Arbeiten mit reinen Massenkulturen entsprechen.

In jedem einzelnen Falle wurden unter den entsprechenden Vorsichtsmaßregeln für steriles Arbeiten von verschiedenen

Stellen, von der Oberfläche und aus dem Innern, Partikelchen entnommen für mikroskopische und kulturelle Prüfung. Die entnommenen Partikel wurden durch Zerreiben und Schütteln in steriler Bouillon oder physiologischer Kochsalzlösung möglichst gleichmäßig verteilt und dann zu den Versuchen verwendet. Außer den gewöhnlichen aëroben Platten wurden auch anaërober Kulturen angelegt. Wegen einer Kontroverse zwischen v. Freudenreich und Weigmann über die Mitbeteiligung anaërober Bakterien war dies erforderlich. Mit Rücksicht auf die Temperatur wurde Gelatine und Agar-Agar verwendet, die Kulturen wurden bei Zimmertemperatur und bei 30—32° gehalten.

Als Lösungen kamen in Betracht Bouillon, Molke, Kasein-Kali und Parakasein-Kali. Das Kasein-Kali wurde aus Milch durch Fällen mit Milchsäure gewonnen, sorgfältig reingewaschen, durch Extraktion mit Äther von Fett befreit, im Vakuum getrocknet und nach Bedarf in möglichst geringer Menge von  $\frac{1}{10}$  Normal-Kalilauge gelöst. Für die Nährböden wurden 2% dieses Stoffes verwendet. Das Parakasein-Kali wurde in analoger Weise hergestellt, nachdem die Ausfällung durch Lab vorgenommen worden war. Zum schnellen Erkennen der säurebildenden Bakterien und zur Differenzierung gegen die anderen wurde den Nährböden 2% Milchzucker und feingeschlemmte Kreide zugesetzt.

Es sei gleich vorausgeschickt, daß sich in sämtlichen 20 Käsen konstant zwei Organismen fanden, ein peptonisierendes Kurzstäbchen und ein Milchsäure bildender Kokkus; in einigen der Käse kamen nur diese zwei Arten vor; in anderen fand sich noch ein weder Säure noch Pepton bildende Bakterienart; in anderen waren daneben andere Organismen vorhanden.

Die Schnittfläche der Käse zeigte in verschiedenem Grade der Ausbildung dasselbe Verhalten. Die oberflächliche Schicht ist gleichmäßig schmierig von gelblicher Farbe; dann folgt eine gelbliche speckige Zone und darauf ein feucht glänzender weißer, spärlich und fein gelochter Kern. Die Verteilung der Bakterien im Käse ist ganz charakteristisch, und der mikroskopische Befund und das kulturelle Verhalten stehen in vollem Einklang.

In der oberflächlichen schmierigen Schicht ist die üppigste Bakterienvegetation mit Vorherrschen von Kurzstäbchen; die unregelmäßig vorhandenen und wechselnden accidentellen Keime finden sich nur in der oberflächlichen Schicht, wenigstens habe ich sie nur dort gefunden; die Reaktion dieser Schicht ist alkalisch. Die zweite speckige Schicht unter der Oberfläche läßt einen Wechsel der Bakterienflora erkennen, nach der Oberfläche zu ist sie reichlich durchsetzt von den Kurzstäbchen, diese nehmen dann nach innen zu ab und fehlen unmittelbar über dem weißen Kern ganz. Dafür treten an dieser Stelle vereinzelt Säurebakterien auf; in dieser Übergangsschicht ist die Reaktion schwach alkalisch bis neutral. Ganz durchgereifter Käse ist überall alkalisch.

In dem weißen Kern finden sich nur und reichlich Milchsäurebakterien und saure Reaktion. Man ersieht daraus in klarster Weise, daß die Reifung dieser Weichkäse von der Oberfläche nach dem Innern fortschreitet. Die in der Erweichung sich ausprechende starke Peptonisierung der Grundsubstanz ist am intensivsten und weitesten fortgeschritten, wo die Vegetation der peptonisierenden Bakterien am längsten und intensivsten gewirkt hat, das ist an der Oberfläche. Nach innen zu geht die Wirkung der diffundierenden löslichen Stoffwechselprodukte und der Enzyme der peptonisierenden Bakterien der Vegetation der Bakterien voran. Die alkalischen Stoffwechselprodukte (Ammoniak!) neutralisieren die Milchsäure des Kerns und machen Schicht für Schicht das Material ungeeigneter für die Vegetation der Milchsäurebakterien. Diese sterben infolgedessen von der Oberfläche nach dem Innern schichtweise ab, ihre Leibessubstanz wird vielleicht durch die peptonisierenden Enzyme der anderen Art aufgelöst, während die letzteren das weiße Parakasein verflüssigen und gelblich verfärben. Durch das Wirken der Milchsäurebakterien im Innern und die Notwendigkeit, die Stoffwechselprodukte der Milchsäurebakterien zu neutralisieren, dürfte wohl ein zu intensives Peptonisieren der ganzen Käsemasse und ein vollständiges Verflüssigen derselben verhindert werden. Zum guten Resultate ist das Nacheinander- und Nebeneinanderwirken beider Arten unerläßlich.

Ich führe nun die Ermittlungen an den einzelnen Käsen an:

Nr. 1. In diesem Käse kommen nur zwei Arten zur Entwicklung:

a) Aus den oberflächlichen Partien entwickelt sich eine *Tyrothrix*art **a**, wie ich mich kurz ausdrücken will, das heißt eine Art, welche ein peptonisierendes Enzym ausscheidet. In Gelatineplatten waren die Kolonien rundlich mit feingezacktem Rande, von gelblich weißer Farbe; bald tritt ein Verflüssigungshof ein, an dessen Grunde die Kolonien keine besondere Anordnung zeigen, später tritt intensive Verflüssigung der Gelatine ein. Im Gelatine-Stich und -Strich tritt schnell Verflüssigung ein, ehe es zur Bildung von charakteristischen Kolonien kommt. Auf Agar-Agar sind die Kolonien rund, von gelblich weißer Farbe. Im Agarstrich entwickelt sich eine breite, gelblich weißer, schmierige Auflagerung. Auf Platten mit kohlenauerem Kalk tritt keine Aufhellung in der Umgebung der Kolonien auf, die Bakterien bilden also keine Säure. Mikroskopisch färben sich die Bakterien gut. Bildung von endogenen Sporen wurde nicht beobachtet. Bei stärkerer Vergrößerung erscheinen die Organismen in Gelatine ohne besondere Anordnung, meist vereinzelt in Form von ganz kurzen, fast eiförmigen Stäbchen; in Agar und Bouillon sind es deutliche Kurzstäbchen, oft mit stärkerer Polfärbung; eine besondere Eigenbewegung wurde nicht wahrgenommen. Die Bakterien sind streng aërob.

b) Aus dem weißen Kern des Käses entwickelte sich eine säurebildende Art **b**. In Gelatine sind die Kolonien kugelförmig, von weißer Farbe, an der Oberfläche knöpfchenartig rund, von glänzend weißer Farbe. Im Gelatinestich bilden sie je nach der Menge des Materials einen Faden aus mehr oder weniger dichtgedrängten einzelnen Kolonien. An der Oberfläche der Stichöffnung ragen dieselben kaum über die Gelatine empor. Auf dem Gelatinestrich bildet sich eine schmale weißer, scharf abgesetzte Auflagerung. Die Gelatine nahm infolge der Vegetation einen schwach aromatischen Geruch an. Auf und im Agar sind es ebenfalls weißer rundliche Kolonien ohne besondere Merkmale. Auf Agarstrich ist das Wachstum etwas stärker wie

auf Gelatine. Auf Milchzucker-Nährboden mit kohlensäurem Kalk tritt um die Kolonien infolge der Auflösung von kohlensäurem Kalk ein lichter Hof auf; die Bakterien bilden also eine Säure. Mikroskopisch sind es in allen Nährböden Kokken, die in Ketten angeordnet sind, von denen ich solche bis zu 30 Einzelgliedern gesehen habe; Besonderheiten in der Färbung habe ich nicht wahrgenommen; diese Streptokokken sind fakultativ aerob und scheinen bei Luftabschluss eher besser zu wachsen. Diese Art ist bis jetzt nicht beschrieben, vielleicht ist sie identisch mit einer von Storch<sup>1)</sup> beobachteten, aber nicht weiter studierten Art.

Nach dieser Orientierung will ich jetzt kurz die Befunde bei den anderen Käsen angeben:

Käse Nr. 2, es fand sich Art **a** und **b**, daneben noch eine dritte **c**, welche aus schmalen Stäbchen bestand, deren Kolonien in Gelatine und Agar nichts Besonderes boten, die weder Säure bildeten, noch peptonisierten;

Käse Nr. 3, wie bei 1 nur **a** und **b**;

Käse Nr. 4, Bakterien **a** und **b** gefunden; daneben eine Hefe, welche Ascosporen bildete, mit Ausnahme von Milchzucker alle Zuckerarten vergärte und zu der Gruppe der Spiritushefen gehörte;

Käse Nr. 5, wie 1 nur **a** und **b**;

Käse Nr. 6, **a** und **b** und daneben vereinzelte Sprosszellen einer Torula-Art;

Käse Nr. 7, Nr. 8, Nr. 9, Nr. 10, nur **a** und **b**;

Käse Nr. 11, **a** und **b**, an der Oberfläche eine dichte Vegetation von *Oidium lactis*, der Geruch ist weniger rein wie der der anderen;

Käse Nr. 12, Nr. 13, wie 1 nur **a** und **b**;

Käse Nr. 14, **a** und **b** und Torula wie bei 6;

Käse Nr. 15, Nr. 16, nur **a** und **b**;

Käse Nr. 17, **a**, **b** und **c**;

Käse Nr. 18, Nr. 19, Nr. 20, nur **a** und **b**.

1) Siehe Jörgensen, Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie, 4. Aufl., 1898, S. 82.

Zur weiteren Charakterisierung der Bakterien **a** und **b** sei folgendes angeführt.

Die *Tyrothrix a* wächst auf Kartoffeln mit gelblich gefärbtem dünnen Belag ohne Besonderheit. Bouillon wurde gleichmäßig getrübt, ohne Häutchen an der Oberfläche; nach einiger Zeit bildete sich ein Bodensatz. In sterilisierter Magermilch trat in den ersten Übertragungen keine Gerinnung ein, sondern vom 2.—3. Tage ab sofort eine zonenmäßig fortschreitende Verflüssigung des Kaseins, so daß nach 2 Wochen ungefähr nur ein Bodensatz vorhanden war. Nach längerer Züchtung tritt bei Überimpfung in Milch erst deutliche Ausscheidung des Kaseins und dann erst die Peptonisierung ein. Die Flüssigkeit ist anfangs gelblich durchscheinend und wird später etwas dunkler, mehr bräunlich, wenig opalisierend; die Reaktion ist alkalisch und zeigt Ammoniak- und Biuret-Reaktion. Gelatine mit Kasein-Kali und Parakasein-Kali bieten keine Besonderheiten gegenüber gewöhnlicher Gelatine.

Die Säurebakterien **b** zeigen auf Kartoffeln einen ganz feinen weißen Belag. In Bouillon zeigt sich ein sehr schwaches Wachstum am Boden, jedoch keine diffuse Trübung und keine Häutchenbildung. In Molke tritt ein sehr starkes Wachstum mit Trübung und Bodensatz, jedoch ohne Bildung von Häutchen ein. In der Milch erfolgt in 18 Stunden eine homogene Gerinnung ohne sichtbare Gasbildung; mit Lackmus gefärbte Milch und Molke werden erst rot, dann entfärbt.

Die oben erwähnten anderen Organismen habe ich auch auf den verschiedenen Nährböden untersucht, unterlasse jedoch eine nähere Beschreibung, weil dieselben für die Käsereifung ohne Bedeutung sind.

#### **Verhalten der Bakterien a und b in Molke.**

Die zur Untersuchung verwendete Molke wurde jedesmal in zwei Teile geteilt zu je 300 ccm und durch Kochen oder mittels Filtrierens durch Berkefeldfilter keimfrei gemacht; der eine Teil blieb ohne Zusatz, der zweite wurde mit Calciumkarbonat versetzt zur Bindung der Säuren.

Bei Impfung mit dem Säureorganismus **b** entwickelte sich in der anfangs gelblich opalisierenden Flüssigkeit schon in 24 Stunden eine starke Trübung; nach 24 Stunden verbrauchten 25 ccm mit Lackmus als Indikator 2,5 ccm  $\frac{1}{10}$  Normal-KHO, nach 48 Stunden 4,2 ccm  $\frac{1}{10}$  Normal-KHO, nach 72 Stunden 4,65 ccm  $\frac{1}{10}$  Normal-KHO; in 100 ccm waren demnach als Milchsäure berechnet vorhanden 0,1712 g. Nach dieser Zeit trat keine weitere Zunahme der Säure ein, und unter Bildung eines Bodensatzes klärte sich die Lösung wieder.

Um die Säurebildung auf verschiedene Zuckerarten zu prüfen, habe ich verschiedene Zuckerarten in stark verdünnter Bouillon mit dem Organismus geimpft und dann die Säure in 25 ccm mit  $\frac{1}{10}$  Normal-Kalilauge bestimmt. Das Resultat ergibt folgende Tabelle:

Zuckerart	in 24 St.	in 48 St.	in 72 St.	in 96 St.	in 8 Tagen
Milchzucker . . .	2,5	4,2	4,6	4,6	4,6
Traubenzucker . . .	3,0	4,5	5,4	5,4	5,4
Maltose . . . . .	1,0	2,2	2,75	2,75	2,75
Rohrzucker . . . . .	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Man sieht daraus, daß Traubenzucker am stärksten angegriffen wird, am schwächsten Maltose, gar nicht Rohrzucker.

Die mit kohlsauerem Kalk versetzte Molke war nach 2 Wochen wieder klar geworden, ein großer Teil des Kalkes war in Lösung gegangen, wie ich bei Zusatz von oxalsauerem Ammon durch Ausscheidung von oxalsauerem Kalk leicht feststellen konnte. Noch nach 4 Wochen war ein Teil des Zuckers vorhanden. Die Molke wurde filtriert, am Wasserbade eingedampft, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, wobei sich sofort ein krystallinischer Niederschlag von Gips bildete. Dieser breiartige Niederschlag wurde sofort einer Destillation unterworfen, wobei jedoch flüchtige Säuren nicht nachweisbar waren. Der im Kolben verbliebene Rückstand wurde 2 Tage mit Äther extrahiert, die ätherische Lösung hatte stark saure Eigenschaften und gab nach Verdunsten des Äthers die Uffelmannsche Reaktion. Nach Abdestillieren des Äthers verblieb eine schwach gelblich

gefärbte Flüssigkeit, aus der durch Zugabe von kohlensauerem Zink Krystalle sich bildeten, welche sich nach ihrem mikroskopischen Aussehen, Drehungsvermögen und Krystallwasser als milchsauerer Zink erwiesen. Die Milchsäure war vorwiegend Linksmilchsäure mit etwas Äthylidenmilchsäure; andere Säuren waren nicht vorhanden. Durch die Jodoformreaktion konnte im Filtrate eine Spur von Alkohol nachgewiesen werden. Bei Anaërobie war das gleiche Resultat. Die Molke nahm einen schwach aromatischen Geruch an, der jedoch nicht zu charakterisieren war.

#### **Verhalten der peptonisierenden Bakterienart a.**

Die Zubereitung der Molke war so wie im vorigen Falle. In der mit kohlensauerem Kalk versetzten Molke war scheinbar keine Lösung des kohlensauereren Kalks eingetreten. Bei Prüfung der Flüssigkeit nach 2 Monaten mit oxalsauerem Ammon zeigte sich, daß Spuren von Kalk in Lösung gegangen waren. Alkohol war nicht nachweisbar. Die ganze Lösung wurde nun filtriert, eingeeengt, mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und einer Destillation unterworfen; das Destillat hatte an Essigsäure und Buttersäure erinnernden Geruch; dasselbe wurde mit Kalilauge neutralisiert, bis zur Trockne eingedampft, und dieser Rückstand mit Schwefelsäure und Alkohol behandelt; hierbei trat ein an Essigäther und Ananas erinnernder Geruch auf. Bei der geringen Menge der flüchtigen Säuren gelang jedoch eine Isolierung nicht. Der Rückstand von der ersten Destillation wurde am Wasserbade eingedampft und mit Äther längere Zeit extrahiert; die ätherische Lösung hatte ganz schwach saure Eigenschaften. Milchsäure konnte jedoch nicht nachgewiesen werden.

Die Organismen **a** und **b** zeigen in zuckerhaltigen Lösungen ein ganz verschiedenartiges Verhalten.

#### **Verhalten der Bakterien a und b gegen Kasein.**

Das Kasein wurde in der früher erwähnten Weise hergestellt und in einer Menge von 2% in Lösung gebracht. Um die nötigen Nährsalze zu gewinnen, wurde ein hartes salzreiches Brunnenwasser verwendet, dem noch 0,1% NaCl zugesetzt wurde.



Die alkalische Reaktion wurde durch Milchsäure bis zur eben noch schwach alkalischen abgestumpft.

Der Milchsäurebacillus **b** entwickelte sich sehr üppig und behielt seine Lebensfähigkeit sehr lange; nachdem er durch 4 Monate bei 31° C. gestanden hatte, genügte ein Tropfen, um sterile Milch in 24 Stunden zur Gerinnung zu bringen. Die Eiweißkörper werden sehr wenig, aber deutlich angegriffen. Nach 4 Monaten ergibt ein Vergleich mit der sterilen Kontrollflüssigkeit, daß das Kasein abgenommen hat. In der von Kasein abfiltrierten Lösung ist von der 2. Woche ab deutlich, obwohl schwach Albumose nachweisbar, und die von Kasein befreite Lösung zeigte eine schwache, aber deutliche Färbung mit Millons Reagenz. Zur Prüfung auf aromatische Säuren wurde die Kaseinlösung mit Phosphorsäure und dann mit Äther ausgeschüttelt. Nach Verdunsten des Äthers wurde der Rückstand in Wasser gelöst; dabei erhielt man mit Millons Reagenz eine schwache Rotfärbung. Dann wurde die mit Phosphorsäure angesäuerte Lösung der Destillation unterworfen, das Destillat mit Natronlauge alkalisiert und wieder destilliert, aber kein Skatol und Indol gefunden. Der Rückstand der Natronlauge wurde mit Schwefelsäure angesäuert, dann mit Soda alkalisch gemacht und destilliert. Phenol und Kresol waren nicht nachweisbar. Zur Prüfung auf Amidosäuren wurde die Kaseinlösung mit basischer Bleiacetatlösung versetzt und der Niederschlag abfiltriert. Im Filtrat wurde das Blei mit Schwefelwasserstoff gefällt, abfiltriert, die Lösung auf ein kleines Volumen eingeeengt, wobei sich Tyrosin ausschied.

Zur Prüfung auf Pepton wurde die klare Flüssigkeit mit Phosphorwolframsäure versetzt, der Niederschlag gewaschen, in Kalilauge gelöst; er gab aber mit Kupfersulfat keine Biuretreaktion.

#### **Verhalten des peptonisierenden Bakteriums a.**

Infolge der üppigen Vegetation der Bakterien nimmt die Kaseinlösung bald eine gelbliche Farbe an. Nach 2 Wochen war Kasein nicht mehr nachzuweisen und Essigsäure gab keine Fällung. Dafür war aber Albumose mit Sicherheit nachweisbar

und von der 3. Woche ab auch Pepton und Ammoniak. Mit Millons Reagenz erhält man schwache Rotfärbung. In der früher angegebenen Weise wurde auf flüchtige und nichtflüchtige Säuren untersucht und mit Sicherheit Essigsäure, Buttersäure und Spuren von Valeriansäure nachgewiesen. Bei der Prüfung auf Amidosauren ergab sich die Anwesenheit von Tyrosin und Leucin, die Tryptophanreaktion war negativ. Bei der Prüfung auf aromatische Oxysäuren ergab der Zusatz von Millons Reagenz eine Rotfärbung. Die Prüfung auf Indol und Skatol fiel negativ aus; Phenol und Kresol waren nicht vorhanden. Nach 3 Monaten war die Kaseinlösung dunkelbraun geworden und hatte einen Geruch nach Leim und Ammoniak angenommen. Die Bakterien waren nach dieser Zeit noch lebens- und wirkungsfähig.

Dafs die Wirkung der Bakterien auf der Bildung von proteolytischen Enzymen beruht, habe ich durch zwei Versuche sichergestellt. Von einer 6tägigen, in üppiger Vegetation befindlichen Kaseinlösung wurde ein Teil mit Thymol versetzt und dadurch die Vegetation der Bakterien unterbrochen. Auf Milch übertragen, tritt eine intensive Peptonisierung des Kaseins ein. Ein anderer Teil wurde durch Berkefeldfilter filtriert, dadurch von Bakterien befreit und der Milch zugesetzt; auch in diesem Falle tritt Peptonisierung ein, nur ist dieselbe etwas schwächer als bei Anwesenheit von lebenden Bakterien.

Wie bei der Molke, so war auch beim Kasein ein deutlicher und durchgreifender Unterschied der beiden Bakterienarten festzustellen.

### **Verhalten der beiden Bakterien a und b in Parakasein.**

Wie ich<sup>1)</sup> schon in meinen früheren Untersuchungen nachgewiesen habe, kann man das Laben und die Gewinnung des Parakaseins zur Käseherstellung ganz gut unter sogen. »aseptischen« Kautelen vornehmen. Dafs man unter diesen Umständen

1) Untersuchungen über Milchsäuregärung und ihre praktische Verwertung. Archiv f. Hygiene, 1900, Bd. 37, S. 329.

etwas mehr Lab gebraucht, wie sonst üblich ist, kommt nicht in Betracht. Die mäfsig erhitzte Milch labt vollständig. Wollte man in der Praxis in einer Molkerei ganz bestimmte Bakterienarten erst einführen und heimisch machen, wie man dies in der Brauerei- und Spiritus-Industrie bereits mit Erfolg gethan hat, so würde man vielleicht eine Zeitlang vorteilhaft von erhitzter Milch ausgehen. Die Mängel, die das Erhitzen für die Labwirkung hat, könnte man dadurch ausgleichen, dafs man die Säureorganismen in steriler Molke zur Entwicklung bringt. Die auf diese Weise mit übertragene Säure würde dann nach den neueren Untersuchungen den ungünstigen Einflufs des Erhitzens auf das Laben beheben, und es bedürfte keiner anderen Zusätze, z. B. von Kalksalzen. Ist in einer Molkerei erst einmal der richtige Organismus heimisch gemacht, so kann man für den Grad des Erhitzens die rein technischen Gesichtspunkte in den Vordergrund stellen. Da das Erhitzen auf 70° C. aber ausreicht und zugleich die pathogenen Keime vernichtet, die allenfalls zu beachten sind, so können die Laboratoriumsversuche, über die ich verfüge, einen Hinweis geben, dafs die streng wissenschaftlichen Versuche sich mit den Forderungen der Praxis leicht in Einklang bringen lassen. Die Milch wurde in grofsen Kolben 3—4mal bei 70° C. erhitzt, jedesmal 6 Stunden lang, dann 12 Stunden sich selbst überlassen, und nun nochmals 2—3mal in derselben Weise erhitzt; auf diese Weise gelang es auch, grofse Portionen der Milch zu sterilisieren. Das Lab wurde wie in meiner früheren Arbeit durch Auflösen von Hansenschen Tabletten erhalten und durch Berkefeldtfilter filtriert. Zum Impfen der Milch dienten frische, 24 Stunden alte Kulturen, die in Mengen von 5 ccm für 1 l Milch verwendet wurden; die Milch wurde auf 36° C. erhitzt, dann mit den Reinkulturen gut durchgeschüttelt und bei dieser Temperatur gelabt. Auf diese Weise gelang eine gleichmäfsige Verteilung der Keime in dem ausgeschiedenen Parakasein. Die ganze Masse blieb noch einige Stunden bei Zimmertemperatur stehen, um eine kompaktere Masse zu gewinnen, wurde dann in sterilen Tüchern abgeprefst und daraus Käse geformt. Diese Käse wurden bei

Zimmertemperatur der Reifung überlassen und jede Reihe in je sechs Einzelversuchen durchgeführt.

1. Die Käse mit Milchsäurebakterien **b**, allein, blieben weiß, waren nur wenig fein gelocht und zeigten keinen besonderen Geruch und Geschmack; das Aussehen war durch die ganze Masse gleichmäßig. Im Gegensatz zu meinen früheren Versuchen, in denen die Reifung durch andere Milchsäurebakterien aus Hartkäsen allein viel weiter ging und mehrfach der charakteristische Geruch der Ausgangskäse auftrat, war in diesem Falle eine wirkliche Reifung durch diese Art der Organismen nicht vorhanden. Mit Rücksicht auf die Kontroverse zwischen v. Freudenreich und Weigmann habe ich demnach ermittelt, daß die Arten der Milchsäurebakterien sicher von großem Einflusse sind. Dies wird man bei dem weiteren Verfolgen der ganzen Frage mehr beachten müssen, als dies z. B. von Adametz geschehen ist. Diese Thatsache beleuchtet auch die Objektivität, mit der Weigmann<sup>1)</sup> meine obige Arbeit bespricht.

2. Bei Impfung mit dem peptonisierenden Bakterium **a**, allein, war die Oberfläche des Käses stark peptonisiert, die Reifungszone war aber trotzdem nicht so weit nach Innen fortgeschritten, wie in der gleich zu erwähnenden dritten Versuchsreihe. Es schien hier etwas für die Vegetation dieser aeroben Art zu fehlen, Geruch und Geschmack erinnerten an Camembert, aber nicht so, daß man von einer vollen Gleichartigkeit hätte sprechen können.

3. Gleichzeitige Impfung mit Milchsäurebakterien **b** und peptonisierenden, **a**. Die Bakterien sind sofort ziemlich gleichmäßig durch die ganze Masse verteilt. Nach eingetretener Reifung scheinen die peptonisierenden Bakterien aus dem weißen Kern verschwunden und nur die Milchsäurebakterien vorhanden zu sein. Umgekehrt sind bald an der Oberfläche nur die peptonisierenden Bakterien nachweisbar, und auch bei Impfen von steriler Milch von der Oberfläche und aus der Reifungs-

<sup>1)</sup> Chemiker-Zeitung, 1901, Nr. 96.

schicht tritt keine Säuregerinnung der Milch ein. Es hat sich demnach infolge der verschiedenen Bedingungen ein Kampf ums Dasein zwischen beiden Arten derart abgespielt, daß zunächst durch die ganze Masse hindurch und später im Innern die Milchsäurebakterien als fakultativ anaerobe begünstigt waren und die andere Art verdrängten. Dann kam aber von der Oberfläche her die peptonisierende aerobe Art zur Geltung und drang schichtweise vor, wobei ihre alkalischen Stoffwechselprodukte vorauswirkend, den Produkten der Säurebakterien entgegenarbeiteten und so zugleich den Boden zu ihren Gunsten änderten, während die peptonisierenden Enzyme das Parakasein erweichten und seine weiße Farbe in eine gelbe veränderten.

Die Käse, welche mit beiden Arten zugleich geimpft waren, zeigten schon, als die Reifungsschicht erst 3—5 mm stark war, den charakteristischen Geruch und Geschmack eines erstklassigen Camembert-Käses.

Ich habe demnach unter den strengen Bedingungen eines exakten wissenschaftlichen Versuches nachgewiesen, daß zur Herstellung eines Weichkäses das Zusammenwirken von zwei Bakterienarten unerläßlich ist, indem im Innern des Käses die Milchsäurebakterien eine vorbereitende Wirkung ausüben, während die für Weichkäse charakteristische Reifung von der Oberfläche nach dem Innern schichtweise fortschreitet.

---

# Über den Einfluss des Windes auf die Atmungsgröße des Menschen.

Von

Privatdozent Dr. **Heinrich Wolpert.**

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Über den Einfluss des Windes auf die Kohlensäure- und Wasserdampfabgabe des Menschen habe ich vor einigen Jahren berichtet.<sup>1)</sup> Damals konnte insbesondere nachgewiesen werden, daß bei mittelhohen Lufttemperaturen (etwa 25—35°) die Wirkung des Windes im wesentlichen in einer geänderten (außerordentlich verminderten) Wasserdampfabgabe der Haut besteht, weniger durch Änderungen der Kohlensäurebildung sich äußert; daß aber die letzteren in beträchtlichem Maße bei niedrigeren Lufttemperaturen (etwa 10—20—25°) sich geltend machen, wobei unter dem Einfluss des Windes die Kohlensäurebildung sehr gesteigert ist, entschieden gesteigert auch die Wasserdampfabgabe; und daß bei ganz hohen Temperaturen (35—40°) die Wasserdampfabgabe sehr gesteigert ist, etwas gesteigert wohl auch die Kohlensäurebildung.

Nach jenen Befunden darf als wahrscheinlich angesehen werden, daß bei den unteren Temperaturen unter dem Einfluss des Windes auch die Atmungsgröße wächst. Ob letztere aber bei höheren Lufttemperaturen vom Wind beeinflusst werde, und

---

1) Dieses Archiv, Bd. 33, Heft 3, S. 206. Auch Hygienische Rundschau, 1897, Nr. 13.

gegebenen Falles nach welcher Richtung, steht ganz dahin. Denn in warmer bezw. heißer Luft brauchen die erwiesenen Andersgestaltungen des Kohlenstoff- und Wasserumsatzes unter dem Einfluss des Windes durchaus nicht gleicherweise, wie in der Kälte, mit Änderungen der Atmungsgröße verknüpft zu sein. Auch scheinen Fälle denkbar, in denen der Wind die Atmungsgröße beeinflussen könnte, ohne jedoch die absolute Größe der Kohlensäurebildung und Wasserdampfabgabe zu ändern.

Unter diesen Umständen konnten experimentelle Erhebungen über den Einfluss des Windes auf die Atmungsgröße des Menschen nicht umgangen werden. Hierüber ist in folgendem berichtet. Da mehrfach auf die bereits festgestellten Kohlensäure- und Wasserdampfabgaben zurückgegriffen werden wird, mag zunächst in nachstehender Tabelle eine zusammenfassende Übersicht über die Hauptresultate der citierten früheren Veröffentlichung folgen.

Mittelwerte der Kohlensäure- und Wasserdampfabgabe bei 8 m Wind.

Temperatur	Wind gegen Windstille	
	± Kohlensäure	± Wasserdampf
10—15°	17% mehr CO <sub>2</sub> Absolut 30,0 : 25,1 g/St.	7% mehr H <sub>2</sub> O Absolut 30 : 28 g/St.
15—20°	20% mehr CO <sub>2</sub> Absolut 30,1 : 24,1 g/St.	14% mehr H <sub>2</sub> O Absolut 22 : 19 g/St.
20—25°	11% mehr CO <sub>2</sub> Absolut 28,0 : 25,0 g/St.	4% weniger H <sub>2</sub> O Absolut 22 : 23 g/St.
25—30°	4% weniger CO <sub>2</sub> Absolut 24,0 : 25,3 g/St.	47% weniger H <sub>2</sub> O Absolut 23 : 43 g/St.
30—35°	9% weniger CO <sub>2</sub> Absolut 21,6 : 23,7 g/St.	39% weniger H <sub>2</sub> O Absolut 51 : 84 g/St.
35—40°	4% mehr CO <sub>2</sub> Absolut 22,1 : 21,2 g/St.	28% mehr H <sub>2</sub> O Absolut 156 : 112 g/St.

Auch bei den neuerlichen Versuchen wurde die Windgeschwindigkeit von 8 m in der Sekunde eingehalten, die wie früher mittels eines (desselben) elektrischen Ventilators hervorgebracht wurde. Die Versuchsbedingungen wurden thunlichst gleich den früheren gewählt. Die neuerliche Versuchsperson, Behr., Aushilfsdiener am Institut, war ebenfalls normal gebaut, ziemlich kräftig, und hatte nackt ein Körpergewicht von 61 kg

(Bretschn. 57 kg). Alle Versuche wurden, ganz wie die früheren an Bretschn., im Sitzen vorgenommen. Die Versuchszeit belief sich in der Regel auf eine halbe Stunde, manchmal auf etwas mehr oder weniger; die Versuchsergebnisse wurden stets auf die volle Stunde umgerechnet. In den meisten Versuchen wurden auch genau inmitten der Versuchszeit Ablesungen notiert, und hieraus neben den Stundenwerten je zwei Halbstundenwerte berechnet.

Die Messung der ausgeatmeten Luftmengen, in einzelnen Fällen auch deren Analyse, erfolgte mittels des Zuntz'schen Respirationsapparats.<sup>1)</sup> Die Versuchsperson atmete also durch Ventile ein und aus, und die ausgeatmete Luft ging durch eine Gasuhr, worin ihr Volum gemessen wurde. Falls durch den Widerstand der Ventile, auf deren möglichst leichtes, vor allem aber zuverlässiges Funktionieren geachtet wurde, die Atmungsmechanik der Versuchsperson eine Änderung erfuhr, so war dies für den Entscheid der vorliegenden Frage durch Parallelversuche belanglos.

Die Versuchsergebnisse sind in zeitlicher Folge in der am Schluss folgenden Generaltabelle zusammengestellt; subjektive Empfindungen, insbesondere Frieren und Wärmegefühl betreffend, wurden, wo von der Versuchsperson geäußert, in der Tabelle wiedergegeben. Die Versuche Nr. 1—94 beziehen sich auf den Einfluß des Windes auf die Atmungsgröße des Bekleideten, dann auch des Nackten; begonnen wurde mit den höheren Temperaturen.<sup>2)</sup> Die Kleidung Behr.'s war eine ähnlich leichte, wie die Bretschn.'s; sie wog ca. 2800 g (die Bretschn.'s hatte gegen 2500 g gewogen).

Die in diesen Versuchen gemachten Erfahrungen führten dazu, nebenher in den Versuchen Nr. 95—112 eine Prüfung des

1) Der Zuntz'sche Apparat ist ausführlich beschrieben und abgebildet u. a. in Pflügers Archiv, Bd. 55, Heft 1 u. 2.

2) Die Versuche Nr. 1—4, in welchen die Ventile nicht ganz einwandfrei funktionierten, sowie 5—7, in welchen sie vorzeitig ganz versagten (platzen), wurden für die Schlussfolgerungen außer Betracht gelassen. In Versuch 8—117 arbeiteten die Ventile, deren Membran einer neuen Bezugsquelle entstammte, tadellos.



etwaigen verschiedenen Einflusses trockener und feuchter Luft auf die Atemgröße, wiederum im bekleideten und nackten Zustand, anzuschließen, und dann noch in einigen Versuchen (Nr. 113—117), die unter und außer dem Einfluss des Windes ausgeatmete Luft auf Kohlensäure und Sauerstoff zu analysieren. Für die Versuche Nr. 76—112 finden sich in der Tabelle auch Angaben über die Anzahl der Atemzüge pro Minute, so daß sich deren Tiefe berechnen läßt.

Die Atmungsfrequenz war durchschnittlich eine sehr hohe, sie betrug meistens etwa 20—25 Atemzüge in der Minute in den Normalversuchen. Dem gegenüber hatte Vierordt<sup>1)</sup> an sich selbst bekanntlich nur etwa 12 Atemzüge in der Minute gezählt, Zuntz<sup>2)</sup> nur 8—9 und Speck<sup>3)</sup> sogar nur 6—7 in der Minute. Hutchinson<sup>4)</sup> freilich fand unter ca. 2000 Zählungen an Personen, die nichts von der Zählung wußten, die Mittelzahl von 16—24 Respirationen in der Minute; unter 16 sank die Frequenz der Atmung nur in sehr wenigen seiner Fälle, ebenso betrug sie selten über 24. Auch in meinen Versuchen wußte die Versuchsperson nichts von der Zählung ihrer Atemzüge.

Auch die Atmungsgrößen sind in meinen Versuchen weit höher als bei Vierordt<sup>5)</sup>; sie bewegten sich durchschnittlich in den Normalversuchen von etwa 600 l pro Stunde aufwärts, was für Vierordts eigene Person schon einen höchsten Grenzwert darstellt. Wie viel zu diesen außerordentlich hohen Zahlen die

1) Karl Vierordt, Physiologie des Atmens. Karlsruhe 1845, S. 255.

2) Pflügers Archiv für Physiologie, Bd. 46, S. 189.

3) Speck, Untersuchungen über Sauerstoffverbrauch und Kohlensäureausatmung des Menschen. Cassel, 1871, S. 31.

4) Hutchinson, Artikel Thorax in Todds Cyclopaedia, IV, S. 1085. (Citiert nach Hermanns Handbuch der Physiologie, Bd. 4, Teil 2, Abteilung: Physiologie der tierischen Wärme, bearbeitet von Rosenthal. Leipzig, 1882, S. 198.)

5) Andere Versuchspersonen hatten, am gleichen (Zuntzschen) Respirationsapparat wie Behr., auch mir niedrigere Werte ergeben, so z. B. im Sommer 1899 Gandr. in einer noch nicht veröffentlichten Versuchsreihe, welche auf die Beeinflussung des Gaswechsels durch die Besonnung gerichtet war; er hatte normalerweise eine stündliche Atmungsgröße von 290—300 l bei einer minutlichen Frequenz von 9—10 Atemzügen. Leider stand Versuchsperson Gandr. für vorliegende Versuchsreihe nicht mehr zur Verfügung.

Atemarbeit durch die Ventile, und (sicherlich mehr) auch die Eigenart der Versuchsperson beigetragen hat, mag dahingestellt bleiben; die Beweiskraft der Parallelversuche wird dadurch, wie erwähnt, nicht berührt.

Einen bequemeren Überblick über die hauptsächlichsten Versuchsergebnisse, als ihn die chronologisch geordnete Generaltabelle mit ihren Einzelnachweisen bieten kann, gibt die nachstehende Zusammenfassung zu Mittelwerten, welche nach fallenden Temperaturen geordnet sind.

### I. Vergleich von Wind mit Windstille.

#### a) Versuche in Kleidung.

•Bekleidet mit Wind• verglichen mit: •Bekleidet ohne Wind•.

1. Nr. 12 und Nr. 13 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 11 und Nr. 14 Bekleidet mit Wind.

Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 12 und 13 ( $39,1^\circ$ ) = 701,3 l,

aus Nr. 11 und 14 ( $38,7^\circ$ ) = 738,2 l.

Bei ca.  $40^\circ$  sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

105 Bekleidet mit Wind.

Mit Wind war dabei die Belästigung durch Schweiß kaum wesentlich geringer als ohne Wind.

2. Nr. 9 und Nr. 33 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 8, 10 und 34 Bekleidet mit Wind.

Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 9 und 33 ( $35,5^\circ$ ) = 716,3 l,

aus Nr. 8, 10 und 34 ( $35,9^\circ$ ) = 761,6 l.

Bei ca.  $35^\circ$  sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

106 Bekleidet mit Wind.

Mit Wind ergab sich viel weniger Schweiß als ohne Wind.

3. Nr. 22 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 23 Bekleidet mit Wind.

Atmungsgröße aus Nr. 22 (Temperatur  $30,3^\circ$ ) = 612,9 l,

aus Nr. 23 (Temperatur  $30,4^\circ$ ) = 674,4 l.

Bei ca.  $30^\circ$  sind daher die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

110 Bekleidet mit Wind.

Mit Wind trat kein Schweiß auf, auch ohne Wind keiner; jedoch wurde Wind angenehmer als Windstille empfunden.

4. Nr. 26 und Nr. 28 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 27 und Nr. 29 Bekleidet mit Wind.

Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 26 und 28 ( $24,1^\circ$ ) = 691,5 l,

aus Nr. 27 und 29 ( $24,1^\circ$ ) = 684,5 l.

Bei ca. 24° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

- 100 Bekleidet ohne Wind,
- 99 Bekleidet mit Wind.

Wind und Windstille wurden dabei ohne wesentlichen Unterschied ertragen. Mit Wind war es vielleicht ein wenig kühler, jedoch kam es nie zu Gänsehaut, und »Ohne Wind« wurde wohl ein wenig angenehmer empfunden.

- 5. Nr. 24 und 30 Bekleidet ohne Wind,
- Nr. 25 und 31 Bekleidet mit Wind.

Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 24 und 30 (22,3°) = 649,4 l,  
aus Nr. 25 und 31 (22,2°) = 736,2 l.

Bei ca. 22° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

- 100 Bekleidet ohne Wind,
- 113 Bekleidet mit Wind.

Ohne Wind war es angenehm warm; mit Wind dagegen kalt, es trat Gänsehaut auf.

- 6. Nr. 18, 54, 56, 68, 70, 103, 104 Bekleidet ohne Wind,
- Nr. 19, 57, 58, 71, 73, 101, 113 Bekleidet mit Wind.

Mittlere Atmungsgrößen aus 18, 54, 56, 68, 70, 103, 104 (20,0°) = 691,5 l,  
aus 19, 57, 58, 71, 73, 104, 113 (20,0°) = 764,1 l.

Bei 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

- 100 Bekleidet ohne Wind,
- 111 Bekleidet mit Wind.

Ohne Wind war es angenehm warm, mit Wind trat dagegen häufig Gänsehaut auf.

- 7. Nr. 60, 62, 63, 76, 78, 84, 86, 107, 110 Bekleidet ohne Wind,
- Nr. 65, 66, 79, 80, 81, 82, 88, 109, 112 Bekleidet mit Wind.

Mittlere Atmungsgrößen:

- Aus 60, 62, 63, 76, 78, 84, 86, 107, 110 (15,5°) = 732,5 l,
- aus 65, 66, 79, 80, 81, 82, 88, 109, 112 (15,7°) = 959,2 l.

Bei ca. 15° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

- 100 Bekleidet ohne Wind,
- 131 Bekleidet mit Wind.

Ohne Wind machte sich keine Kälteempfindung bemerkbar; mit Wind zuweilen stark gefroren (Gänsehaut, Zittern, Schütteln).

#### b) Versuche ohne Kleidung.

»Nackt mit Wind« verglichen mit: »Nackt ohne Wind«.

- 8. Nr. 37 und Nr. 39 Nackt ohne Wind,
- Nr. 38 und Nr. 40 Nackt mit Wind.

Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 37 und 39 (39,8°) = 687,0 l,  
aus Nr. 38 und 40 (40,0°) = 835,8 l.

Bei ca. 40° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

- 100 Nackt ohne Wind,
- 122 Nackt mit Wind.

Wind war angenehmer als Windstille. Ohne Wind zeigte sich sehr viel mehr Schweiss als mit Wind.

9. Nr. 31a und Nr. 35 Nackt ohne Wind,  
 Nr. 32 und Nr. 36 Nackt mit Wind.  
 Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 31a und 35 (35,2°) = 661,5 l,  
 aus Nr. 32 und 36 (36,0°) = 734,4 l.  
 Bei ca. 35° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Nackt ohne Wind,  
 111 Nackt mit Wind.  
 Wind war angenehmer als Windstille. Ohne Wind zeigte sich etwas  
 Schweiß, mit Wind kein Schweiß.
10. Nr. 41 und Nr. 43 Nackt ohne Wind,  
 Nr. 42 und Nr. 44 Nackt mit Wind.  
 Mittlere Atmungsgrößen aus Nr. 41 und 43 (30,0°) = 704,0 l,  
 aus Nr. 42 und 44 (30,7°) = 731,4 l.  
 Bei ca. 30° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Nackt ohne Wind,  
 104 Nackt mit Wind.  
 Ohne Wind war es wohl etwas warm, aber es trat kein Schweiß auf.  
 Jedenfalls waren in diesen Versuchen Wind und Windstille ohne wesent-  
 lichen Unterschied für die Empfindung.
11. Nr. 67 und Nr. 69 Nackt ohne Wind,  
 Nr. 72 und Nr. 74 Nackt mit Wind.  
 Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 67 und 69 (19,8°) = 595,2 l,  
 aus Nr. 72 und 74 (19,9°) = 894,0 l.  
 Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Nackt ohne Wind,  
 150 Nackt mit Wind.  
 Windstille war hier weit angenehmer als Wind. Mit Wind war es sehr  
 kalt, Zittern und Schütteln machte sich bemerkbar, die Haut verfärbte  
 sich stellenweise cyanotisch u. s. w.; ohne Wind war es nicht zu kalt.

## II. Vergleich von Nackt mit Bekleidet.

### a) Versuche ohne Wind.

- »Nackt ohne Wind« verglichen mit: »Bekleidet ohne Wind«.
12. Nr. 46 und Nr. 48 Bekleidet ohne Wind,  
 Nr. 45 und Nr. 47 Nackt ohne Wind.  
 Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 46 und 48 (34,5°) = 692,3 l,  
 aus Nr. 45 und 47 (34,5°) = 692,6 l.  
 Bei ca. 35° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Bekleidet ohne Wind,  
 100 Nackt ohne Wind.  
 Bekleidet wie nackt machte sich sehr wenig Schweiß bemerkbar.
13. Nr. 50 und Nr. 52 Bekleidet ohne Wind,  
 Nr. 49 und Nr. 51 Nackt ohne Wind.  
 Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 50 und 52 (25,5°) = 681,8 l,  
 aus Nr. 49 und 51 (25,5°) = 677,3 l.

28 Über den Einfluss des Windes auf die Atmungsgröße des Menschen.

Bei ca. 25° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

99 Nackt ohne Wind.

Bekleidet wie nackt machte sich keine Kälteempfindung bemerkbar.

14. Nr. 54, 56, 68, 70 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 53, 55, 67, 69 Nackt ohne Wind.

Atmungsgröße aus Nr. 54, 56, 68, 70 (20,1°) = 626,7 l,

aus Nr. 53, 55, 67, 69 (20,0°) = 614,9 l

Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

98 Nackt ohne Wind.

Bekleidet keine Kälteempfindung. Nackt etwas kühl, doch nicht eigentlich gefroren (keine Gänsehaut).

15. Nr. 60, 62, 63, 76, 78, 84, 86, 107, 110 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 59, 61, 64, 75, 77, 83, 85, 108, 111 Nackt ohne Wind.

Mittlere Atmungsgrößen:

aus Nr. 60, 62, 63, 76, 78, 84, 86, 107, 110 (15,5°) = 732,5 l,

aus Nr. 59, 61, 64, 75, 77, 83, 85, 108, 111 (15,5°) = 796,3 l.

Bei ca. 15° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

109 Nackt ohne Wind.

Bekleidet keine Kälteempfindung. Nackt etwas gefroren (zuweilen Gänsehaut).

16. Nr. 89, 91, 93 Bekleidet ohne Wind,

Nr. 90 und 94 Nackt ohne Wind.

Mittlere Atmungsgrößen aus Nr. 89, 91, 93 (12,4°) = 910,1 l,

aus Nr. 90 und 94 (12,2°) = 1146,5 l.

Bei ca. 12° sind demnach die Atmungsgrößen relativ.

100 Bekleidet ohne Wind,

126 Nackt ohne Wind.

Bekleidet keine oder nur sehr geringe Kälteempfindung. Nackt stark gefroren (Zittern, Schütteln).

### b) Versuche mit Wind.

»Nackt mit Wind« verglichen mit: »Bekleidet mit Wind«.

17. Nr. 34 Bekleidet mit Wind,

Nr. 32 und 36 Nackt mit Wind

Atmungsgröße aus Nr. 34 (35,6°) = 725,4 l,

aus Nr. 32 und 36 (36,0°) = 734,4 l.

Bei ca. 35° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet mit Wind,

101 Nackt mit Wind.

Nackt machte sich kein Schweiss bemerkbar, und auch bekleidet nicht. Er war für die Empfindung unterschiedslos nicht zu warm.

18. Nr. 71 und 73 Bekleidet mit Wind,  
 Nr. 72 Nackt mit Wind.  
 Atmungsgröße aus Nr. 71 und 73 (19,8°) = 674,9 l,  
 aus Nr. 72 (20,4°) = 759,0 l.  
 Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Bekleidet mit Wind,  
 112 Nackt mit Wind.  
 Nackt war es sehr kalt (Zittern und Schütteln stellte sich ein), be-  
 kleidet etwas kalt (zuweilen zeigte sich Gänsehaut).
- c) »Nackt ohne Wind« verglichen mit: »Bekleidet mit Wind«.
19. Nr. 34 Bekleidet mit Wind,  
 Nr. 35 Nackt ohne Wind.  
 Atmungsgröße aus Nr. 34 (Temp. 35,6°) = 725,4 l,  
 aus Nr. 35 (Temp. 36,3°) = 639,0 l.  
 Bei ca. 35° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Bekleidet mit Wind,  
 88 Nackt ohne Wind.  
 Nackt ohne Wind wurde mehr geschwitzt, als bekleidet mit Wind.
20. Nr. 57, 58, 71, 73 Bekleidet mit Wind,  
 Nr. 53, 55, 67, 69 Nackt ohne Wind.  
 Mittlere Atmungsgrößen aus Nr. 57, 58, 71, 73 (20,0°) = 687,2 l,  
 aus Nr. 53, 55, 67, 69 (20,0°) = 619,9 l.  
 Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Bekleidet mit Wind,  
 92 Nackt ohne Wind.  
 Nackt ohne Wind war es weniger empfindsam kalt, als bekleidet mit  
 Wind.
21. Nr. 65, 66, 79, 80, 81, 82, 88, 109, 112 Bekleidet mit Wind,  
 Nr. 59, 61, 64, 75, 77, 87, 90, 108, 111 Nackt ohne Wind.  
 Mittlere Atmungsgrößen:  
 aus Nr. 65, 66, 79, 80, 81, 82, 88, 109, 112 (15,7°) = 959,2 l,  
 aus Nr. 59, 61, 64, 75, 77, 87, 90, 108, 111 (15,0°) = 866,3 l.  
 Bei ca. 15° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:  
 100 Bekleidet mit Wind,  
 90 Nackt ohne Wind.  
 Nackt ohne Wind etwas gefroren (zuweilen Gänsehaut); bekleidet mit  
 Wind zuweilen stark gefroren (Zittern und Schütteln).
- d) »Nackt mit Wind« verglichen mit: »Bekleidet ohne Wind«.
22. Nr. 115 und 116 Bekleidet ohne Wind,  
 Nr. 117 Nackt mit Wind.  
 Atmungsgröße aus Nr. 115 und 116 (15,2°) = 827,1 l,  
 aus Nr. 117 (16,2°) = 1009,5 l.

### 30 Über den Einfluss des Windes auf die Atmungsgröße des Menschen.

Bei ca. 15° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind,

122 Nackt mit Wind.

Bekleidet keine Kälteempfindung. Nackt stark gefroren (Zittern und Schütteln stellte sich ein).

### III. Vergleich von Feuchter Luft mit Trockener Luft.

#### a) Versuche ohne Wind.

23. Nr. 103 Bekleidet ohne Wind in trockener Luft, 20,6° und 24‰,

Nr. 105 Bekleidet ohne Wind in feuchter Luft, 19,2° und 68‰.

Atmungsgröße aus Nr. 103 (24‰ r. F.) = 764,4 l,

aus Nr. 105 (68‰ r. F.) = 904,8 l.

Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet ohne Wind in trockener Luft.

118 Bekleidet ohne Wind in feuchter Luft.

Zwischen trockener und feuchter Luft keinen Unterschied im Wärmegefühl wahrgenommen. In feuchter Luft war die Atmungsfrequenz höher (28 gegen 23—25).

24. Nr. 108 Nackt ohne Wind in trockener Luft, 15,9° und 34‰,

Nr. 111 Nackt ohne Wind in feuchter Luft, 16,3° und 79‰.

Atmungsgröße aus Nr. 108 (34‰ r. F.) = 859,5 l,

aus Nr. 111 (79‰ r. F.) = 987,0 l.

Bei ca. 15° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Nackt ohne Wind in trockener Luft,

115 Nackt ohne Wind in feuchter Luft.

Feuchte Luft als kälter empfunden. In feuchter Luft war die Atmungsfrequenz niedriger (16—20 gegen 22—26).

#### b) Versuche mit Wind.

25. Nr. 104 Bekleidet mit Wind in trockener Luft, 20,1° und 26‰,

Nr. 106 Bekleidet mit Wind in feuchter Luft, 20,5° und 70‰.

Atmungsgröße aus Nr. 104 (26‰ r. F.) = 854,4 l,

aus Nr. 106 (70‰ r. F.) = 897,6 l.

Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet mit Wind in trockener Luft,

105 Bekleidet mit Wind in feuchter Luft.

Trockene Luft als kälter empfunden. In feuchter Luft war die Atmungsfrequenz höher (29 gegen 25—27).

26. Nr. 109 Bekleidet mit Wind in trockener Luft, 15,6° und 34‰,

Nr. 112 Bekleidet mit Wind in feuchter Luft, 16,4° und 82‰.

Atmungsgröße aus Nr. 109 (34‰ r. F.) = 861,9 l,

aus Nr. 112 (82‰ r. F.) = 1038,6 l.

Bei ca. 15° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Bekleidet mit Wind in trockener Luft,

120 Bekleidet mit Wind in feuchter Luft.

Feuchte Luft als kälter empfunden. In feuchter Luft war die Atmungsfrequenz höher (24—25 gegen 22).

27. Nr. 95 und 96 Nackt mit Wind in trockener Luft, 25,2° und 32%,

Nr. 97 und 98 Nackt mit Wind in feuchter Luft, 24,7° und 76%.

Atmungsgröße aus Nr. 95 und 96 (32%) = 975,9 l,

aus Nr. 97 und 98 (76%) = 1049,9 l.

Bei ca. 25° waren demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Nackt mit Wind in trockener Luft,

108 Nackt mit Wind in feuchter Luft.

Feuchte Luft vielleicht als kälter empfunden. In feuchter Luft war die Atmungsfrequenz niedriger (19—25 gegen 21—28).

28. Nr. 99 und 100 Nackt mit Wind in trockener Luft, 20,3° und 34%,

Nr. 101 und 102 Nackt mit Wind in feuchter Luft, 20,6° und 84%.

Atmungsgröße aus Nr. 99 und 100 (34%) = 1011,2 l,

aus Nr. 101 und 102 (84%) = 1077,6 l.

Bei ca. 20° sind demnach die Atmungsgrößen relativ:

100 Nackt mit Wind in trockener Luft,

107 Nackt mit Wind in feuchter Luft.

Feuchte Luft als kälter empfunden. In feuchter Luft war die Atmungsfrequenz niedriger (13—19 gegen 22—26).

In Kürze zusammengefasst, geht aus der vorstehenden Zusammenstellung im wesentlichen das Folgende hervor:

Erstens. Bezogen auf »Bekleidet ohne Wind« = 100, betrug die Atmungsgröße für »Bekleidet mit Wind«:

1. Bei 40° 105. Mit Wind kaum weniger Schweifs als ohne Wind.

2. » 35° 106. Mit Wind viel weniger Schweifs als ohne Wind.

3. » 30° 110. Mit, auch ohne Wind kein Schweifs. Angenehmer mit Wind.

4. » 24° 99. Unterschiedslos nicht zu kalt.

5. » 22° 113. Ohne Wind angenehmer. Mit Wind kalt (Gänsehaut).

6. » 20° 111. Ohne Wind angenehmer. Mit Wind kalt (Gänsehaut).

7. » 15° 131. Mit Wind zuweilen sehr kalt (Zittern und Schütteln); ohne Wind nicht zu kalt.

Zweitens. Bezogen auf »Nackt ohne Wind« = 100, betrug die Atmungsgröße für »Nackt mit Wind«:

8. Bei 40° 122. Mit Wind sehr viel weniger Schweifs als ohne Wind.

9. » 35° 111. Mit Wind kein Schweifs, ohne Wind etwas Schweifs.

10. » 30° 104. Unterschiedslos nicht zu warm.

11. » 20° 150. Mit Wind sehr kalt (Zittern und Schütteln); ohne Wind nicht zu kalt, höchstens etwas kühl.



**Drittens.** Bezogen auf »Bekleidet ohne Wind« = 100, betrug die Atmungsgröße für »Nackt ohne Wind«:

12. Bei 35° 100. Nackt, auch bekleidet nur wenig Schweifs.
13. „ 25° 99. Unterschiedslos nicht zu kalt.
14. „ 20° 98. Nackt etwas kühl, doch keine Gänsehaut.
15. „ 15° 109. Nackt kalt, zuweilen Gänsehaut.
16. „ 12° 126. Nackt sehr kalt (Zittern und Schütteln); bekleidet nicht zu kalt.

**Viertens.** Bezogen auf »Bekleidet mit Wind« = 100, betrug die Atmungsgröße für »Nackt mit Wind«:

17. Bei 35° 101. Unterschiedslos nicht zu warm.
18. „ 20° 112. Nackt sehr kalt (Zittern und Schütteln); bekleidet etwas kalt (zuweilen Gänsehaut).

**Fünftens.** Bezogen auf »Bekleidet mit Wind« = 100, betrug die Atmungsgröße für »Nackt ohne Wind«:

19. Bei 35° 88. Nackt ohne Wind mehr Schweifs als Bekleidet mit.
20. „ 20° 92. Nackt ohne Wind weniger kalt als Bekleidet mit.
21. „ 15° 90. Bekleidet mit Wind sehr kalt (Zittern und Schütteln); nackt ohne Wind weniger kalt (höchstens Gänsehaut).

**Sechstens.** Bezogen auf »Bekleidet ohne Wind« = 100, betrug die Atmungsgröße für »Nackt mit Wind«:

22. Bei 15° 122. Nackt mit Wind sehr kalt (Zittern und Schütteln); bekleidet ohne Wind nicht zu kalt.

Aus dieser Übersicht ergibt sich als Hauptresultat, daß die Atmungsgröße durch den Wind unter Umständen (für gewöhnlich) gar nicht, in gewissen Fällen aber wesentlich beeinflusst, dann aber niemals herabgesetzt, sondern stets gesteigert wird. Diese Feststellung war nicht sicher vorauszusehen; bekanntlich hat man ja in sehr starkem, entgegenblasenden Wind die Empfindung, als ob einem »der Atem ausginge.«

Betrachtet man zunächst die Wirkung des Windes auf den Nackten (s. oben unter 8.—11.), so werden dabei etwaige gesetzmäßige Abweichungen vom Normalzustand (Windstille) ungetrübter, als am Bekleideten erkennbar sein. Es zeigt sich:

**Erstens:** Der Wind hat keinen Einfluss, auf die Atmungsgröße, wo er die Wärme- und Kälte-Empfindung nicht beeinflusst. So waren bei 30° (nackt) die Atmungsgrößen in Wind und Windstille kaum verschieden und einige Grade tiefer vermutlich ganz die gleichen.

Zweitens: Der Wind steigert die Atmungsgröße, falls er die Wärme- und Kälte-Empfindung beeinflusst; die Atmungsgröße ist besonders bei sehr hohen und sehr niedrigen Temperaturen durch den Wind gesteigert. Bei 35° z. B. wurde bewegte Luft (nackt) angenehmer als Windstille empfunden; in ruhender Luft trat Schweiß auf, im Wind nicht; die Atmungsgrößen in Windstille und Wind verhielten sich wie 100:111. Ebenfalls erwies sich bei 40° (nackt) der Wind weit angenehmer als Windstille, wobei die Belästigung durch massenhaften Schweiß sehr viel größer als im Wind war; die Atmungsgrößen verhielten sich wie 100:122.<sup>1)</sup> Hingegen war selbstverständlich bei 20° (nackt) Windstille angenehmer als Wind; im Wind war es sehr kalt, unwillkürliche Muskelkontraktionen und Zuckungen äußerten sich als Zittern und Schütteln, bei Windstille aber war es nicht wesentlich zu kalt, höchstens etwas kühl; die Atmungsgrößen in Windstille und Wind verhielten sich wie 100:150.<sup>2)</sup>

Prinzipiell auf das nämliche Ergebnis führt eine Betrachtung der Versuche am Bekleideten (s. oben unter 1.—7.). Bei 25° war kein Unterschied in der Wärme-Empfindung wahrzunehmen, einerlei, ob die Luft bewegt oder unbewegt war; auch kein Unterschied in den Atmungsgrößen stellte sich heraus. Bei 30—40° wurde bewegte Luft leichter als unbewegte ertragen; die Atmungsgrößen in Windstille und Wind verhielten sich maximal bei 30° wie 100:110<sup>3)</sup> — fast in genau gleicher Weise

1) 100:122, oder absolut 687,0:835,8. Der Wärmeverlust durch Wasserverdampfung aus Atmung betrug: Im ersteren Falle (40°, Windstille, Nackt) = 11,6 Kal. aus 19,3 g H<sub>2</sub>O; im letzteren Falle (40°, Wind, Nackt) = 14,1 Kal. aus 23,5 g H<sub>2</sub>O pro Stunde. (Pro cbm eingeatmet 16,6, ausgeatmet 44,7 g H<sub>2</sub>O; 28,1 × 0,8358 = 23,5 g H<sub>2</sub>O/St.; 0,6 × 23,5 = 14,1 Kal./St.)

2) 100:150, oder absolut 595,2:894,0. Der Wärmeverlust aus Atmung betrug: Im ersteren Falle (20°, Windstille, Nackt) = 16,1 Kal./St., wovon 13,1 Kal. auf 21,8 g Wasserverdampfung und 3,0 Kal./St. auf Erwärmung der Atmungsluft trafen; im letzteren Falle (20°, Wind, Nackt) = 24,3 Kal./St., wovon 19,7 Kal. auf 32,8 g Wasserverdampfung und 4,6 Kal./St. auf Erwärmung der Atmungsluft trafen. (1 cbm Luft von 20° auf 37° = 17 × 0,3 = 5,1 Kal.; 0,894 × 5,1 = 4,6 Kal./St.)

3) 100:110, oder absolut 612,9:674,4. Der Wärmeverlust aus Atmung betrug: Im ersteren Falle (30°, Windstille, Bekleidet) gesamt 15,1 Kal./St. = 1,4 Kal. aus 0,6129 cbm Lufterwärmung von 30° auf 37,5°, + 13,7 Kal. aus

auch beim Sinken der Temperatur auf  $20^{\circ}$ , was bereits leichtere Kältesymptome (Gänsehaut) nach sich zog, jedoch nur bei Aufenthalt im Wind. Bei  $15^{\circ}$  war es im Wind bitter kalt, die Versuchsperson zitterte, während es bei der gleichen Temperatur in unbewegter Luft nicht zu kalt war; die Atmungsgrößen in Windstille und Wind verhielten sich wie 100 : 131.<sup>1)</sup>

Ebenso wird ganz allgemein, sobald es infolge irgend welcher physikalischer Zustände zu Muskelkontraktionen in ausgedehnterem Maße kommt, eine Steigerung der Atmungsgröße zu erwarten sein.

Die Atmungsgrößen des Bekleideten und des Nackten in ruhender Luft (s. oben unter 12.—16.), verhielten sich bei  $15^{\circ}$  wie 100 : 109; dem Bekleideten war es bei  $15^{\circ}$ , wie soeben erwähnt, nicht zu kalt, aber beim Nackten stellten sich nicht selten jene »Gänsehaut« benannten spastischen Kontraktionen der Musculi arrectores pili im Gebiet größerer Hautbezirke ein. Und als bei  $12^{\circ}$  den Bekleideten immer noch keine Gänsehaut überlief, beim Nackten sich jedoch ein starkes Frieren durch Kontraktionen der großen Arm- und Bein-, auch der Kaumuskeln äußerte, stieg das gleiche Verhältnis auf 100 : 126. Aber die Atmungsgrößen im bekleideten und nackten Zustand waren ganz die gleichen (annähernd 100 : 100) bei  $20^{\circ}$  und höher, soweit nach Lage der Versuchsbedingungen keine Überwärmung drohte.

Dafs von einem Ablegen der Kleidung in ruhender (Zimmer-) Luft wesentlich weniger Effekt zu erwarten ist, als von einem Aufsuchen bewegter Luft (8 m/Sek.) in Kleidung, wird durch

22,8 g Wasserverdampfung; im letzteren Falle ( $30^{\circ}$ , Wind, Bekleidet) gesamt 16,6 Kal./St. = 1,5 Kal. aus 0,6744 cbm Lufterwärmung + 15,1 Kal. aus 25,1 g Wasserverdampfung.

1) 100 : 131, oder absolut 732,5 : 959,2. Der Wärmeverlust aus Atmung betrug: Im ersteren Falle ( $15^{\circ}$ , Windstille, Bekleidet) gesamt 20,0 Kal./St. = 4,6 Kal. aus 0,7325 cbm Lufterwärmung von  $15^{\circ}$  auf  $36^{\circ}$ , + 15,4 Kal. aus 25,6 g Wasserverdampfung; im letzteren Falle ( $15^{\circ}$ , Wind, Bekleidet) gesamt 26,2 Kal./St. = 6,0 Kal. aus 0,9592 cbm Lufterwärmung + 20,2 Kal. aus 33,6 g Wasserverdampfung (Pro cbm g  $H_2O$  maximal: 41,4 bei  $36^{\circ}$  und 12,8 bei  $15^{\circ}$ ; da Einatemluft rund 50% r. F., so abgegeben 41,4 - (12,8 : 2) = 35,0 g  $H_2O$ /cbm;  $0,7325 \times 35,0 = 25,6$  g  $H_2O$ /St.;  $0,6 \times 25,6 = 15,4$  Kal./St.)

mehrere Versuchsmittel dargethan (s. oben unter 19.—21.). Das Atmungsbedürfnis des Nackten war unter solchen Umständen um rund 10% gegen den Luftbedarf des Bekleideten vermindert.

Die Atmungsgrößen des »Nackten ohne Wind« und des »Bekleideten mit Wind« verhielten sich:

- Bei 35°, wie 88 : 100, der Nackte schwitzte mehr;  
 » 20°, » 92 : 100, » » fror weniger;  
 » 15°, » 90 : 100, » » fror viel weniger.

Der Aufenthalt in bewegter Luft veranlafste begreiflicher Weise den Nackten zu einer, in höherem Mafse gesteigerten Atmung, als den Bekleideten (s. oben unter 17.—18.). Die Atmungsgrößen des »Bekleideten mit Wind« und »Nackten mit Wind« verhielten sich bei 20° wie 100 : 112; der Nackte zitterte und schüttelte sich vor Frost, während der Bekleidete nur von Gänsehaut befallen wurde.

Bei 15° vollends fror der Nackte im Wind natürlich noch erheblich stärker als bei 20°. Da hiermit das Verhalten des Bekleideten in nicht bewegter Luft verglichen wurde (s. oben unter 22.), erwies sich die Atemgröße des Nackten im Verhältnis von 100 : 122 gesteigert, oder absolut von 827,1 auf 1009,5. Hierbei ergab sich das Folgende aus der Analyse der Ausatmungs-luft (s. Generaltabelle unter Nr. 115—117):

Der Nackte lieferte im Wind 57,3 g CO<sub>2</sub> stündlich, seine Sauerstoffaufnahme betrug 51,9 g stündlich, der respiratorische Quotient war 0,81. Der Bekleidete lieferte bei Windstille nur 31,6 g CO<sub>2</sub> stündlich, nahm nur 26,6 g Sauerstoff auf, und der respiratorische Quotient stellte sich auf 0,86. Durch das Ablegen der Kleidung und Einschalten des Windes wurde also relativ die Kohlensäurebildung von 100 auf 181, die Sauerstoffaufnahme von 100 auf 195 gesteigert und der respiratorische Quotient bewegte sich von 0,86 auf 0,81.

Zum Vergleich hiermit sind in der folgenden kleinen Tabelle die entsprechenden Beobachtungsergebnisse von Versuchen, die Zuntz mit Hilfe A. Loewys<sup>1)</sup> an sich selbst in protrahierten

1) A. Loewy in Pflügers Archiv, Bd. 46, S. 189—244

kalten Bädern angestellt hat, wiedergegeben. Die Zahlen wurden auf die gleichen Einheiten wie oben umgerechnet; im Original sind die Einzelresultate, aus welchen hier (unter I, II, III) Mittelwerte gebildet sind, in ccm pro Minute sowohl für die Atmungsgröße wie für die Kohlensäurebildung und die Sauerstoffaufnahme angegeben.

Nr.	Art des Versuchs	Empfindung	Atmungs- Größe, Liter/St.	Atmungs- Frequenz pro Min.	Gramm/St.		Resp. Quot.
					CO <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>	
I	Warmes Bad	Behaglich warm (anfängs heifs)	307	8—9	21,7	21,1	0,76
II	Kaltes Bad	Etwas kühl, aber kein Zittern	267	8—9	19,2	21,4	0,66
III	Kaltes Bad protrahiert	Sehr kalt; Zittern der Arme, Oberschenkel, Kaumuskeln u. s. w.	740	7—9	35,8	37,3	0,70

In I handelte es sich um Versuche während eines einstündigen Aufenthaltes in Wasser von 36°; in II um Versuche nach viertelstündigem, unmittelbar an das warme Bad angeschlossenen Aufenthalt in Wasser von 25°; in III um Versuche nach einem, 1—1¼ Stunden weiter fortgesetzten Aufenthalt in dem Wasser von 25°. Beim Einsteigen in das warme Bad wurde Wärme empfunden, beim Darinsitzen Hitze, die jedoch sofort einem behaglichen Wärmegefühl wich. Im kalten Bad war ein unangenehmes Kältegefühl die erste Empfindung, die schnell vorüberging und schon nach 6 Minuten einem Gefühl behaglicher Kühle Platz gemacht hatte. Erst 20 Minuten nach dem Einsteigen machte sich eine leichte Steifigkeit in den Kiefern u. s. w. bemerkbar, auch Zitterneigung stellte sich allmählich ein, doch erst nach 1 Stunde etwa war das Zittern nicht mehr unterdrückbar.

Durch die Fortsetzung des kalten Bades bis zum Auftreten unwillkürlicher Muskelkontraktionen wurden also gesteigert:

Atmungsgröße . . .	von 267	auf 740	(= 100 : 277)
Kohlensäurebildung	› 19,2	› 35,8	(= 100 : 186)
Sauerstoffverbrauch	› 21,4	› 37,3	(= 100 : 174).

Demnach waren Kohlensäurebildung und Sauerstoffverbrauch durch Entkleiden + Wind fast genau ebenso, wie durch das protrahierte kalte Bad beeinflusst worden.

Es mag nebenher von Interesse sein, die normale Kohlensäurebildung meiner Versuchsperson in den vorerwähnten Versuchen (Nr. 116 u. 117) mit einigen anderen Normalbefunden zusammenzustellen.

An Kohlensäure produzierten pro Stunde:

- 37,3 g CO<sub>2</sub> (= ca. 18,6 l) Speck in neueren Versuchen<sup>1)</sup>  
 31,6 „ CO<sub>2</sub> (= „ 15,8 l) Versuchsperson Behr. bei 15<sup>0 2)</sup>  
 24,1 „ CO<sub>2</sub> (= „ 12,0 l) Versuchsperson Bretschn. bei 15—20<sup>0 3)</sup>  
 21,7 „ CO<sub>2</sub> (= „ 10,8 l) Professor Zuntz bei 16<sup>0 4)</sup>.

Hierbei hängt der etwas hohe CO<sub>2</sub>-Wert meiner neuerlichen Versuchsperson (Behr.) offenbar mit deren aufsergewöhnlich starkem Lungenluftwechsel zusammen. Dafs verminderter Luftwechsel im allgemeinen eine Abnahme der absoluten Kohlensäureausscheidung bedingt, ist ja durch die Versuche von Vierordt, Becher u. a. seit lauge bekannt.

Was nun die Einwirkung des Windes auf die Kohlensäurebildung des Bekleideten betrifft, die naturgemäß geringer ausfallen muß, so kann diese Frage nach meinen früheren Versuchen als erledigt gelten. Darnach steht beispielsweise bei 15—20<sup>0</sup> (siehe Tabelle auf Seiten 22) eine Mehrbildung von etwa 20% CO<sub>2</sub> auf Rechnung der bewegten Luft in Aussicht. Aber ich habe doch die Gelegenheit benutzt, um nach der Zuntzschen Methode, zumal hiernach auch der Sauerstoffverbrauch mit Sicherheit zu ermitteln war, eine Wiederholung anzuschließen.

1) Carl Speck, Arch. f. wiss. Heilk. III, S. 318 (342) Citirt nach Hermanns Handbuch der Physiologie, Bd. 4, Teil II, bearbeitet von Zuntz (S. 114). Es handelt sich um normale Versuche.

2) Behr. Körpergewicht 61 kg. Die Versuche fanden mehrere Stunden nach dem Frühstück statt. Die Versuchsperson sitzt auf Stuhl.

3) Bretschn. Körpergewicht 57 kg. Die Versuche fanden ebenfalls einige Stunden nach dem Frühstück statt. Die Versuchsperson sitzt auf Stuhl.

4) Körpergewicht 66 kg Versuche im Liegen auf Ledersopha. 21,7 g CO<sub>2</sub> ist hier das Mittel aus sieben Vormittagsversuchen (war auch oben das Mittel aus mehreren Badeversuchen) Berechnet nach Angaben Loewys a. a. O.

Versuch 113 (Bekleidet mit Wind) hatte für 18<sup>o</sup> eine Atmungsgröße von 1070,1 ergeben, Versuch 114 (Bekleidet ohne Wind) eine solche von 943,8, die Atmungsgröße war durch den Wind also im Verhältnis von 100 : 113 erhöht worden. Die CO<sub>2</sub>-Bildung betrug ohne Wind 36,9 g/St., mit Wind 44,0 g/St.; die Sauerstoffaufnahme ohne Wind 31,0 g/St., mit Wind 37,4 g/St. Durch den Wind erhöhten sich also die Kohlensäurebildung im Verhältnis von 100 : 119,2 und der Sauerstoffverbrauch fast ebenso, nämlich wie 100 : 120,6; infolge dieses Parallelgehens veränderte sich der respiratorische Quotient unter dem Einfluss des Windes so gut wie gar nicht: er betrug 0,87 ohne Wind und 0,86 mit Wind.

Der neuerliche Nachweis einer, unter dem Einfluss des Windes von 8 m Geschwindigkeit, um rund 20% gesteigerten Kohlensäurebildung deckt sich somit vollkommen mit meiner früheren, auf Respirationsversuche an Pettenkofer's Apparat gestützten Angabe.

Aus allem dem ist ersichtlich, dass es sich in den Fällen, wo eine unter dem Einfluss des Windes gesteigerte Atmungsgröße auf ein gesteigertes Kältegefühl, welches mit, wenn auch geringgradigen Muskelkontraktionen (*Cutis anserina*) verbunden ist, zurückgeführt werden muss, keineswegs um eine bloße Steigerung der Lungenventilation, sondern gleichzeitig um eine lebhaftere Anfachung der Stoffzersetzung handelt.

Wir haben aber oben gesehen, dass auch bei hoher Lufttemperatur unter dem Einfluss des Windes die Atmungsgröße steigt. Und es fragt sich, wie die Erhöhung der Atmungsgröße hier zu erklären sei.

Es kann zunächst keinem Zweifel unterliegen, dass bei den hier in Betracht kommenden höheren Temperaturen unter dem Einfluss des Windes keine wesentlich vermehrte Kohlensäurebildung erfolgt. Ein vermehrter Sauerstoffbedarf besteht also kaum. Bei 25—30<sup>o</sup>, und auch bei 30—35<sup>o</sup>, hatte die Versuchsperson Bretschn. sogar entschieden weniger Kohlensäure im Wind gebildet (siehe Tabelle S. 22) und erst gegen 40<sup>o</sup> war eine geringfügige Erhöhung der Kohlensäurebildung eingetreten. Aber

schon bei 30° Bekleidet, und entsprechend bei 35° Nackt, zeigte sich in den vorliegenden Versuchen die Atmungsgröße bei Aufenthalt in bewegter Luft wesentlich gesteigert (100 : 110, bzw. 100 : 111).

Sicherlich wird daher durch die Steigerung der Atmungsgröße in Wind bei höheren Temperaturen nichts weiter als eine, physiologisch nicht weiter bedeutsame Erhöhung der Lungenventilation bewirkt; ihr Zustandekommen dürfte als ein reflektorischer Vorgang, welcher durch die Abkühlung der Haut veranlaßt wird, zu deuten sein. Man kann diesen gesteigerten Luftwechsel immerhin auch vom wärmephysiologischen Standpunkt als eine Art Hilfsaktion des Körpers, untergeordneter Art freilich, auffassen, welche principiell, insbesondere durch gesteigerte Verdampfung aus Atmung, einer Entwärmung Vorschub leistet, wo Überwärmung in Aussicht steht. Vom hygienischen Standpunkt ist zudem jedes Mittel, wodurch, zumal bei höherer Temperatur, eine Erhöhung der Lungenventilation herbeigeführt wird, aus dem Grunde als eine zweckdienliche Einrichtung anzusehen, weil sich in der besser gelüfteten Lunge weniger leicht Infektionskeime, insbesondere auch der Tuberkelbacillus, festsetzen werden. Ferner kommt vielleicht therapeutisch in Betracht, daß eine vermehrte Lungenventilation bei chronischen Herzkrankheiten eine günstige Wirkung verspricht. Winternitz sah in Kohlensäurebädern die Atmungsgröße um ungefähr 20% (300 : 360) ansteigen, wobei ebenfalls keine erhebliche Oxydationssteigerung eintrat<sup>1)</sup>, meint jedoch gleichwohl in dieser Hinsicht: Die Vermehrung der Atemgröße im Kohlensäurebad, die im wesentlichen durch Zunahme der Atemtiefe erfolgt, kann nicht ohne Einfluß sein auf die Cirkulationsverhältnisse der intrathorakalen Gefäße, vor allem der Venen, und zwar insbesondere auf den inspiratorischen Zufluß des venösen Blutes zum Herzen und die Größe der Diastole.

1) Hugo Winternitz, Über die Wirkung verschiedener Bäder (Sandbäder, Solbäder, Kohlensäurebäder u. s. w.) insbesondere auf den Gaswechsel. Habilitationsschrift, Halle 1902, S. 23 und 31. — In den Kohlensäurebädern war die ausgeatmete Kohlensäuremenge in weit höherem Maße als der Sauerstoffverbrauch gesteigert und der respiratorische Quotient stieg daher von 0,8 auf 1,0 und über 1,0.



Was die Atmungsfrequenz anlangt, so war dieselbe meistens wohl ebenfalls erhöht in denjenigen meiner Windversuche, welche, den Versuchen in Windstille gegenüber, eine höhere Atmungsgröße ergaben. Jedoch erwies sich durchschnittlich die Atmungsgröße weit stärker, als die Frequenz gesteigert. Wo daher der Wind die Atmung überhaupt beeinflusst (steigert), nimmt in der Regel die Tiefe der Atmung erheblich zu. Beispielsweise verhalten sich in den Versuchen Nr. 110 (Windstille bei 16°) und Nr. 112 (Wind bei 16°) die Atmungsgrößen wie 100 : 129, die Atmungsfrequenzen nur wie 100 : 114; in Nr. 103 und Nr. 104, bei 20°, erstere bezw. wie 100 : 116, letztere nur wie 100 : 108; in Nr. 107 und 108 (bei 16° Bekleidet und Nackt) die Atmungsgrößen wie 100 : 112 und die Frequenzen dagegen wie 100 : 100 u. s. w. Weitergehende Angaben über die Steigerung der Tiefe der Atemzüge unter dem Einfluss des Windes zu machen, bin ich nicht in der Lage, da ich mich anfänglich mit der Messung der Atmungsgröße begnügen wollte und erst von Versuch Nr. 76 ab die Atemzüge häufiger notiert habe.

Die Vergleichsversuche in trockener Luft und feuchter Luft (Nr. 95—112) sollten lediglich der Ermittlung der Frage dienen, ob die Luftfeuchtigkeit in den vorausgegangenen Vergleichsversuchen die Resultate trüben konnte. Hierbei hat sich als zweifellos herausgestellt, dass die Atmungsgröße in feuchter Luft stets höher als in trockener, unter Umständen ganz wesentlich höher war. Doch wurden große Unterschiede nur durch außerordentlich beträchtliche Änderungen der Luftfeuchtigkeit erzielt. Im Mittel aller dieser Versuche liefs sich durch eine künstliche Steigerung der Luftfeuchtigkeit um etwa 50% relativer Feuchtigkeit (von etwa 30 auf 80% r. F.) eine Steigerung der Atmungsgröße um etwa 10% erreichen. Da aber die Versuche, welche zu Vergleichen der Atmungsgrößen in bewegter und unbewegter Luft herangezogen wurden, kaum mehr als um 5% r. F. und die meisten noch erheblich weniger differieren, so war der Fehler hieraus äußerst gering; er betrug höchstens 1% der Atmungsgrößen und beeinträchtigte somit die oben gezogenen Schlüsse in keiner Weise.

Beiläufig sei bemerkt, daß die Atmungsfrequenz des Nackten<sup>1)</sup> anscheinend gesetzmäßig, ungeachtet einer erheblichen Steigerung der Atmungsgröße<sup>2)</sup>, in feuchter Luft sogar geringer war als in trockener. Unter solchen Umständen muß, eben durch die Verlangsamung der Atmung, die Tiefe der einzelnen Atemzüge ungewöhnlich groß werden.

Von Interesse sind noch aus der gleichen Versuchsreihe die Angaben, welche die Versuchsperson über ihre Empfindungen machte: Bei 20° in unbewegter Luft merkte der Mann bekleidet keinen Unterschied im Wärmegefühl zwischen trockener und feuchter Luft; im Wind kam ihm bei 20° die trockene Luft kälter als die feuchte vor; bei 15° in unbewegter Luft hielt er im Gegenteil die feuchte Luft für kälter als die trockene. Dabei waren die Atmungsgrößen durchweg in feuchter Luft größer als in trockener (100 : 118, 100 : 105, 100 : 120). Nackt hingegen erklärte er stets die feuchtere Luft für die kältere, sowohl bei 15° ohne Wind (Atmungsgrößen 100 : 115), als bei 25° mit Wind (Atmungsgrößen 100 : 108) und bei 20° mit Wind (Atmungsgrößen 100 : 107).

Nach diesen Ausführungen dürfte sich der gegenwärtige Stand unseres Wissens über die Beeinflussung des menschlichen Organismus durch bewegte Luft, soweit experimentell begründet, im wesentlichen wie folgt zusammenfassen lassen:

1. Gibt sich die Wirkung des Windes durch, wenn auch geringgradigste Kältesymptome (Gänsehaut u. s. w.) zu erkennen, so sind Atmungsgröße sowohl, wie Kohlensäurebildung nebst Sauerstoffverbrauch, auch die Wasserdampfabgabe aus Respiration bedeutend höher als bei Windstille.

2. Unter mittleren Verhältnissen, wo man bewegte und unbewegte Luft unterschiedslos für die Wärmeempfindung hinnimmt, werden Atmungsgröße und Kohlensäurebildung durch den Wind nicht beeinflusst, die Wasserdampfabgabe (aus Perspiration) jedoch bedeutend durch den Wind herabgesetzt.

1) 100 : 75, 100 : 90, 100 : 67 die Atmungsfrequenzen (Trocken : Feucht).

2) 100 : 115, 100 : 108, 100 : 107 die Atmungsgrößen (Trocken : Feucht).

3. In solchen Fällen (höhere Temperaturen, etwa 30° und mehr), wo bewegte Luft als eine Annehmlichkeit empfunden wird, ist die Atmungsgröße durch den Wind gesteigert, die Kohlensäurebildung etwas herabgesetzt, die Wasserdampfabgabe (aus Perspiration) bedeutend durch den Wind herabgesetzt.

4. Bei extrem hohen Temperaturen (Luft wärmer als der Körper) sind Atmungsgröße, auch Kohlensäurebildung in bewegter Luft höher als in ruhender Luft, die Wasserdampfabgabe (aus Perspiration) in bewegter Luft bedeutend höher als in ruhender Luft.

(Folgt Generaltabelle S. 43—48.)

Generaltabelle.

Nr.	Tag 1902	Luft		Ohne oder mit Wind	Bekl. oder nackt	A t m u n g s - g r ö ß e n , Stundenliter	Bemerkungen
		Temp.	Feucht.				
1	13. II.	29,0	—	Ohne	Bekl.	630,6	} Durchweg kein Schweiß. Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 1 u. 4 (Temp. 28,8°) = 603,3; aus 2 u. 3 (Temp. 29,7°) = 688,0.
2	„	30,0	—	Mit	„	783,3	
3	„	29,5	—	„	„	592,8	
4	„	28,6	—	Ohne	„	576,0	
8	14. II.	39,7	8	Mit	„	763,5 (396,0 + 367,5)	} Ziemlich viel Schweiß. Schweiß wie vor, vielleicht mehr. Wenig Schweiß.
9	„	36,4	13	Ohne	„	712,5 (346,5 + 366,0)	
10	„	32,8	17	Mit	„	831,9 (420,0 + 411,9)	
11	15. II.	38,0	13	„	„	684,0 (327,0 + 357,0)	} Mittlere At- mungsgröße aus Nr. 8 u. 10 (Temp. 36,3°) = 797,7.  } Mittlere At- mungsgröße aus Nr. 11 u. 14 (Temp. 38,7°) = 738,2; aus 12 u. 13 (Temp. 39,1°) = 701,3.
12	„	39,3	28	Ohne	„	662,1 (321,0 + 341,1)	
13	„	39,0	15	„	„	740,4 (341,4 + 399,0)	
14	„	39,4	19	Mit	„	792,3 (391,5 + 400,8)	
15	17. II.	10,7	40	Ohne	„	546,0 (282,0 + 264,0)	Sehr kalt, zuweilen Zittern.
16	„	16,5	41	„	„	589,5 (289,5 + 300,0)	»Gerade kalt genug.«
17	„	16,6	43	Mit	„	661,5 (328,5 + 333,0)	»Mächtig kalt«, kälter als in Nr. 15 ohne Wind bei 10,7°.
18	„	20,2	28	Ohne	„	625,2 (291,0 + 334,2)	
19	„	20,4	34	Mit	„	684,0 (327,0 + 357,0)	Kälter als in Nr. 16 ohne Wind bei 16,5°.
20	„	25,5	24	Ohne	„	577,5 (265,5 + 312,0)	»Gerade gut so.«
21	„	25,5	28	Mit	„	639,0 (306,0 + 333,0)	Frösteln.
22	„	30,3	24	Ohne	„	612,9 (288,0 + 324,9)	Kein Schweiß.
23	„	30,4	26	Mit	„	674,4 (316,8 + 357,6)	Angenehmer als zuvor.
24	18. II.	22,6	26	Ohne	„	656,4 (306,0 + 350,4)	Annehmbar warm.
25	„	22,4	30	Mit	„	790,5 (380,1 + 410,4)	Unangenehm kalt. (Gänse- haut.)
26	„	23,8	29	Ohne	„	782,1 (377,1 + 405,0)	Annehmbar warm.
27	„	23,9	29	Mit	„	782,1 (378,0 + 404,1)	Etwas kühl. (Doch keine Gänsehaut.)

44 Über den Einfluss des Windes auf die Atmungsgröße des Menschen.

Nr.	Tag 1902	Luft		Ohne oder mit Wind	Bekl. oder nackt	Atmungs- größe, Stundenliter	Bemerkungen
		Temp.	Feucht.				
28	19. II.	Grad 24,4	% 26	Ohne	Bekl.	600,9 300,0 + 300,9	Windstille wohl etwas an- genehmer als Wind.
29	"	24,4	28	Mit	"	586,8 (289,5 + 297,3)	
30	"	21,9	30	Ohne	"	642,3 309,0 + 333,3	
31	"	21,9	30	Mit	"	681,9 (338,4 + 343,5)	Windstille bedeutend an- genehmer als Wind.
31a	20. II.	34,2	26	Ohne	Nackt	684,0 319,5 + 364,5	
32	"	35,0	32	Mit	"	771,0 (384,0 + 387,0)	Wind angenehmer; ohne Wind etwas, jedoch ganz wenig Schweiß, mit Wind kein Schweiß.
33	"	34,6	30	Ohne	Bekl.	720,0 (349,5 + 370,5)	
34	"	35,6	32	Mit	"	725,4 (345,0 + 380,4)	Ziemlich viel Schweiß, war ohne Wind nackt angenehmer. —
35	"	36,3	32	Ohne	Nackt	639,0 (294,0 + 345,0)	Empfindungen wie in Nr. 31a u. 32. Mittlere Atmungsgröße in Nr. 31 a u. 35 (35,2°) = 661,5; aus 32 u. 36 (36,0°) = 734,4.
36	"	37,1	33	Mit	"	697,8 (350,4 + 347,4)	
37	21. II.	39,1	29	Ohne	"	600,0 267,0 + 333,0	
38	"	39,5	37	Mit	"	841,5 430,5 + 411,0	Wind angenehm, als Wind- stille; ohne Wind sehr viel mehr Schweiß. Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 37 u. 39 (Temp. 39,8°) = 687,0; aus Nr. 38 u. 40 (Temp. 40,0°) = 835,8.
39	"	40,4	37	Ohne	"	774,0 363,0 + 411,0	
40	"	40,4	30	Mit	"	830,1 401,1 + 429,0	
41	22. II.	30,9	26	Ohne	"	699,6 335,1 + 364,5	Wind angenehmer; ohne Wind etwas warm, aber kein Schweiß.
42	"	30,9	26	Mit	"	709,2 359,7 + 349,5	
43	"	31,0	24	Ohne	"	708,3 332,1 + 376,2	Empfindungen wie zuvor. Mittlere Atmungsgröße in 41 u. 43 (30,9°) = 704,0; in 42 u. 44 (30,7°) = 731,4.
44	"	30,5	25	Mit	"	753,6 382,8 + 370,8	
45	24. II.	35,4	25	Ohne	"	705,6 335,1 + 370,5	
46	"	34,0	21	"	Bekl.	733,5 347,1 + 386,4	Durchweg sehr wenig Schweiß. Mittl. Atmungs- größe aus Nr. 45 und 47 (Temp. 34,5°) = 692,6, aus 46 u. 48 (Temp. 34,5°) = 692,3.
47	"	33,5	26	"	Nackt	679,5 339,0 + 340,5	
48	"	35,0	24	"	Bekl.	651,0 316,5 + 334,5	

Nr.	Tag 1902	Luft		Ohne oder mit Wind	Bekl. oder nackt	A t m u n g s - g r ö ß e , Stundenliter	Bemerkungen
		Temp.	Feucht				
		Grad	‰				
49	24. II.	28,1	23	Ohne	Nackt	678,9 (323,4 + 355,5)	Durchweg keine Kälteempfindung. Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 49 u. 51 (Temp. 25,5°) = 677,3, aus 50 u. 52 (Temp. 25,5°) = 681,8.
50	„	24,9	25	„	Bekl.	670,5 (319,5 + 351,0)	
51	„	22,9	25	„	Nackt	675,6 (344,1 + 331,5)	
52	„	26,1	25	„	Bekl.	693,0 (325,5 + 367,5)	
53	25. II.	21,0	28	„	Nackt	635,1 (306,0 + 329,1)	
54	„	20,7	27	„	Bekl.	646,8 (328,8 + 318,0)	Mittl. Atmungsgröße aus Nr. 53 u. 55 (20,3°) = 634,7; aus Nr. 54 u. 56 (20,3°) = 643,6.
55	„	19,6	26	„	Nackt	634,2 (315,6 + 318,6)	
56	„	20,0	26	„	Bekl.	640,5 (307,5 + 333,0)	Mittl. Atmungsgröße aus Nr. 57 u. 58 (20,3°) = 700,0.
57	„	20,3	28	Mit	„	718,8 (351,0 + 367,8)	
58	„	20,2	30	„	„	680,4 (332,4 + 348,0)	Etwas gefroren.
59	26. II.	15,7	39	Ohne	Nackt	742,2 (365,4 + 376,8)	
60	„	15,1	39	„	Bekl.	800,0 (426,0 + 374,0)	Etwas Frieren. Kein Frieren.
61	„	15,1	39	„	Nackt	697,2 (367,8 + 329,4)	
62	„	15,7	39	„	Bekl.	591,0 (297,6 + 293,4)	Frieren stärker als in Nr. 59. Kein Frieren.
63	„	15,5	39	„	„	607,5 (297,0 + 310,5)	
64	„	15,5	39	„	Nackt	844,5 (444,6 + 399,9)	Kein Frieren. Recht stark Frieren.
65	„	15,4	39	Mit	Bekl.	1072,2 (557,4 + 514,8)	
66	„	15,4	39	„	„	939,9 (519,0 + 420,9)	Starkes Frieren wie in 61 u. 64. Starkes Frieren wie in 61 u. 64.
67	27. II.	19,4	37	Ohne	Nackt	564,9 (288,6 + 276,3)	
68	„	19,6	42	„	Bekl.	597,0 (287,1 + 309,9)	Kein Frieren. Wärmer als in 67.
69	„	20,1	43	„	Nackt	625,5 (321,0 + 304,5)	
70	„	20,1	43	„	Bekl.	622,5 (301,5 + 321,0)	Kein Frieren.

Nr.	Tag 1902	Luft		Ohne oder mit Wind	Bekl. oder nackt	Atmungs- größe, Stundenliter	Bemerkungen
		Temp.	Feucht.				
		Grad	%				
71	27. II.	20,2	43	Mit	Bekl.	675,0 (347,1 + 327,9)	Kein Frieren. Mittl. Atmungsgröße aus Nr. 72 u. 74 (19,9°) = 594,0; aus Nr. 71 u. 73 (19,8°) = 674,9.
72	„	20,4	42	„	Nackt	759,0 (373,5 + 385,5)	
73	„	19,3	40	„	Bekl.	674,7 (326,1 + 348,6)	
74	„	19,4	38	„	Nackt	1029,0 (510,0 + 519,0)	Stärkeres Frieren als in Nr. 72.
75	28. II.	16,6	46	Ohne	„	591,6 (293,7 + 297,9)	Keine besondere Empfindung. Mittl. Atmungsgröße aus Nr. 75 u. 77 (16,4°) = 643,4; aus Nr. 76 u. 78 (16,4°) = 638,3.
76	„	16,2	45	„	Bekl.	594,0 (297,0 + 297,0)	
77	„	16,2	47	„	Nackt	695,1 (336,0 + 359,1)	Zuwellen etwas kalt. 20 Atemzüge p. Min.
78	„	16,6	47	„	Bekl.	682,5 (342,6 + 339,9)	Keine besondere Empfindung. 21 Atemzüge p. Min.
79	„	17,0	49	Mit	„	727,8 (376,8 + 351,0)	Zuwellen etwas kalt. 23 Atemzüge p. Min.
80	„	16,5	49	„	„	682,8 (352,8 + 330,0)	Zuwellen etwas kalt. 20-21 Atemz. p. Min.
81	„	16,0	50	„	„	968,4 (495,0 + 473,4)	Kälter als in Nr. 79 u. 80. 22-24 Atemz. p. Min.
82	„	15,7	52	„	„	1029,6 (531,6 + 498,0)	Kälter als in Nr. 79 u. 80. 23-27 Atemz. p. Min.
83	1. III.	14,4	56	Ohne	Nackt	737,1 (336,6 + 400,5)	Etwas kühl, Gänse- haut. 16-22 Atemz. p. Min. Gerade so richtig. 19-23 Atemzüge pro Min. Etwas kühl, Gänse- haut. 18-23 Atemz. p. Min. Etwas Gänsehaut. 22 Atemzüge p. Min.
84	„	14,2	55	„	Bekl.	821,7 (423,0 + 398,7)	
85	„	14,2	55	„	Nackt	1012,5 (528,0 + 484,5)	
86	„	13,8	55	„	Bekl.	924,6 (445,8 + 478,8)	
87	„	13,9	54	„	Nackt	1236,3 (625,5 + 610,8)	Kalt, Gänsehaut und Zittern. 18-20 Atemz. p. Min.
88	„	13,6	55	Mit	Bekl.	1311,9 (624,0 + 687,9)	Schr kalt. (Kälter als zuvor). 22-25 Atemz. p. Min.

Nr.	Tag 1902	Luft		Ohne oder mit Wind	Bekl. oder nackt	Atmungs- größe, Stundenliter	Bemerkungen
		Temp.	feucht.				
		Grad	%				
89	3. III.	9,9	63	Ohne	Bekl.	807,6 (416,4 + 391,2)	Keine besondere Empfind. 20—24 Atemzüge pro Min.
90	„	10,5	66	„	Nackt	1143,6 (564,0 + 579,6)	Sehr kalt (starkes Zittern, auch Schütteln). 23—24 Atemzüge pro Minute.
91	„	13,8	65	„	Bekl.	975,9 (463,2 + 512,7)	Keine besondere Empfind. 23—26 Atemzüge pro Min.
92	„	13,8	69	Mit	„	1018,2 (519,0 + 499,2)	Kalt (Zittern). 24—25 Atemzüge pro Min.
93	„	13,5	65	Ohne	„	946,8 (471,0 + 475,8)	Keine besondere Empfind. 21—24 Atemzüge pro Min.
94	„	13,9	68	„	Nackt	1149,3 (592,8 + 556,5)	Kalt (Zittern). 22—26 Atemzüge pro Min.
95	6. III.	25,5	32	Mit	„	946,8 (456,0 + 490,8)	Mittlere Atmungsgröße aus Nr. 95 u. 96 (25,2°, 32% r. F.) = 975,9; aus 97 u. 98 (24,7°, 76%) = 1049,8. Durchweg gleich kalt (zu- weilen Gänsehaut), oder vielleicht in Nr. 97 u. 98 etwas kälter als in 95 u. 96. Atemz. p. Min. in Nr. 95 = 21—26, in 96 = 24—28; in 97 = 21—25, in 98 = 19—23.
96	„	25,0	33	„	„	1005,0 (540,0 + 465,0)	
97	„	25,0	80	„	„	1163,4 (624,0 + 539,4)	
98	„	24,4	72	„	„	936,3 (486,0 + 450,3)	
99	8. III.	21,4	33	„	„	1017,9 (528,0 + 489,9)	Mittl. Atmungsgröße aus Nr. 99 u. 100 (20,2°, 34% r. F.) = 1011,1; aus 101 u. 102 (20,6°, 84%) = 1077,6. In Nr. 99 zuweilen Gänseh., in 100 zuweilen auch Zit- tern u. Schütteln; in Nr. 101 u. 102 kälter als in 99 u. 100. Atemz. p. Min. in Nr. 99 = 22—25, in 100 = 23—26; in 101 = 13—15, in 102 = 18—19.
100	„	19,1	36	„	„	1004,4 (525,6 + 478,8)	
101	„	20,6	83	„	„	1083,9 (558,0 + 525,9)	
102	„	20,6	85	„	„	1071,3 (543,9 + 527,4)	
103	10. III.	20,6	24	Ohne	Bekl.	764,4 (369,0 + 395,4)	Keine besondere Empfind. 23—25 Atemzüge pro Min.
104	„	20,1	26	Mit	„	845,4 (435,3 + 410,1)	Etwas kalt, aber nur sehr wenig. 25—27 Atemz. p. M.
105	„	19,2	68	Ohne	„	904,8 (429,9 + 474,9)	Keine besondere Empfind. 28 Atemzüge pro Minute.
106	„	20,5	70	Mit	„	897,6 (464,1 + 433,5)	Keine besondere Empfind. 29 Atemzüge pro Minute.
107	13. III.	15,9	35	Ohne	„	768,0 (384,0 + 384,0)	Keine besondere Empfind. 23—26 Atemzüge pro Min.
108	„	15,9	34	„	Nackt	859,5 (442,8 + 416,7)	Etwas kalt, aber nur wenig. 22—26 Atemz. p. M.



Nr.	Tag 1902	Luft		Ohne oder mit Wind	Bekl. oder nackt	Atmungs- größe, Stundenliter	Bemerkungen
		Temp.	Feucht.				
		Grad	%				
109	13.III.	15,6	34	Mit	Bekl.	861,9 (453,3+408,6)	Etwas kalt, aber nur wenig 22 Atemz. pro Min.
110	„	16,1	81	Ohne	„	802,8 (405,9+396,9)	Etwas kalt. 20–23 Atemzüge pro Min.
111	„	16,3	79	„	Nackt	987,0 (513,0+474,0)	Kalt. 16–20 Atemzüge pro Min.
112	„	16,4	82	Mit	Bekl.	1038,6 (546,0+492,6)	Nicht so kalt wie in 111, aber kälter als in 109. 24–25 Atemzüge pro Min.
113	21.III.	18,3	43	„	„	1070,1	Etwas kalt { 44,0 g CO <sub>2</sub> /St., 37,4 g O <sub>2</sub> /St., Quot. = 0,86.
114	„	17,5	42	Ohne	„	943,8	Nicht kalt { 36,9 g CO <sub>2</sub> /St., 31,0 g O <sub>2</sub> /St., Quot. = 0,87.
115	22.III.	15,1	52	„	„	853,2	Nicht kalt { 35,0 g CO <sub>2</sub> /St., 29,3 g O <sub>2</sub> /St., Quot. = 0,87.
116	„	15,3	52	„	„	801,0	Nicht kalt { 28,2 g CO <sub>2</sub> /St., 24,0 g O <sub>2</sub> /St., Quot. = 0,86.
117	„	16,2	52	Mit	Nackt	1009,5	Sehr kalt, Zittern u. Schütteln { 57,3 g CO <sub>2</sub> /St., 51,9 g O <sub>2</sub> /St., Quot. = 0,81.

47

# Über die baktericide Wirkung von Blutserum und Blutplasma.

Von

Dr. med. **Alfred Pettersson.**

(Aus dem pathol. Institute in Upsala.)

Seitdem H. Buchner seine Untersuchungen über baktericide Eigenschaften des Blutes veröffentlichte, sind solche Wirkungen auch von anderen tierischen Flüssigkeiten nachgewiesen worden und das Vorkommen bakterienfeindlicher Stoffe in tierischen Körpersäften ist — von Alfred Fischer und der Tübinger Schule abgesehen — wohl überall angenommen. Betreffs des Blutes ist jedoch das Plasma kaum eingehender untersucht worden, sondern der Nachweis der genannten Eigenschaften bezieht sich auf das defibrierte Blut oder meistens auf das Serum. Erst nach dem Anfange dieser Untersuchung ist eine eingehendere Arbeit von Gengou<sup>1)</sup> über dasselbe Thema erschienen<sup>2)</sup>.

Dafs die Aufschlüsse, welche durch Untersuchung des Serums erhalten wurden, nicht ohne weiteres auf das Blut übertragen

1) Gengou, Octave, Annales de l'Institut Pasteur, Avril 1901.

2) Meine Untersuchung war schon Anfang vorigen Jahres teilweise abgeschlossen und zum Drucke befördert. Der Druck wurde aber verzögert und während der Zeit ist die Arbeit von Gengou erschienen. Da seine Ergebnisse den meinigen in vielen Beziehungen widersprechen, habe ich die Frage einer neuen Untersuchung unterzogen, die aber erst letzten Herbst beginnen konnte.

werden können, ist klar, wenn man die, von der des Plasmas abweichende Zusammensetzung des Serums berücksichtigt. Im Serum ist nicht nur das Fibrinogen größtenteils entfernt und dadurch der Eiweißgehalt vermindert, sondern auch Kalk und Phosphorsäure werden bei der Fibringerinnung aus dem Plasma teilweise ausgeschieden. Dagegen enthält das Serum mehr Serunglobulin als das Plasma, das vielleicht aus den Leukocyten stammt. Ferner reagiert das Serum stärker alkalisch als das Plasma. Die Angabe Thalmanns<sup>1)</sup>, daß Pferde- und Schweins- serum schwach sauer reagiere, ist, wenigstens das Pferdeserum betreffend, sicherlich irrig.

Es scheint a priori auch nicht unwahrscheinlich, daß Verschiedenheiten in der baktericiden Wirkung der beiden Flüssigkeiten bestehen können. Durch die ungleiche chemische Zusammensetzung sind vielleicht Bedingungen vorhanden, welche durch osmotische Prozesse beim Übertragen von Zellen in das Plasma andere intracelluläre Druckverhältnisse hervorrufen, als beim Übertragen in das Serum. Andererseits aber ließe sich auch annehmen, daß die bakterienfeindlichen Körper in verschieden großer Menge im Plasma, aber auch im Serum vorhanden sein können. Von Buchner und seinen Schülern, Hahn, Schattenfroh u. a. ist längst festgestellt, daß die Alexine ihren Ursprung den Leukocyten verdanken. Zusatz von Leukocyten zum Blutserum verstärkt auch im Reagierglase die bakterienvernichtende Wirkung des Serums. Hahn<sup>2)</sup>, Laschtschenko<sup>3)</sup> und Trommsdorff<sup>4)</sup> haben nachgewiesen, daß auch unter diesen Verhältnissen das Abgeben von baktericiden Substanzen der Ausdruck eines vitalen Prozesses der Leukocyten sein kann. Auf einer Extraktion der Alexine oder Freimachen nach »Phagolyse« beruht dagegen die Verstärkung der keimfeindlichen Wirkung aktiver Sera nach Zusatz von Leukocyten anderer Tierspecies, wie in den Versuchen von Laschtschenko,

1) Thalmann, Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. XXVII, 1900.

2) Hahn, M., Archiv f. Hygiene, Bd. XXV.

3) Laschtschenko, P., Archiv f. Hygiene, Bd. XXXVI.

4) Trommsdorff, K., Archiv f. Hygiene, Bd. XI, 1901.

Bail<sup>1)</sup> und Trommsdorff. Bedingungen für verschiedene Verhältnisse im Plasma und im Serum sind schon dadurch vorhanden, daß das Plasma unzweifelhaft eine bessere Konservierungsflüssigkeit für die körperlichen Elemente des Blutes ist als das Serum. Serum wird z. B. ziemlich rasch verfärbt, während ein nach unten angegebener Methoden hergestelltes Plasma noch nach mehreren Tagen fast dieselbe Farbe wie anfangs besitzt. Nach Nakanishi<sup>2)</sup> kann defibriertes Rinderblut noch nach 10 Tagen lebende Leukocyten mit amöboiden Bewegungen enthalten. Es wäre dann nicht undenkbar, daß diese überlebenden Leukocyten in der abnormen Suspensionsflüssigkeit Serum gereizt werden können, daß sie mehr Alexine abgeben als im Plasma. Schon nach kurzer Zeit dürfte aber das Serum das Zerfallen der meisten Leukocyten hervorrufen. Dadurch würde eine Vermehrung in dem Alexingehalte des Serums eintreten derart, daß die bakterienvernichtende Wirkung des Plasmas der des Serums nicht entspreche, sondern geringer sei.

Gerade diese Annahme hat Gengou<sup>3)</sup> geglaubt, als Tatsache feststellen zu können. Nach ihm enthält nämlich das Plasma des kreisenden Blutes kein Alexin. Die Leukocyten sind damit geladen, geben aber, erst wenn sie beim Gerinnen des Blutes geschädigt oder abgestorben sind, das Alexin dem Serum ab.

Kommen im Blute besondere, den Bakterien schädliche Körper vor, dürfte man gern annehmen, daß diese von entstandenen Eiweißniederschlägen leicht mitgerissen werden können, wie z. B. Pepsin gern am Eiweiß haftet. Dies scheint um so mehr annehmbar, da das Serum durch das Blutgerinnsel geradezu filtriert werden muß, ehe es ausgeschieden wird. Die Beobachtung von Buchner, daß im Serum, das man wiederholt hat gefrieren und wieder auftauen lassen, bakterienfeindliche Wirkungen fast ausschließlich den tieferen Schichten zukommen, würde sich vielleicht auf diese Weise erklären lassen.

1) Bail, O., Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. XXVII, 1900.

2) Nakanishi, Münchner med. Wochenschrift, 1899.

3) Gengou, a. a. O.

Diese Schichten waren nämlich trübe und viel reicher an festen Bestandteilen als die obersten. Solchenfalls würde das Plasma stärkere bakterienfeindliche Eigenschaften besitzen als das Serum. Endlich würden vielleicht diese beiden Prozesse gleichzeitig verlaufen können und sich mehr oder weniger ausgleichen. Jedenfalls ist die Gleichwertigkeit von Serum und Plasma nicht ohne weiteres anzunehmen, auch wenn man der im Plasma enthaltenen fibrinogenen Substanz keine bakterienfeindliche Wirkung zuschreibt.

Die Herstellung eines Plasmas von gleicher Zusammensetzung wie die des lebenden Blutes ist bis jetzt nicht gelungen. Jedenfalls kann man auf künstlichem Wege Plasma gewinnen, das dem letzteren weit ähnlicher ist als das Serum.

Um das Plasma zu gewinnen, kann man auf verschiedene Weise verfahren. Schon durch rasches Abkühlen wird das Gerinnen des Blutes gewisser Tiere verhindert. Bis Null abgekühltes Pferdeblut trennt schon nach kurzer Zeit eine tiefe Plasmaschicht ab. Durch Centrifugieren kann das Plasma von Leukocyten leicht frei erhalten werden. Wird das Blut in Gefäßen mit geölten oder paraffinierten Wandungen aufgesammelt, so kann das Gerinnen auch anderer Blutsorten aufgeschoben werden. Bei höherer Temperatur gerinnt aber dieses Plasma sofort und ist also für bakteriologische Zwecke unbrauchbar. Mir ist es wenigstens nie gelungen, in dieser Weise ein Plasma herzustellen, das im Brutofen nicht völlig geronnen wäre.

Gewisse Substanzen besitzen die Eigenschaft, die Gerinnung des Blutes zu verhindern. Einige, wie die von Arthus und Pagés<sup>1)</sup> angegebenen Alkalioxalate, Fluoride und Seife, fällen die löslichen Kalksalze aus. Andere, wie Kaliumcitrat, verändern das Blut in dieser Hinsicht nicht. Für meinen Zweck haben sich nur solche Methoden bewährt, welche keine nennenswerte Verdünnung des Blutes hervorrufen. Das sogenannte »Salzplasma«, das man erhält, wenn Blut aus der Ader in Neutralsalz, z. B. Magnesiumsulfatlösung, aufgefangen wird, und die

1) Arthus et Pagés, Archives de Physiologie, 5 serie, tome 2, 1890, S. 709.

Blutkörperchen abfiltriert werden, ist für bakteriologische Arbeiten völlig unbrauchbar. Peptonplasma, gleichwie das in ähnlicher Weise nach der Injektion eines Extraktes der Mundteile des Blutegels gewonnene Plasma, habe ich auch nicht benutzt, weil es in diesen Fällen nicht ausgeschlossen ist, daß das Plasma wesentlich verändert werden könne.

In den folgenden Versuchen habe ich hauptsächlich die von Arthus und Pagés angegebene Methode mit Kalium- bezw. Natriumoxalat und die von Alex. Schmidt<sup>1)</sup> mit citronensaurem Kali benutzt.

Beim Zusatz von Natriumoxalat entstehen keine, nicht vorher im Blute befindlichen Salze. Deshalb wäre es dem Kalisalze unbedingt vorzuziehen, wenn es nicht viel weniger löslich wäre. Bei + 15° C. löst sich Natriumoxalat in 31,1 Teilen Wasser.

Von einer sterilisierten 10proz. wässerigen Lösung von Kaliumoxalat oder konzentrierten Natriumoxalatlösung wurde im voraus so viel in das sterile Gefäß eingeführt, daß die Oxalatenmenge des aufgesammelten Blutes bis 1,0 per Mille Kalium- oder 0,8 Natriumoxalat betrug. In diese Lösung wurde das Blut eingelassen aus der freipräparierten Carotis oder, bei Pferden und Rindern, aus der Stichwunde. Gerade wenn es sich um Kaninchen- und Meerschweinchenblut handelte, war es nötig, das Blut in die Oxalatlösung einfließen zu lassen, und aufs Beste wurde auch dafür gesorgt, daß die Gefäßwände überall nafs waren, und Salzlösung und Blut sogleich gut gemischt wurden. Im anderen Falle trat leicht teilweise Gerinnung ein.

Nach Gengou<sup>2)</sup> wäre das Oxalatplasma mit Serum nicht zu vergleichen, weil das Oxalat das Alexin zerstört. Die Tatsache, daß die baktericide Wirkung des Serums durch Zusatz von Oxalat abgeschwächt wird, habe ich auch bestätigen können, in einer Konzentration von 1,0 per Mille aber nur gegenüber dem Milzbrandbacillus. Dagegen ruft ein so großer Oxalatzusatz im aktiven Serum stärkere baktericide Wirkung auf *B. coli*, *B. typhi*, *B. pyocyaneum* u. a. hervor. Als Beispiel sei ein

1) Schmidt, Alex., Weitere Beiträge zur Blutlehre. Wiesbaden 1895r

2) Gengou, a. a. O.

Versuch mit Rinderserum und einer mit Kaninchenserum an-  
geführt.

**Versuch I.**

Rinderserum, 20 Stunden alt.

Inhalt der Röhrchen	Einsaat	0 Std.	2 Std.	8 Std.	12 Std.	24 Std.
3 ccm Serum	B. coli	1 982	1156	34	15	4261
do.	,	2 320	1653	20	13	2862
do.	B. typhi	25 307	596	75	41	2480
do.	,	17 800	572	58	22	1717
3 ccm Serum mit 1,0 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> Kalium- oxalat	B. coli	2 100	20	0	0	14
do.	,	2 162	28	1	0	0
do.	B. typhi	28 864	5	1	0	0
do.	,	14 883	3	0	0	5

**Versuch II.**

Kaninchenserum, 18 Stunden alt.

Inhalt der Röhrchen	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.
2 ccm Serum	B. anthraxis	11 448	7	34
do.	,	9 158	416	136
2 ccm Serum mit 1,0 <sup>0</sup> / <sub>100</sub> Kaliumoxalat	,	896	?	7632
do.	,	10 048	78	1242

Der übrige Teil des Versuches ist als »Versuch IV« wieder-  
gegeben und der Vergleich mit dieser Tabelle zeigt, dafs nur  
der Milzbrandbacillus von der gewöhnlichen Regel abweicht.

Die Änderung der baktericiden Wirkung ist nicht ohne Be-  
deutung beim Vergleich des Oxalatplasmas mit dem Serum von  
gleich grossem Oxalatgehalte. Nach Zusatz von 1,0 per Mille  
Oxalat und Entfernen des Niederschlages ist das Oxalat im Über-  
schufs sowohl im Plasma als im Serum. Die Verstärkung bzw.  
Abschwächung der keimfeindlichen Wirkung kann also entweder  
auf diesem überschüssigen Oxalate oder auf den beim Ausfällen  
des Kaliumoxalates entstandenen Salzen oder auch auf beiden  
beruhen. Die bei Zusatz von Kaliumoxalat entstehenden Salze  
sind Kaliumphosphat, -Karbonat und -Chlorid. Der Gehalt  
von jedem dieser Salze dürfte wohl nie gröfser sein als die gegen

0,5 per Mille Kaliumoxalat äquivalente Menge. Bei meinen Versuchen habe ich mich nie überzeugen können, daß sie in dieser Konzentration eine regelmäßige Verstärkung oder Abschwächung der keimfeindlichen Wirkung des aktiven Serums hervorrufen. Bei der doppelt größeren, also 1,0 per Mille Kaliumoxalat entsprechenden Konzentration wirkt dagegen das Kaliumbikarbonat deutlich verstärkend, Chlorkalium scheint indifferent zu sein, das Dikaliumphosphat aber wirkt, wie aus dem folgenden Versuche zu ersehen ist, abschwächend.

**Versuch III.**

Großes Meerschweinchen. Das Serum ungefähr 20 Stunden alt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 Std.
2 ccm gew. Serum	B. typhi	11 320	1895	908	3 116
do.	„	7 186	3243	83	4 960
2 ccm Serum mit 0,04‰ Dikaliumphosphat	„	8 649	1977	8 013	11 628
do.	„	8 140	4261	10 875	16 027

Die Verstärkung der bakterienfeindlichen Wirkung nach dem Oxalatzusatze ist also den entstandenen Salzen wahrscheinlich nicht zuzuschreiben. Anstatt dessen dürfte sie durch das Oxalat selbst hervorgerufen sein. Diese Annahme wird auch dadurch sehr wahrscheinlich, daß größere Oxalattmengen stärkere Erhöhung der baktericiden Wirkung hervorrufen als kleinere, wie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

**Versuch IV.**

Kaninchen. Serum 18 Stunden alt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.
2 ccm gew. Serum	B. coli	2925	4261	270 000
do.	„	3879	6234	300 000
2 ccm Serum mit 1,0‰ Kaliumoxalat	„	3498	3116	30 909
do.	„	4452	3523	173 301
2 ccm Serum mit 2,0‰ Kaliumoxalat	„	3720	400	74
do.	„	4324	1020	72



Ist die Oxalatmenge dagegen so klein, daß kein Überschufs davon vorhanden ist, so kann das Oxalatserum dem gewöhnlichen Serum in keimfeindlicher Wirkung sogar nachstehen.

**Versuch V.**

Hund. Serum ungefähr 18 Stunden alt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 Std.
2 ccm Serum ohne Oxalat	B. typhi	ca. 50000	464	21	260
do.	"	"	12 597	94	440
2 ccm Serum mit 0,5‰ Kaliumoxalat	"	"	381	224	6323
do.	"	"	604	3197	5533

Ist es also sehr wahrscheinlich, daß das Oxalat die Erhöhung der baktericiden Wirkung hervorruft, so entsteht die Frage, von welcher Natur sie ist. Da ist zuerst zu bemerken, daß in dem inaktiven Serum das Oxalat das Wachstum der Bakterien nicht beeinflusst.

**Versuch VI.**

Kaninchen. 18 Stunden altes Serum, inaktiviert, 4 Stunden bei + 55° C.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	1½ St.	3 Std.	4½ St.
2 ccm inaktives Serum	B. coli	592	2480	2 862	42 031
do.	"	636	728	2 156	45 576
do.	B. typhi	2712	2512	33 622	∞
do.	"	2472	2890	5 914	133 689
do.	B. pyocyan.	715	788	720	1 546
2 ccm inaktives Serum mit 1,0‰ Kaliumoxalat	B. coli	672	2718	5 024	58 742
do.	"	752	984	2 175	30 384
do.	B. typhi	3192	3090	19 461	∞
do.	"	2260	2534	8 140	98 241
do.	B. pyocyan.	890	670	652	1 431

Ebenso verhält sich die Bouillon beim Oxalatzusatze. Offenbar ist das Oxalat weder ein Gift für die Bakterien, noch spielt die Erhöhung der Salzkonzentration eine Rolle durch Hervorrufen

von stärkerer Plasmolyse. Solchenfalls würde ein Unterschied eintreten zwischen dem inaktiven Serum mit und ohne Oxalat. Die Annahme Baumgartens, daß die größere Menge von leicht zugänglichen Nährstoffen des inaktiven Serums dem Effekte der Plasmolyse entgegenwirke, während der Mangel des aktiven Serums an solchen die Plasmolyse begünstigen würde, ist nicht stichhaltig. Wie ich früher gezeigt habe<sup>1)</sup>, gibt es keine Veranlassung, anzunehmen, daß das inaktive Serum ein besserer Nährboden ist als das aktive. Die einzige befriedigende Erklärung, ist, daß die Alexine in ihrer Wirkung von anwesenden Neutralsalzen beeinflusst werden. Einige erhöhen, andere schwächen, wie Lingelsheim nachgewiesen hat<sup>2)</sup>, die Alexinwirkung ab. Auch das Verhalten des Milzbrandbacillus dürfte dadurch erklärt werden können. Wenigstens im Kaninchenserum sind die gegen diesen wirksamen Stoffe zum Teil andere, als die gegen die übrigen Bakterien in Betracht kommenden.

Wenn man nun bedenkt, daß die Menge von löslichen Kalksalzen des Plasmas größer ist als die des Serums, so muß unter sonst gleichen Verhältnissen der Überschuss an Oxalat im Serum größer werden als im Plasma. Ruft der Oxalatzusatz eine Verstärkung der keimfeindlichen Wirkung hervor, so sollte diese offenbar im Serum größer sein als im Plasma. Würde aber das Oxalatplasma kräftiger keimtötend sein als das Serum mit gleich großer Menge Oxalat, so ist es einleuchtend, daß das natürliche Plasma dem gewöhnlichen Serum noch mehr überlegen sein muß. In solchem Falle wäre das Oxalatplasma mit dem Serum plus Oxalat zu vergleichen und für diese Untersuchung verwertbar.

Auch mit Seifelösung kann man die Kalksalze ausfällen und dadurch die Blutgerinnung verhindern. Wegen des größeren Molekulargewichts kann man aber keine so konzentrierte Wasserlösung von Seife erhalten, daß sie einer 10proz. Lösung von Kaliumoxalat entsprechen würde. Kaliumoleat löst sich in vier Teilen Wasser. Diese Lösung aber ist syrupdick und vermischt sich viel zu langsam mit dem Blute.

1) Pettersson, Alfred, Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. XXX, 1901.

2) Lingelsheim, Zeitschrift f. Hygiene, Bd. XXXVII.

Übrigens ist käuflich keine Seife zu haben, die für diesen Zweck brauchbar wäre. Ich habe Versuche mit einer 10proz. Lösung von Kalium oleïnicum von Merck angestellt.

Allerdings gelang es, das Gerinnen des Blutes zu verhindern, das Plasma wurde aber vom ausgezogenen und veränderten Hämoglobin rotbraun verfärbt. Das Blut war offenbar auch in anderer Hinsicht verändert. Es dauerte nämlich weit länger, das Plasma durch Centrifugieren aus dem Seifenblute abzusecheiden, als aus dem Oxalat- und dem ebenfalls zu erwähnenden Citratblute. Die Veränderungen beruhen zweifelsohne auf der stark alkalischen Reaktion der Seife. Jedenfalls haben diese Versuche ein gewisses Interesse. Es erwies sich nämlich, daß dieses Seifenplasma keine baktericide Wirkung besaß. Schon nach vier Stunden hatten sich die eingeführten Bakterien erheblich vermehrt, während in dem entsprechenden Serum nach 24 Stunden die Zahl der auskeimfähigen Individuen noch bedeutend geringer war als gleich nach der Einsaat.

Nach Alex. Schmidt hindert auch Kaliumcitrat die Blutgerinnung. Die Menge muß aber ein wenig größer sein als die des Oxalates, etwa 0,3—0,5 %. Auch das Citrat scheint gewöhnlich die Alexinwirkung ein wenig zu verstärken, aber nicht so viel wie das Oxalat. Wie beim Herstellen von Oxalatplasma wurde das Blut aufgesammelt in ein Gefäß, enthaltend 20proz. wässrige Kaliumcitratlösung in der Menge, daß das aufgefangene Blut 0,4 % enthielt. Betreffs Kaninchen und Meerschweinchen sind dieselben Vorsichtsmaßregeln wie für Oxalatblut nötig.

Nachdem das Blut aufgesammelt war, wurde es sogleich centrifugiert. Das Plasma wird aus dem Blute verschiedener Tiere nicht völlig gleich rasch ausgeschieden, am schnellsten beim Pferde, sehr langsam beim Rinde. Durch das Centrifugieren bekommt man ungefähr halb so viel Plasma, wie das in Arbeit genommene Blut. Längeres Centrifugieren gibt kaum größere Mengen, vielleicht aber kann man mehr Plasma gewinnen mit einer Centrifuge von größerer Umdrehungsgeschwindigkeit.

Auf solche Weise hergestelltes Plasma ist schon dem äußeren Aussehen nach dem Serum aus demselben Blute oft nicht völlig gleich. Gewöhnlich ist ersteres heller. Ferner kann das Plasma getrübt sein, während das Serum klar ist, und bisweilen scheint das Plasma größere Viscosität zu besitzen.

Dem natürlichen Plasma ist das Oxalat- und Citratplasma nicht gleichwertig. Aus dem ersteren sind die löslichen Kalksalze entfernt, und anstatt dessen enthält es Kalisalze von den früher mit Ca gebundenen Säuren und eine kleine Menge Oxalat bez. Citrat, da diese Salze regelmäßig im Überschuss zugesetzt werden. Läßt man Plasma vom Pferd, Rind und Meerschweinchen die Nacht über stehen, so entsteht ein geringer amorpher Niederschlag, dessen Natur nicht völlig bekannt zu sein scheint, welcher aber nach Hammarsten<sup>1)</sup> Prothrombin enthält. Das Entstehen dieses Niederschlages ist von Wooldrige im Peptonplasma und später von Wright<sup>2)</sup> im entkalkten Plasma beobachtet worden. Im Kaninchenplasma entsteht ein solcher Niederschlag langsamer und nach einem Tage ist das Plasma oft noch nur opalisierend. Dem auf diese Weise hergestellten Plasma sind also auch gewisse Eiweißkörper entzogen.

Um mit dem Plasma völlig vergleichbar zu sein, sollte das Serum eigentlich gleichzeitig mit diesem gewonnen werden. Oft wird jedoch erst nach einem Tage eine genügende Menge Serum ausgeschieden und deshalb wurde das benutzte Serum in der Regel erst nach 18—20 Stunden entnommen. Man könnte freilich auch das Plasma erst nach dieser Zeit herstellen, was aber nicht empfehlenswert zu sein scheint. Wie näher gezeigt werden wird, verändert sich das Plasma während der Aufbewahrung des Blutes, so daß es noch weniger dem normalen Plasma entspricht als gleich nach dem Entbluten.

Als Testobjekte auf die baktericide Wirkung wurden nur bewegliche Bakterien benutzt und die Einsaat wurde immer aus eintägigen Bouillonkulturen genommen, die keinen Bodensatz

1) Hammarsten, Über die Bedeutung der löslichen Kalksalze für die Faserstoffgerinnung. Zeitschr. f. physiol. Chemie, Bd. 22, S. 345.

2) Wright, A. E., The Lancet, 1892, I, S. 457.

zeigten. Dadurch wurde beabsichtigt, die Einsaat möglichst gleichmäßig zu machen. Um die Keimzahl zu bestimmen, wurden aus den beschickten Plasma- und Serumeprouvetten anfangs und weiter zu bestimmten Zeiten Ösen entnommen und zu Agarplatten verarbeitet.

Plasma und Serum sind nicht gleich reich an festen Bestandteilen. Das erstere enthält davon ungefähr 1% mehr. Beide sind im Vergleich mit gewöhnlicher Nährbouillon ziemlich konzentrierte Lösungen. Doch ist dieses Übergewicht in weit höherem Grade dem Reichtum an Eiweißen als dem an Salzen zuzuschreiben.

Beim Übertragen von Organismen aus Nährbouillon in Plasma bzw. Serum müssen plasmolytische Erscheinungen auftreten und diese dürften vielleicht im Plasma stärker werden als im Serum. Es war deshalb nötig, zu untersuchen, ob durch die stärkere Konzentration des Plasmas ein so reichlicheres Zugrundegehen der eingeführten Zellen infolge entstandener Plasmolyse eintrete, das dadurch eine Fehlerquelle von Bedeutung entstehen kann.

Eine Untersuchung dieser Art war um so nötiger, als nach Walz<sup>1)</sup> eine ganze Reihe von ungiftigen Substanzen gegen gewisse Bakterien völlig gleiche Wirkung wie Blutserum haben soll. Verschiedene Bakterien sind jedoch nicht in gleich hohem Grade empfindlich und auch nicht jede Species zeigt denselben Widerstand gegen verschiedene Substanzen. Es war deshalb nötig, sich eine Vorstellung zu machen von der Empfindlichkeit der für die Untersuchung im übrigen geeigneten Bakterien für etwaige Unterschiede betreffs Konzentration der zu untersuchenden Flüssigkeiten. Da es nicht möglich war, alle Stoffe des Blutplasmas bzw. des Serums in dieser Hinsicht durchzuprüfen, habe ich mich auf das Untersuchen des Verhaltens der Bakterien dem Kochsalze gegenüber eingeschränkt. Aus demselben Fleischwasser wurde gleichzeitig Bouillon und Agar hergestellt und zwar von beiden zwei verschiedene Sorten mit 0,5 und 1,5% und vom

1) Walz, K, Arbeiten a. d. Gebiete der path. Anatomie von Baumgarten, Bd. III, 1899.

Agar außerdem solches mit 1,0 % Kochsalz. In diesen Bouillon-sorten züchtete ich die zu untersuchenden Bakterien einige Tage, damit sie dem neuen Nährmedium völlig angewöhnt seien. Danach wurden aus den verdünnten Bouillonkulturen Ösen genommen und zu Platten aus Agar von den drei verschiedenen Salzkonzentrationen verarbeitet. Die Verhältnisse waren also in jeder Reihe, vom Kochsalz abgesehen, völlig gleich. Wenn eine konstante Differenz zwischen den in den Platten derselben Serie aufgegangenen Kolonien zu finden war, mußte diese sich auf die ungleiche Kochsalzmenge beziehen.

#### Versuch VII.

Agarplatten von verdünnten Bouillonkulturen mit 0,5 % Kochsalz.

Einsaat	Agar mit 0,5 % Na Cl	Agar mit 1,0 % Na Cl	Agar mit 1,5 % Na Cl
B. coli	846	913	634
„	2204	2179	1645
B. typhi	929	853	832
„	1123	1075	1367
B. pyocyanus	758	671	552
„	1450	1223	1126
B. Proteus	1529	1370	1400
„	2021	1648	1800
B. cholerae	127	15	0
„	7500	1783	85

#### Versuch VIII.

Agarplatten von verdünnten Bouillonkulturen mit 1,5 % Kochsalz.

Einsaat	Agar mit 0,5 % Na Cl	Agar mit 1,0 % Na Cl	Agar mit 1,5 % Na Cl
B. coli	4640	6260	6248
„	6416	8968	9112
B. typhi	1627	1784	1698
„	4570	4992	5563
B. pyocyanus	4923	4578	4197
„	436	452	471
B. proteus	2210	2329	1978
„	1272	1160	1228
B. cholerae	388	441	32
„	8400	9784	3712

In diesen Versuchen ist jede Platte im ganzen gezählt worden einige bei Loupenvergrößerung nach Einteilen in kleine Felder mit feiner Feder.

Aus den Versuchen geht hervor, daß der Choleravibrio weit empfindlicher ist als die übrigen Organismen, was ja auch früher bekannt war. Er wurde auch bei den folgenden Versuchen ausgeschlossen. Es wäre indes irrig, die Empfindlichkeit des *Vibrio cholerae*, welche der bedeutende Wegfall von auskeimenden Zellen der in der zweiten und dritten Spalte der Tabelle VII angegebenen Proben andeutet, nur auf die durch Osmose veränderten Druckverhältnisse zurückzuführen. Sonst würden bei der Einsaat aus der Bouillonkultur mit 1,5% Kochsalz die meisten Kolonien in Agarplatten mit 1,5% Kochsalz, die wenigsten in den Platten mit 0,5% aufgehen. Anstatt dessen sind, wie die Tabelle VIII zeigt, die meisten in den Platten mit 1,0% Kochsalz zu finden. Dies kann kein Zufall sein, denn alle Versuche mit Choleravibrio ergaben übereinstimmende Resultate. Der Befund ist offenbar so zu erklären, daß Kochsalz schon in einer Menge von 1,5% auf das Wachstum des Choleravibrio ziemlich kräftig hemmend einwirkt. Bei der Versuchsanordnung, welche die Tabelle VII darstellt, wirken die Wachstumshemmung des Kochsalzes und die Plasmolyse zusammen, in der anderen Versuchsreihe aber ist das nicht der Fall. Agar mit 1,0% und 0,5% Kochsalz ist ein so bedeutend besserer Nährboden, daß die Zahl der Zellen, welche dort mehr aufkeimen, reichlich den Verlust deckt, welcher durch Untergang infolge veränderter Druckverhältnisse entsteht. Auch betreffs der übrigen Organismen deuten einige Versuche in diese Richtung. Doch kann man daraus nicht eben viel schließen, weil für diese die Differenz offenbar zu klein ist, als daß sie mit dieser nicht allzu genauen Methode bestimmt werden könnte. Die Wirkung der größeren Salzkonzentration ist im großen und ganzen nicht so stark, daß sie völlig verdeckt werden kann von dem unvermeidlichen Unterschiede in der Größe der Einsaat. Der größte Teil der Differenz zwischen Plasma und Serum bezieht sich auf das Eiweiß. Betreffs Eiweißlösungen dürfte ein Unterschied von 1% keine nennenswerten

plasmolytischen Erscheinungen hervorrufen, was direkte Untersuchungen auch bewiesen haben. Der Gehalt des Blutes an Salzen aber ist kleiner als 1% und die Hauptmasse besteht aus Kochsalz. Der Unterschied in dieser Hinsicht zwischen Plasma und Serum muß also gerade deshalb sehr unbedeutend sein, weil durch die Gerinnung nicht Kochsalz sondern nur andere Salze dem flüssigen Teile des Blutes entzogen werden. Dafs das Plasma eine ein wenig konzentriertere Lösung als Serum ist, scheint mir also für die folgenden Untersuchungen unberücksichtigt bleiben zu können.

### Hund.

Das Hundeblood gerinnt ziemlich langsam. Es gelingt auch ohne Schwierigkeit, das Blut dauernd flüssig zu halten bei einem Gehalt von nur 0,5‰ Kaliumoxalat, wenn es in paraffinierte Gefäße aufgefangen und rasch abgekühlt wird. Das Plasma ist gewöhnlich ungefärbt; das Serum aber oft schwach rötlich.

### Versuch IX.

Mittelgroßer, männlicher Rattenfänger. Ein Teil des Blutes wurde mit 1,0 per Mille Kaliumoxalat versetzt und sogleich centrifugiert. Das übrige wurde benutzt, um Serum zu bekommen. Nach 14 Stunden wurde das Serum abgenommen. Auch diesem wurde 1,0 per Mille Oxalat zugesetzt

Inhalt der Röhrcben	Einsaat	0 Std.	2 Std.	8 Std.	12 St.	24 St.
2 ccm Oxalatplasma	B. anthracis	126	114	19 525	—	—
do.	„	124	87	17 172	—	—
do.	B. coli	3 712	66	3	2	5 914
do.	„	—	204	23	18	31 212
do.	B. typhi	13 165	43	1	0	2
2 ccm Serum mit 1,0 per Mille Kaliumoxalat	B. anthracis	117	155	16 744	—	—
do.	„	131	52	19 461	—	—
do.	B. coli	4 096	688	41	82	ca. 400 000
do.	„	—	2024	217	2436	∞
do.	B. typhi	15 264	1912	349	840	∞

Bemerkenswert ist, dafs betreffs des B. anthracis, der vom Hundeserum nicht beeinflusst wird, kein Unterschied zwischen



Plasma und Serum besteht. Dies stärkt auch die oben dargestellte Anschauung über die Wirkungsweise des Oxalats. Wo keine Alexinwirkung stattfindet, verhält sich das Oxalat wie im inaktiven Serum. Auf *B. coli* und *B. typhi* wirkt dagegen das Plasma viel stärker keimfeindlich als das Serum.

#### Versuch X.

Junge Hündin. Anordnung wie im vorigen Versuche. Das Serum wurde nach 18 Stunden abgenommen.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 St.	24 St.
2 ccm Oxalatplasma	<i>B. coli</i>	4 579	452	1	3	34 344
do.	,	4 960	1210	6	2	13 737
do.	<i>B. typhi</i>	10 802	38	1	2	198
do.	,	9 094	50	7	10	91
2 ccm Serum mit 1,0‰ Oxalat	<i>B. coli</i>	4 380	410	16	208	∞
do.	,	4 770	228	12	352	∞
do.	<i>B. typhi</i>	12 248	244	8	33	∞
do.	,	10 048	315	21	384	∞

Auch hier ist das Plasma dem Serum überlegen und besonders betrifft *B. typhi* ist der Unterschied auffallend. Die baktericide Wirkung ist auch überhaupt gröfser auf den Typhoidbacillus als auf *B. coli*.

#### Versuch XI.

Hund, 3 Jahre alt. Das Plasma stammte aus Citratblut. Das Serum wurde nach 18 Stunden dem Gerinnsel entnommen, der Versuch aber wurde erst 2 Tage später angestellt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 Std.
2 ccm Citratplasma	<i>B. coli</i>	3 275	623	9 476	500 000
do.	,	2 989	744	14 182	∞
do.	<i>B. typhi</i>	55 704	7 632	133	515
do.	,	84 064	7 568	161	1 291
2 ccm Serum mit 1,0 p. m. Citrat	<i>B. coli</i>	2 734	1 838	400 000	∞
do.	,	3 625	2 257	500 000	∞
do.	<i>B. typhi</i>	ca. 50 000	10 638	165	1 049
do.	,	ca. 80 000	38 350	596	20 256

In diesem Versuche ist der Unterschied zwischen Plasma und Serum nicht sehr grofs, die baktericide Wirkung aber ist auch nicht stark.

Wie ich früher bemerkt habe, ist es mir nie gelungen, mit der Paraffinmethode ein Plasma zu gewinnen, das im Brutschrank nicht sofort völlig gerann. Auch gleichzeitiges Abkühlen beim Aufsammeln des Blutes gab kein haltbares Plasma. Nichtsdestoweniger ist dieses Verfahren zu benutzen, um zu entscheiden, ob das Plasma dem Serum in keimfeindlicher Wirkung nachstehe. Ist nämlich das Plasma, wie Gengou behauptet, weniger wirksam als das Serum, so mufs offenbar das aus diesem, von Leukocyten freien Plasma entstandene Serum geringere baktericide Wirkung besitzen als das bei der gewöhnlichen Blutgerinnung erhaltene.

**Versuch XII.**

Junge Hündin. Ein Teil Blut wurde in paraffinierten Gefäfsen aufgesammelt, rasch abgekühlt und bei ungefähr 0° C. centrifugiert. Das gewonnene Plasma wurde in den Brutschrank eingestellt, bis es geronnen war, was sofort eintrat. Aus dem Gerinnsel wurde die Flüssigkeit mit einem sterilen Glasstäbchen ausgeprefst. Im Gerinnsel waren bei mikroskopischer Untersuchung nur einzelne Leukocyten zu sehen. In der ausgeprefsten Flüssigkeit, welche kühl gestellt wurde, trat während der Nacht noch einmal Gerinnung ein. Das zum Vergleichen nötige Serum wurde auf gewöhnliche Weise nach 18 Stunden aufgesammelt.

Inhalt der Röhrenchen	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 St.	24 St.
2 ccm Serum aus Plasma	B. coli	4 897	2645	34 916	∞	—
do.	"	7 250	2925	135 715	∞	—
do.	B. typhi	11 829	300	7	45	∞
do.	"	8 704	362	2	34	∞
2 ccm Serum aus Blut	B. coli	5 157	2817	49 226	∞	—
do.	"	5 787	2556	118 487	∞	—
do.	B. typhi	9 031	332	23	41	∞
do.	"	10 875	636	119	504	∞

Das aus dem Plasma hergestellte Serum ist dem bei der gewöhnlichen Blutgerinnung entstandenen Serum völlig gleichwertig. Auch das Plasma mufs also ebenso wirksam gewesen

1) Gengou, a. a. O.

sein wie dieses letztere Serum. In der That ist es wahrscheinlich sogar noch wirksamer gewesen, wie ich später zeigen werde.

Beim Hunde scheint also das Plasma in betreff der Wirkung auf *B. coli* und *B. typhi* dem Serum deutlich überlegen zu sein. *B. pyocyaneus* und *B. proteus* sind gegen das Hundeblood überhaupt zu wenig empfindlich, als dafs ein Unterschied zwischen Plasma und Serum hervortreten könne.

### Kaninchen.

Kaninchenserum und Plasma sind beide fast ungefärbt, können theils klar, theils schwach trüb sein. Im letzteren Falle werden sie im Brutschrank bisweilen klar, wobei der im Plasma entstandene Niederschlag sich zu einem kleinen Klümpchen zusammenballt.

#### Versuch XIII.

Mittelgroßes Kaninchen. Ein Teil des Blutes wurde mit 1,0 ‰ Kaliumoxalat versetzt und zum Gewinnen von Plasma benutzt. Aus dem anderen Teile wurde Serum gewonnen, das nach 18 Stunden aufgesammelt wurde.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	24 St.	36 St.
2 ccm Kaliumoxalatplasma	<i>B. coli</i>	564	1	0	0	0
do.	„	628	0	0	0	0
do.	<i>B. typhi</i>	54 189	0	0	18	—
2 ccm Serum mit 1,0 ‰ Kaliumoxalat	<i>B. coli</i>	604	3	1	2 353	∞
do.	„	640	10	0	0	1208
do.	<i>B. typhi</i>	50 000	64	31	271 737	—

Die Überlegenheit des Plasmas ist offenbar.

#### Versuch XIV.

Kleines Kaninchen. Anordnung wie im vorigen Versuche. Das Serum war 20 Stunden alt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.
2 ccm Kaliumoxalatplasma	<i>B. pyocyaneus</i>	203	227	1 723
do.	„	258	233	1 208
2 ccm Serum mit 1,0 ‰ Oxalat	„	200	970	12 904
do.	„	157	272	7 664

Auch *B. pyocyaneum*, betreffs dessen eine eigentliche baktericide Wirkung in diesem Versuche nicht zu bemerken ist, wird in seinem Wachstum von Plasma weit mehr gehemmt als von Serum.

**Versuch XV.**

Kaninchen. 30 ccm Blut wurden in soviel Natriumoxalatlösung aufgenommen, daß es davon 0,8 ‰ enthielt, und danach sogleich centrifugiert. Das übrige Blut wurde zum Gewinnen von Serum benutzt, das nach 18 Stunden dem Gerinnsel entnommen wurde.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 St.	24 St.
2 ccm Natriumoxalatplasma sofort	<i>B. coli</i>	756	6	0	0	1
do.	„	711	4	0	7	23
do.	<i>B. typhi</i>	69 324	106	1	1	18
do.	„	78 228	1850	1	0	8
do.	„	ca 70 000	667	2	1	15
do.	<i>B. pyocyan.</i>	2 289	1272	2480	4 324	15 576
do.	„	1 836	1081	3116	9 858	38 980
2 ccm Serum mit 0,8 ‰ Natriumoxalat	<i>B. coli</i>	875	23	70	6 328	∞
do.	„	636	29	8	90	9 667
do.	<i>B. typhi</i>	ca. 70 000	88	82	468	∞
do.	„	ca. 70 000	2136	18	91	∞
do.	„	ca. 70 000	1564	113	146	∞
do.	<i>B. pyocyan.</i>	2 098	1653	7186	17 362	273 328
do.	„	1 748	1435	8840	26 330	∞

Das Resultat stimmt mit dem vorigen völlig überein. Der Unterschied zwischen Plasma und Serum ist betreffs der empfindlichen Organismen *B. coli* und *B. typhi* groß. Ist die Alexinwirkung aber schwach wie gegen *B. pyocyaneum*, so muß selbstverständlich auch der Unterschied kleiner werden.

**Versuch XVI.**

Großes Kaninchenweibchen. Das für das Gewinnen von Plasma bestimmte Blut wurde in Citratlösung aufgesammelt. Das Serum wurde nach 24 Stunden aufgenommen und mit Citratlösung versetzt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.	12 St.	24 St.
3 ccm Citratplasma	<i>B. coli</i>	3 763	1 484	19 762	24 160	—
do.	<i>B. typhi</i>	14 310	27	0	0	1

## Fortsetzung zu Versuch XVI.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.	12 Std.	24 Std.
3 ccm Citratplasma	B. pyocyan.	1 404	1 176	18 126	32 617	—
do.	B. proteus	24 040	17 680	64 108	—	—
3 ccm Serum mit 4,0 ‰ Citrat	B. coli	3 512	2 480	300 000	∞	—
do.	B. typhi	18 200	1 828	231	1 948	ca. 350 000
do.	B. pyocyan.	1 640	3 561	110 000	∞	—
do.	B. proteus	21 515	40 068	128 000	—	—

Auch in diesem Versuche ist das Plasma dem Serum überlegen. Die Einsaat ist ziemlich groß, die des *B. typhi* ausgenommen, und deshalb ist die baktericide Wirkung nicht besonders hervortretend. Im Plasma ist jedoch die Bakterienzahl nach 4 Stunden überall gesunken, während im Serum derselben Zeit *B. pyocyaneum* und *B. proteus* sich bedeutend vermehrt haben.

Gegen den Milzbrandbacillus wirkt das Oxalatplasma ebenfalls stärker baktericid als das Serum mit Oxalat.

## Versuch XVII.

Kaninchen. Kaliumoxalatplasma. Das Serum wurde nach 20 Stunden aufgenommen.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.
2 ccm Oxalatplasma	B. anthracis	54	0	592
do.	„	119	0	10 494
2 ccm Serum mit 1,0 ‰ Oxalat	„	66	648	∞
do.	„	113	1280	117 484

Daraus kann man aber nichts folgern. Wie bei den anderen Organismen das Oxalat das verstärkende Agens zu sein scheint, so ist es wahrscheinlich für den Milzbrandbacillus das abschwächende. Das Serum enthält mehr überschüssiges Oxalat als das Plasma. Die schwächere, keimfeindliche Wirkung würde

also nur davon herrühren können. Überdies würde eine Änderung in der baktericiden Wirkung gegen nur eine Bakterie schwer verständlich sein, wenn die Wirkung auf diese demselben Stoffe zuzuschreiben wäre, der gegen die übrigen wirksam ist. Das Kaninchenserum besitzt aber, wie wir gleich sehen werden, mehrere baktericide Stoffe.

Die Ergebnisse der bis jetzt angeführten Versuche widersprechen denen von Gengou völlig, obwohl sie teilweise mit denselben Blutsorten angestellt sind. Zu bemerken ist aber, daß Gengou für seine Versuche meistens den Cholera vibrio und den Milzbrandbacillus benutzt hat. Ich habe absichtlich beide vermieden. Der Cholera vibrio ist, wie vorher angeführt, viel zu empfindlich, als daß man den Einfluß der Konzentrationschwankungen sicher ausschließen könnte. Betreffs des Milzbrandbacillus ist zu bemerken, daß er erstens für baktericide Versuche überhaupt sehr wenig geeignet ist, wie schon z. B. Wilde<sup>1)</sup> hervorgehoben hat. Zufolge seiner Neigung, sofort zu Boden zu sinken, entzieht er sich gewissermaßen der Wirkung der Alexine und wegen seiner Eigenschaft, lange Fäden zu bilden, entspricht die Kolonienzahl der Platte bei weitem nicht der Menge der Individuen in der verarbeiteten Serumprobe. Gegen das Kaninchenserum verhält er sich weiter ganz anders als andere Organismen, so daß man nicht ohne weiteres die damit erhaltenen Ergebnisse verallgemeinern darf. Das Absterben tritt ganz momentan ein und die baktericide Wirkung auf Milzbrandbacillen wird nicht, wie Bonaduce<sup>2)</sup> und Walz<sup>3)</sup> zuerst beobachtet haben, durch halbstündiges Erwärmen bei + 55°C. wie die auf andere Organismen aufgehoben. Wilde nimmt deshalb an, daß beim Kaninchen außer den Alexinen noch ein dem Milzbrandbacillus schädliches Agens existiere, das bei + 55°C. nicht zerstört wird. Mit dieser Annahme stimmt auch der folgende Versuch überein.

1) Wilde, M., Zeitschrift f. Hygiene, Bd. 37, 1901.

2) Bonaduce, S., Beiträge z. pathol. Anatomie etc. von Ziegler, Bd. 12, 1893.

3) Walz, K., Arbeiten aus dem Gebiete der path. Anatomie, Bd. III, 1899, S. 32.

## Versuch XVIII.

Kaninchen. Das nach 18 Stunden aufgenommenen Serum wurde in drei Teile geteilt. Zu dem einen wurde eine 12stündige Agarkultur von Milzbrandbacillen zugesetzt und gut verteilt. Der zweite Teil wurde mit einer gleich alten, durch Hitze abgetöteten Kultur versetzt. Nach Aufbewahren über Nacht bei 0° C. wurde das bacillenhaltige Serum centrifugiert. Von allen Sera wurden Versuche mit aktivem und mit 1/2 Stunde bei + 55° C. inaktiviertem Serum angestellt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	24 Std.
2 ccm gew. Serum, aktiv	B. anthracis	173	0	0	0
do. „	„	218	0	0	0
do. inaktiv	„	378	0	0	18
do. „	„	564	0	0	0
2 ccm mit getöteten Milzbrandbac. vorbeh. Serum, aktiv	„	674	0	0	0
do. „	„	1396	0	1	0
do. inaktiv	„	731	2	628	∞
do. „	„	—	—	—	—
2 ccm mit lebenden Milzbrandbac. vorbeh. Serum, aktiv	„	826	0	0	0
do. „	„	1876	1	0	0
do. inaktiv	„	648	8	1832	∞
do. „	„	1258	67	2496	∞

Durch Kontrollplatten wurde festgestellt, daß das mit lebenden Bacillen vorbehandelte Serum durch das Centrifugieren wirklich von diesen befreit worden war. Das fast momentane Absterben macht sich sehr deutlich geltend in dem gewöhnlichen Serum. Die Einsaat war nämlich in den entsprechenden Proben gleich groß, ein bzw. zwei Tropfen einer Bouillonaufschwemmung. Das mit Milzbrandbacillen vorbehandelte aktive Serum weicht bei dieser kurzen Beobachtungszeit und mäfsiger Einsaat, von dem gewöhnlichen nicht ab. Im inaktiviertem Zustande ist aber der Unterschied groß. Offenbar haben die Milzbrandbacillen schon bei 0° C. den grössten Teil der wärmebeständigen baktericiden Körper absorbiert. In dieser Hinsicht weicht dieser Körper von den gewöhnlichen Alexinen auch ab. Wie Wilde<sup>1)</sup>

1) Wilde, M., Über die Absorption der Alexine durch abgetötete Bakterien. Berl. klin. Wochenschr., 1901.

gezeigt hat, werden die Alexine bei 0°C. wenigstens von getöteten Bakterien nicht absorbiert. Nach dem oben Angeführten ist es wohl kaum möglich, Gengou beizustimmen, daß das Zugrundegehen des Milzbrandbacillus im Kaninchenserum nur durch das Serumalexin hervorgerufen wäre.

Aus dem Verhalten des Kaninchensersums gegen den Milzbrandbacillus dürfte man betreffs der Beziehung dieses Serums zu anderen Organismen nicht allzuviel folgern können. Auch Gengou bemerkt, daß er viel öfter einen Unterschied gefunden hat zwischen Serum und Plasma in der baktericiden Wirkung gegen den Milzbrandbacillus als gegen den Cholera vibrio, die Coli- und Typhibacillen. In mehreren Versuchen war sogar der Cholera vibrio ebenso rasch im Plasma als im Serum untergegangen.

Wäre die Annahme Gengous zutreffend, daß die Alexine erst nach der Blutgerinnung von den Leukocyten dem Serum abgegeben werden, würde man natürlicherweise erwarten, daß beim Stehen des Blutes auch dem Plasma Alexin abgegeben wird. Um zu sehen, ob vielleicht die keimfeindliche Wirkung des Plasmas beim Stehen des Blutes erhöht wird, habe ich sofort abcentrifugiertes Plasma mit solchem nach 24 Stunden verglichen.

#### Versuch XIX.

Junger Hund. Kalium-Oxalatplasma.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 Std.
2 ccm Plasma sofort	B. coli	6 232	2272	107	2861
do.	„	5 787	1318	26	7504
do.	B. typhi	13 356	354	25	0
do.	„	17 044	1500	24	0
do.	B. pyocyan.	947	1278	6 042	—
do.	„	1 004	884	7 836	—
2 ccm Plasma nach 24 Stunden	B. coli	7 886	1768	30	∞
do.	„	5 660	1621	8	∞
do.	B. typhi	14 700	1296	148	142
do.	„	15 836	1068	296	868
do.	B. pyocyan.	1 017	979	12 020	—
do.	„	890	871	10 303	—



Die baktericide Wirkung des Plasmas sinkt offenbar allmählich während des Stehens des Blutes, obwohl die Leukocyten unzweifelhaft auch in dem flüssigen Blute allmählich absterben, und, nach Gengou, eine Abgabe von Alexinen also stattfinden müsste. Durch diese Verminderung der keimfeindlichen Wirkung des Plasmas ist freilich nicht bewiesen, daß ein Austreten von Alexinen nicht vorkomme, jedenfalls aber, daß es kleiner sein muß, als daß die fortgehende Abschwächung der Alexine dadurch ausgeglichen würde.

In betreff des Hundes und des Kaninchens kann ich Gengou betreffs seiner Ansicht über die Beziehung des Serums zum Plasma nicht beistimmen. In meinen Versuchen war die keimfeindliche Wirkung des Plasmas immer größer als die des Serums. Wodurch wird aber diese Abschwächung beim Gerinnen hervorgerufen? Die Möglichkeit liegt ja sehr nahe, daß bei und nach der Gerinnung Stoffe aus den Zellen in das Serum austreten können, welche das letztere zu einem für die Bakterien weit besseren Nährboden machen als das Plasma. Die roten Blutkörperchen dürften solche Körper enthalten. Buchner fand bei seinen grundlegenden Untersuchungen, daß das Blut, nicht aber das Serum, beim Gefrieren seine keimfeindlichen Eigenschaften verlor. Im Einklang mit dieser Thatsache steht offenbar die früher erwähnte Beobachtung betreffs des Seifeplasmas. In beiden Fällen deutet das Austreten des Hämoglobins aus den roten Blutkörperchen auf eine starke Beschädigung der Zellen hin. Wie ich früher erwähnt habe, ist das Serum im Vergleich mit dem Plasma gewöhnlich ein wenig stärker gefärbt. Daß diese Färbung von gelöstem Hämoglobin herrührt, ist nicht zu bezweifeln. Kann aber das Hämoglobin aus den Blutkörperchen austreten, so dürfte auch anderen Stoffen kein Hindernis im Wege stehen.

Es war also zunächst zu untersuchen, ob die bakterienfeindliche Wirkung des Serums dadurch vermindert wird, daß es weit länger in Berührung mit dem Blutkörperchen ist, als das von den übrigen Blutbestandteilen sogleich getrennte Plasma, oder ob das Serum schon von Anfang an dem Plasma nachsteht.

**Versuch XX.**

Großes Kaninchen. Die Gefäße blieben nach der Blutentnahme in schiefer Lage, wurden gleich nach der Gerinnung aufrecht gestellt und das nach 2½ Stunden ausgetretene Serum aufgenommen. Danach wurden die Gefäße wieder schief gelegt. Nach 42 Stunden wurde das übrige Serum entnommen, nachdem kurz vorher das Blutgerinnsel von der Wand gelöst worden war.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.	12 Std.	24 Std.
3 ccm Serum nach 2½ Stunden	B. coli	802	119	477	4 048	∞
do.	B. typhi	27 856	62	153	896	—
do.	B. pyocyan.	3 482	26 330	—	—	—
do.	B. proteus	6 297	7	0	2	2240
3 ccm Serum nach 42 Stunden	B. coli	1 009	464	5088	22 800	∞
do.	B. typhi	24 384	704	1188	7 632	—
do.	B. pyocyan.	2 925	22 323	—	—	—
do.	B. proteus	5 914	6	1	4	1130

Dafs eine Verschlechterung desjenigen Serums stattgefunden hat, das mit dem Gerinnsel in Berührung gewesen war, ist betreffs B. coli und B. typhi offenbar. Dasselbe Verhältnis zeigt, B. typhi betreffend, der folgende Versuch.

**Versuch XXI.**

Kaninchen. 1½ Stunden nach dem Entbluten wurde das ausgeschiedene Serum aufgenommen, das übrige nach 16 Stunden.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.	24 Std.	36 Std.
3 ccm Serum nach 1½ Stunden	B. typhi	4 978	8	0	5	22
do.	„	18 126	54	0	1	—
3 ccm Serum nach 16 Stunden	„	5 724	12	1	116	∞
do.	„	21 178	780	6	17 744	—

Ähnlich verhielten sich weitere Versuche, wenn es sich um B. coli und B. typhi handelte. Die übrigen zeigten keinen deutlichen Unterschied. Dies scheint anzudeuten, dafs schon bei der Gerinnung die keimfeindliche Wirkung des flüssigen Teils des Blutes vermindert werden kann.

Es ließe sich auch denken, dafs dieser Unterschied zwischen Plasma und Serum, wenigstens teilweise, dadurch entstanden sein-

könne, dafs in Berührung mit dem Blutkuchen die keimfeindlich wirkenden Körper dem Gerinnsel anhaften. Um zu sehen, ob der Faserstoff die Eigenschaft besitzt, das Alexin zu absorbieren, wurden folgende Versuche angestellt.

#### Versuch XXII.

Hund. Sofort nach dem Centrifugieren des Kaliumoxalatblutes wurde zu einem Teile des Plasmas von einer 6 proz.  $\text{CaCl}_2$ -Lösung die dem zugefügten Oxalate äquivalente Menge Chlorkalcium zugesetzt. Nach dem Gerinnen des Plasmas, das sehr rasch eintrat, wurde mit einem Glasstäbchen das Serum aus dem Gerinnsel sorgfältig ausgepresst. Das so erhaltene Faserstoffgerinnsel übertrug ich in eine Portion Oxalatplasma desselben Tieres. Nach 36 Stunden wurde dieses Plasma mit nicht vorbehandeltem Plasma verglichen.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.	12 Std.
2 ccm Plasma	B. coli	3432	781	26	148
do.	,	3328	798	11	95
2 ccm mit Fibrin behandeltes Plasma	,	3984	2256	748	2439
do.	,	6200	325	140	4340

Eine Verminderung in der keimfeindlichen Wirkung des Plasmas, das mit dem Fibrin in Berührung war, ist eingetreten. Es ist sehr wahrscheinlich, dafs diese dadurch entstanden ist, dafs das Faserstoffgerinnsel dem Plasma einen Teil des Alexins entnommen hat. Würde die Sache sich so verhalten, dürfte man sicherlich auch annehmen, dafs gerade im Gerinnungsaugenblicke das Mitreissen dieser Körper am größten sein würde. Jedenfalls dürfte der frisch entstehende Faserstoff mehr Alexin absorbieren als der im vorigen Versuche benutzte, welcher nach dieser Anschauung bereits vorher mit Alexin beladene war.

Setzt man zu dem abcentrifugierten Oxalatplasma sofort die dem Oxalate entsprechende Menge  $\text{CaCl}_2$  zu, so gerinnt es meistens sehr rasch, und gewöhnlich vollständig. Läßt man das Plasma einige Zeit kühl stehen, so entsteht, wie gesagt, ein geringer Niederschlag. Nach dem Entfernen dieses Niederschlages kann dagegen, wie Hammarsten<sup>1)</sup> hervorgehoben hat, dieselbe

1) Hammarsten, a. a. O.

Menge Chlorkalcium zugesetzt werden, ohne dafs Gerinnung eintritt. Durch das Vergleichen dieses Plasmas mit dem Serum aus dem geronnenen Plasma, kann man auch entscheiden, ob der Faserstoff das Alexin mitreisst und das Serum also an bakterienfeindlichen Körpern ärmer ist als das Plasma.

### Versuch XXIII.

Kaninchen. Natriumoxalatplasma mit 0,84%<sub>00</sub> Oxalat. Dem einen Teile des Plasmas wurde sogleich nach dem Centrifugieren 1%<sub>00</sub> einer 6proz. CaCl<sub>2</sub>-Lösung zugesetzt. Das Gerinnen wurde durch Einstellen, einige Minuten, im Brutschranke beschleunigt. Nach 36 Stunden wurde das Serum ausgepresst und gleichzeitig auch der andere Teil des Plasmas mit der gleichen Menge von CaCl<sub>2</sub> versetzt. In dieser Probe entstand keine Gerinnung.

Inhalt der Röhrcben	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 Std.	24 Std.
2ccm Oxalatplasma mit CaCl <sub>2</sub>	B. coli	812	68	0	76	123 561
do.	„	952	21	1	0	84
do.	B. pyocyane.	120	41	334	1 051	140 000
do.	„	105	38	596	1 106	150 000
2ccm Serum aus Oxalatplasma	B. coli	740	384	432	3 243	∞
do.	„	756	372	364	4 706	∞
do.	B. pyocyane.	109	155	2671	10 748	∞
do.	„	107	208	4134	26 902	∞

Das Resultat dieses Versuches stimmt mit dem vorigen völlig überein. Das einzige Moment, das eine Verminderung der baktericiden Wirkung hervorgerufen haben kann, ist das Ausscheiden des Faserstoffes und der mit diesem folgenden Salze. Sonst sind die Flüssigkeiten gleich. Der Unterschied läßt sich kaum auf andere Weise erklären, als dafs der Faserstoff einen Teil der keimfeindlich wirkenden Körper mitgerissen hat.

Am besten gelingt dieses Verfahren mit Hundeblood. Beim Kaninchen ist es schon schwieriger und noch nach 2 Tagen gerinnt das Plasma beim CaCl<sub>2</sub>-Zusatz bisweilen. Die Kaninchenalexine sind aber gegen die von mir benutzten Bakterien wirksamer als die des Hundes, und der Unterschied zwischen Plasma und Serum wird deshalb gröfser als beim Hunde.

Bei seinen Untersuchungen hat Gengou<sup>1)</sup> das Blut in paraffinierte Gefäße aufgenommen und centrifugiert. Das auf diese Weise gewonnene Plasma gerann immer 4—5 Stunden nach dem Entbluten und später noch zwei- bis dreimal. Die so erhaltene Flüssigkeit wurde als Vertreter des Plasmas benutzt, da »sie von dem normalen Plasma weniger abweicht als das gewöhnliche Serum«. Es kann wohl in Zweifel gezogen werden, ob nicht diese Flüssigkeit, die selbstverständlich als Serum aufzufassen ist, wenigstens in gewissen Beziehungen von dem normalen Plasma noch mehr abweicht als das bei der Blutgerinnung entstandene Serum. Besitzt wirklich das Fibrin die Fähigkeit, die Alexine mitzuschleppen, wie die oben angegebenen Versuche anzudeuten scheinen, so ist es höchst wahrscheinlich, daß durch wiederholte Gerinnungen davon mehr mitgerissen wird als durch eine einzige. Übrigens bilden sich, nach meinen Erfahrungen, in solchem von Fibrinogen nicht ganz freien Serum, oft kleine, zusammengeballte Faserstoffgerinnsel. Dadurch können dem bekannten Wattebauschversuche von Buchner sehr ähnliche Verhältnisse hervorgerufen werden.

Außer den oben erwähnten Blutsorten sind auch Rinder- und Pferdeblut der Untersuchung unterzogen worden. Einige Versuche wurden auch mit Katzen- und Hammelblut angestellt.

Rinder-, Pferde- und Hammelblut wurden beim Schlachten in die sterilisierten Gefäße aufgefangen, nachdem ein bedeutender Teil des Blutes dem Tiere bereits entzogen war. Jedes Berühren der Haare und der Gefäße wurde sorgfältig vermieden. Selbstverständlich genügen diese Vorsichtsmaßregeln nicht, um wirklich steriles Blut zu bekommen. Die Verunreinigung dürfte jedoch sehr unbedeutend sein. Unzweifelhaft werden außerdem die meisten eingeführten Keime entfernt; aus dem Plasma durch das Centrifugieren und aus dem Serum dadurch, daß sie in dem Blutgerinnsel eingeschlossen werden, wie v. Székely und Szana<sup>2)</sup> beobachtet haben. Das Blut habe ich regelmäßig nur einen oder höchstens zwei Tage aufbewahrt und immer bei kühler

1) Gengou, a. a. O.

2) Székely, v. und Szana, Centralbl. f. Bakteriologie, Bd. XII, 1892.

Temperatur. Eine Vermehrung der Keime dürfte deshalb ausgeschlossen sein. Ich glaube auch nicht, daß die einzelnen Keime, welche das Plasma bezw. Serum von vornherein vielleicht enthielt, bei der Einsaat einer großen Menge Bakterien eine Fehlerquelle bilden können.

Das Rinderplasma wird erst nach langem Centrifugieren abgetrennt. Es ist strohgelb; das Serum aber ist mehr oder weniger rötlich. Beide sind meistens klar. Pferdeplasma ist äußerst leicht zu gewinnen. Schon beim Stehen bildet sich in etwa zwei Stunden eine mächtige Plasmaschicht. Es ist strohgelb, auch nach längerem Stehen des Blutes. Wird es gleich nach dem Entbluten abcentrifugiert, so ist es oft leicht trübe. Läßt man solches Plasma eine Nacht über stehen, oder wird das Blut erst nach dieser Zeit centrifugiert, so bekommt man eine völlig klare Flüssigkeit. Im ersteren Falle entsteht ein geringer Niederschlag. Das Serum ist immer klar. Anfangs hat es, mit dem Plasma verglichen, nur einen schwach rötlichen Teint, wird aber beim Stehen bald rotgelb.

#### Versuch XXIV.

Das Plasma wurde aus Kaliumoxalatblute sofort abcentrifugiert, das Serum nach 18 Stunden aufgesammelt.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	6 Std.	12Std.	24Std.
5 ccm Oxalatplasma	B. coli	922	132	∞	—
do.	„	2796	1174	∞	—
do	B. typhi	1638	223	∞	—
do.	„	1952	107	∞	—
5 ccm Serum ohne Oxalat	B. coli	927	448	85	∞
do.	„	2246	912	208	∞
do.	B. typhi	1170	16	12	1
do.	„	1588	65	19	4
5 ccm Serum mit 1,0‰ Kaliumoxalat	B. coli	1165	72	1	51
do.	„	2272	102	6	170
do.	B. typhi	1030	1	0	0
do.	„	1805	1	0	0

Das Plasma steht in diesem Versuche nicht nur dem Serum mit Oxalat, sondern auch dem ohne Oxalat bedeutend nach, obwohl das Oxalat die Alexinwirkung verstärkt, wie oben gezeigt

ist, und, wenigstens *B. coli* betreffend, auch aus diesem Versuche hervorgeht. Das Serum muß also dem normalen Plasma noch mehr überlegen sein als diesem oxalathaltigen. Auch bei Hammel und Katze wirkt das Serum oft deutlich stärker baktericid als das Plasma.

**Versuch XXV.**

Hammel. Das Plasma wurde sofort aus Kaliumoxalatblute abcentrifugiert. Das Serum wurde aufgenommen, sobald die genügende Menge ausgepreßt war.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	4 Std.	8 Std.	12 Std.
5 ccm Oxalatplasma	<i>B. coli</i>	1960	54	177	6 342
do.	,	4633	88	592	11 000
do.	<i>B. typhi</i>	754	22	223	8 831
do.	,	2236	70	949	43 000
do.	<i>Staphylococcus aur.</i>	1880	1064	2664	22 000
5 ccm Serum ohne Oxalat	<i>B. coli</i>	2000	140	37	1 344
do.	,	5088	939	78	1 006
do.	<i>B. typhi</i>	778	0	0	9
do.	,	1945	0	0	24
do.	<i>Staphylococcus aur.</i>	1732	1592	2724	7 632

**Versuch XXVI.**

Alte Katze. Das zum Gewinnen von Plasma bestimmte Blut wurde in paraffinierte Gefäße aufgenommen, mit 2,0 ‰ Kaliumcitrat versetzt und sofort centrifugiert. Das Serum wurde nach 16 Stunden abgenommen.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 Std.	24 Std.
2 ccm Paraffinplasma mit 2,0 ‰ Kaliumcitrat	<i>B. coli</i>	618	53	2798	4795	—
do.	,	504	79	1717	8013	—
do.	<i>B. typhi</i>	25 758	24	0	0	14 882
do.	,	ca. 25 000	21	1	0	5 724
2 ccm Serum ohne Citrat	<i>B. coli</i>	619	520	623	636	—
do.	,	414	408	24	11	—
do.	<i>B. typhi</i>	ca. 25 000	20	0	0	0
do.	,	ca. 25 000	42	0	0	0

Die Versuche deuten dahin, daß bei diesen Blutsorten nach dem Entbluten keimfeindliche Stoffe von den Leukocyten abge-

sondert werden. Die Abgabe findet aber nicht nur im geronnenen Blute statt, sondern auch, wenn das Gerinnen verhindert wird.

**Versuch XXVII.**

Rinderblut. Aus dem Kaliumoxalatblute wurde teils sofort, teils nach 20 Stunden Plasma abcentrifugiert. Das Blut war während der Zeit kühl aufbewahrt.

Inhalt der Röhrchen	Einsaat	0 Std.	6 Std.	12Std.	24 Std.
5 ccm Plasma, sofort	B. coli	2800	705	1668	∞
do.	„	5273	1834	2172	∞
do.	B. typhi	1185	150	3672	25 000
do.	„	4272	290	6805	45 000
do.	B. pyocyaneus	1508	1214	1079	∞
do.	„	3278	1893	298	∞
5 ccm Plasma, nach 20 Stunden	B. coli	2560	298	17	?
do.	„	5660	672	467	∞
do.	B. typhi	1032	11	4	23
do.	„	3276	53	15	145
do.	B. pyocyaneus	1467	727	40	5 215
do.	„	3180	1496	115	10 796

Die Wirkung des sofort gewonnenen Plasmas ist sehr schwach, sogar der ziemlich empfindliche B. typhi hat sich bei dieser kleinen Einsaat schon nach 12 Stunden vermehrt.

Durch künstliche Vermehrung der Leukocyten des Blutes kann die Wirkung des Plasmas während des Stehens noch mehr erhöht werden.

**Versuch XXVIII.**

Rinderblut mit Kaliumoxalat. Die aus dem sofort centrifugierten Blute erhaltene Leukocytenschicht wurde einer neuen Portion Blut zugesetzt. Nach 20 Stunden wurde sowohl aus diesem leukocytenreichen als aus gewöhnlichem Blute Plasma abcentrifugiert.

Inhalt der Röhrchen	Einsaat	0 Std.	6 Std.	20Std.	48Std.
5 ccm Plasma nach 20 Stunden	B. coli	1328	5	8	1264
do.	„	2544	21	9	3936
5 ccm Plasma aus leukocytenreichem Blute nach 20 Stunden	„	1496	33	1	44
do.	„	2988	115	1	77



Bei diesen Tieren würde also das Serum gewissermaßen in der Beziehung zum Plasma stehen, die Gengou behauptet. Es ist aber zu bemerken, daß dieses Verhältnis gar kein regelmässiges ist. Im Gegenteil wirkt das Plasma oft deutlich stärker baktericid als das Serum.

#### Versuch XXIX.

Kuh. Plasma aus Blut mit 1,0‰ Kaliumoxalat. Das Serum wurde nach 20 Stunden aufgenommen.

Inhalt der Röhrchen	Einsaat	0 Std.	4 Std.	12 Std.	24 Std.
5 cem Plasma sofort	B. coli	4568	0	19	136
do.	„	2954	1260	24	9 794
5 cem Serum mit 1,0‰ Kaliumoxalat	„	3784	139	408	125 000
do.	„	3800	3664	11 578	ca. 150 000

In diesem Versuche sind im Serum entweder keine Alexine aus den Leukocyten ausgetreten, oder nur in so geringer Menge, daß ihre Wirkung durch abschwächende Momente völlig aufgehoben ist. Auch in diesen Sera machen sich selbstverständlich die vorher angeführten, die baktericide Serumwirkung abschwächenden Momente geltend, nämlich das Austreten guter Nährstoffe aus den Blutkörperchen und das Absorbieren des Alexins durch den Faserstoff. Es ist auch sehr gewöhnlich, daß das Serum während des Aufbewahrens seine baktericide Wirkung einbüßt, wie früher betreffs Kaninchenblutes nachgewiesen ist.

#### Versuch XXX.

Kind. Ungefähr 2 Stunden nach dem Entnehmen wurde das aus dem schieferstarrten Blute ausgepresste Serum aufgenommen und centrifugiert. Nach 20 Stunden wurde wieder Serum aufgesammelt, das auch centrifugiert wurde.

Inhalt der Röhrchen	Einsaat	0 Std.	6 Std.	12 Std.
5 cem Serum nach 2 Stunden	B. coli	2578	632	1 000
do.	„	4954	1115	2 609
do.	B. typhi	1210	46	1 314
do.	„	2875	56	2 925
5 cem Serum nach 20 Stunden	B. coli	2750	739	7 695
do.	„	5528	1380	12 000
do.	B. typhi	1137	28	7 314
do.	„	2920	96	16 400

Der Unterschied zwischen den beiden Sera ist freilich nicht sehr groß, er kann bisweilen wesentlich größer sein, der Versuch aber ist jedoch wiedergegeben, weil er zeigt, daß während des Aufbewahrens des Blutes die baktericide Wirkung des Serums abgeschwächt werden kann, während die des Plasmas bedeutend erhöht wird. Die Tabelle entspricht nämlich einem Teile einer Versuchsreihe, aus der ein anderer Teil als »Versuch XXVI« herausgenommen ist. Es ist aber gar nicht regelmäßig, daß die Wirkung des Plasmas verstärkt wird. Anstatt dessen kann sie während des Stehens des Blutes abgeschwächt werden, gewöhnlich aber nicht sehr bedeutend in der ersten Zeit. Im letzteren Falle steht also das Serum in derselben Beziehung zum Plasma wie beim Hunde.

Es dürfte nicht geleugnet werden, daß nach dem Entbluten im Rinder-, Hammel- und Katzenblute Alexin in genügend großer Menge von den Leukocyten abgegeben werden kann, und daß dann die von den Blutkörperchen befreite Flüssigkeit, Plasma oder Serum, stärker keimfeindlich wirken muß als das normale Plasma. Daß dies nicht immer zutrifft, ist ebenso offenbar. Es scheint, als ob bei Rind, Hammel und Katze die Leukocyten außerhalb des Tierkörpers, wenigstens bisweilen, ihr Alexin leichter abgeben, als, nach meinen Untersuchungen zu schließen, sie es beim Hund und Kaninchen thun. Auch beim Pferde scheint die Alexinwirkung im Serum bisweilen erhöht werden zu können. Das Gerinnen des Pferdeblutes kann ohne Schwierigkeit lediglich durch rasches Abkühlen verhindert werden und die Blutkörperchen werden außerdem in sehr kurzer Zeit beim Centrifugieren abgeschieden. Deshalb ist dieses Blut sehr geeignet, um zu entscheiden, ob das natürliche Plasma wirklich keimfeindlich wirkt.

#### Versuch XXXI.

Altes Pferd. Eine kleine Menge Blut wurde in einen, im Eiswasser stehenden Glaszylinder aufgenommen. In diesen wurde ein zweiter, schmalerer, mit Eis gefüllter Zylinder hineingesteckt. Die Flächen der Zylinder, die in Berührung mit dem Blute kamen, waren mit flüssigem Paraffin bestrichen. Nach dem Abkühlen wurde das Blut sofort centrifugiert. Das gewonnene

Plasma wurde in den Brutschrank gestellt, bis es geronnen war, was sehr rasch eintrat. Nachher wurde es kühl aufbewahrt und das daraus erhaltene Serum mit gewöhnlichem, nach 18 Stunden entnommenen verglichen.

Inhalt der Röhren	Einsaat	0 Std.	3 Std.	7 Std.	11 St.	24 St.
2 ccm Serum aus Plasma	B. typhi	7632	145	46	116	115 477
do.	„	5533	98	4	122	1 653
2 ccm Serum aus Blut	„	7123	109	3	4	729
do.	„	6105	102	14	29	99 760

Obwohl das auf gewöhnliche Weise erhaltene Serum ein wenig stärker keimfeindlich wirkt als das aus Plasma stammende, ist auch dieses letztere eine ziemlich wirksame baktericide Flüssigkeit. Nach dem vorher Gesagten, betreffs der Beziehung des Faserstoffs zum Alexine, muß das natürliche Plasma noch wirksamer gewesen sein. Es stand also wohl dem gewöhnlichen Serum nicht nach. In jedem Falle ist es offenbar keine, des Alexins völlig entbehrende Flüssigkeit gewesen.

Aus dem Ergebnisse dieser Untersuchung dürfte man folgern können:

Auch das Plasma des kreisenden Blutes enthält keimfeindliche Stoffe (Alexin).

Nach dem Austreten des Blutes aus dem Tierkörper kann die baktericide Wirkung sich ändern und zwar bald erhöht und bald vermindert werden.

Die Menge des Alexins kann dadurch vergrößert werden, daß Alexin aus den Leukocyten austritt.

Die Alexinmenge des Serums kann dadurch verkleinert werden, daß der Faserstoff Alexin absorbiert. Die Alexinwirkung kann durch Entstehen besserer Ernährungszustände für die Bakterien abgeschwächt werden, indem gute Nährstoffe aus den Blutkörperchen austreten.

Im Blute gewisser Tiere erscheint die Abgabe von Alexin seitens der Leukocyten außerhalb des Körpers gewöhnlich so klein

zu sein, daß das Serum in baktericider Wirkung dem Plasma nachsteht.

Bei anderen Tieren kann dagegen nach dem Entbluten bisweilen eine so große Menge von Alexin aus den Leukocyten austreten, daß die durch die abschwächenden Momente hervorgerufene Verminderung der baktericiden Wirkung nicht nur ersetzt wird, sondern daß sogar eine Erhöhung derselben entsteht.

Das in gewöhnlicher Weise entstandene Serum soll, um dem normalen Plasma in baktericider Wirkung zu entsprechen, sobald als möglich dem Blutgerinnsel entnommen werden.

Upsala, April 1902.

W

## Die Strafsenhygiene im Altertume.

Von

Prof. Dr. **H. A. Nielsen,**

Kopenhagen.

Da die Strafsen eine notwendige Voraussetzung der engen Bauart des städtischen Grundes sind, so haben sie ein ebenso ehrwürdiges Alter wie die Städte. Je enger eine Stadt bebaut ist und je mehr Menschen innerhalb ihrer Mauern wohnen, von desto größerer Bedeutung sind natürlich die Strafsen auch als Verkehrswege für den Import und Export im weitesten Sinne des Wortes und desto wichtiger ist aber auch ihre Beschaffenheit für den Gesundheitszustand des Einzelnen sowohl als der Gesamtheit der Bewohner. Wo nur immer schriftliche oder monumentale Denkmäler Zeugnisse eines Kulturlebens ablegen, wird uns von gewaltigen Städten berichtet. Ich erinnere nur an die vielen Städte in Ägypten, Chaldäa, Assyrien, Kleinasien, Griechenland und Italien, von denen uns die alten Schriftsteller erzählen, oder welche uns durch Inschriften und Ausgrabungen bekannt geworden sind. Durch die außerordentlich interessanten Funde aus der präbabilonischen Kultur — der Zeit der Sumerer, welche Sarzec<sup>1)</sup> in Tello im südlichen Babylonien ans Licht befördert hat, sind wir im stande, das ungefähre Alter von Babylon zu bestimmen. Danach muß diese Stadt gegen 4000 v. Chr. erbaut worden sein und Ninive ca. 3100 v. Chr.; denn der

---

1) Découvertes en Chaldée par Ernest de Sarzec. 1887 publiées par les soins de M. de Heuzey.

Kirchenfürst Gudéa, dessen Palast Sarzec in Tello ausgegraben hat, erzählt in einer seiner Inschriften, daß er Ninive gegründet habe. Eine der vielen Gudéa-Statuen, die Sarzec fand, stellt diesen König sitzend dar, indem er den Plan der Stadt Ninive auf seinem Schofse hält.

Aber Babylon und Ninive waren nicht die ältesten Städte des Reiches. Schon mehr als 1000 Jahre früher rühmt sich einer der Vorfahren Gudéas, Uru-ka-gin-na, König von Sirgulla<sup>1)</sup>, eine Stadt mit Häusern von Ziegelsteinen, Vorrathshäusern und einer Wasserleitung erbaut zu haben.

Es würde jedoch zu weit führen, auch nur die bedeutendsten der bekannten Städte des Altertums hier zu nennen. Viele von diesen sind ohne Zweifel sehr groß, ja Millionenstädte gewesen. War doch der von den Mauern eingeschlossene Grund der Stadt Babylon doppelt so groß als die Stadt London, und von Ninive sagt der Prophet Jonas, daß es drei Tagereisen groß sei. Athen zählte  $\frac{1}{4}$ , Jerusalem  $\frac{1}{2}$ , Carthago und Alexandria  $\frac{3}{4}$  und Rom mindestens  $1\frac{1}{2}$  Millionen Einwohner zur Zeit ihrer Blüte. Überhaupt waren die Städte sowohl in der chaldäisch-ägyptischen, als auch in der griechisch-römischen Kulturperiode zweifellos viel zahlreicher als jetzt und Städte mit einer Million oder doch einer halben Million Einwohner keine Seltenheit. Antiochia hatte 5 v. Chr. 117 000 freie Bürger, und Pergamon und Cäsarea zählten nach Galen bezw. 120 000 und 400 000 Einwohner. Älianus gibt die Zahl der Städte in Italia und Sicilia auf 1260, Josephus die in Gallia auf 1200 und Ptolemäus diejenige in Afrika auf 324 und in Asia auf 500 an.

Bekanntlich ist eine große Reihe von Städten des Altertums auf Befehl eines Herrschers oder durch auf der Wanderung begriffene Volksgenossen nach bestimmten Plänen erbaut, wie wir

1) Gudéa war der letzte König der Sumerer. Sowohl Gudéa als eine Reihe der früheren Könige scheinen von den Königen von Akkad abhängig gewesen zu sein. Die beiden Könige von Akkad Sargon I. und Naram-sin lebten aber nach den archäologischen Untersuchungen und den Aufzeichnungen des Nabonid, des letzten Königs von Babylon, 3200 Jahre vor 550 v. Chr.

unten sehen werden. Erwähnen will ich hier nur, daß man einen solchen Stadtplan aus dem Jahre 3100 v. Chr. kennt. Jedoch darf man wohl annehmen, daß die weitaus meisten und vielleicht gerade die größten Städte kaum nach einem vorher entworfenen Plane angelegt worden sind. Ohne Zweifel ist die Wahl der Lage in den meisten Fällen auf den einen oder anderen günstigen Umstand der Umgegend, z. B. auf einen guten natürlichen Hafen, einen schiffbaren Fluß, einen fruchtbaren Thalstrich u. dgl. zurückzuführen.

Daher mußten notwendigerweise auch nicht nur die ökonomisch-vitalen Verhältnisse der Straßen zu den Städten und ihren Bewohnern, sondern auch ihre hygienischen Verhältnisse den Bewohnern der alten Städte im selben Grade und unter denselben Formen als unentbehrlich einleuchten, wie es in der Gegenwart der Fall ist. Und in der That gab es schon in uralten Zeiten eine natürlich dem Kulturstandpunkte der Zeit und des Landes entsprechende Straßenhygiene.

Jedoch zeigt sich überall ein in hygienischer Hinsicht bedeutender Unterschied zwischen den Straßen der alten »autochthonen« Städte und denen der nach einem bestimmten Plan angelegten Städte, und namentlich diesen letzteren hat man die Straßenhygiene der betreffenden Kulturstadien zu verdanken, weshalb man auch immer bestrebt war, die Straßenanlagen dieser Kolonialstädte und ihre hygienischen Veranstaltungen, soweit wie möglich, in den alten Mutterstädten einzuführen, um das Versäumte nachzuholen, was jedoch aus naheliegenden Gründen nur in den seltensten Fällen gelang.

Von dem alten Athen, der Stadt der Krauer und Kerkopiden, findet man noch jetzt auf den die Akropolis umgebenden Höhen und namentlich auf Pnyx zahlreiche Überreste. Nach den von Burnouf<sup>1)</sup>, Curtius<sup>2)</sup> und anderen Forschern angestellten Untersuchungen gab es hier nur ein oder zwei Hauptstraßen von ungefähr 5 m Breite, die in dem festen Grunde eingegraben und an den Seiten mit Rinnsteinen versehen waren.

1) Revue de l'architecture, vol. XXX.

2) Die Stadtgeschichte von Athen. 1891.



Bürgersteige existierten damals nicht. Aus den vorhandenen Spuren sieht man, daß hier einst ein lebhafter Wagenverkehr gewesen sein muß. Zu beiden Seiten dieser Hauptstraßen führen kleinere, 3—4 m breite Straßen, ebenfalls mit Rinnsteinen aber ohne Bürgersteige die Anhöhen hinauf. Auch auf diesen Seitenstraßen muß einst ein lebhafter Verkehr von Wagen und Lasttieren stattgefunden haben. Um dem Fusse einen besseren Halt zu gewähren, waren sie mit Querrillen und niedrigen Stufen versehen. Außer diesen größeren Straßen gab es noch Gassen, oder richtiger gesagt ganz schmale Steige, die oft in Treppen endigten. Wie aus Burnoufs Untersuchungen von über 800 Bauplätzen, welche uns als kleine, durch Sprengung von Klippenmassen entstandene Flächen oder Terrassen von ungefähr  $2 \times 6$  m erscheinen, hervorgeht, waren die Häuser dieser Straßen ohne bestimmte Ordnung gebaut. Es ist vielmehr augenscheinlich, daß die Seitenstraßen und Gassen ohne bestimmte Richtungen nach den planlos gebauten Häusern angelegt waren. An mehreren Straßenecken hat man 4—6 m tiefe, in Klippen ausgehauene Zisternen gefunden, die inwendig mit Kalk dicht gemacht und geputzt sind. Burnouf fand im ganzen 58 solcher Zisternen, 21 davon auf den Abhängen der Pnyx-Höhen. Ein Teil dieser Zisternen gehörte offenbar zu Privathäusern. Diese prähistorische Stadt, deren Bewohner nach Herodot (VIII. Buch Kap. 44) Pelasger (Kraaer) waren, hatte Straßen, die trotz ihrer Primitivität und ihrer Mängel in hygienischer Beziehung den Abflufs jedes einzelnen Grundstückes in offene Rinnsteine leiteten und mit öffentlichen Wasserreservoirs versehen waren.

Aber diese krummen, engen und steilen Straßen der Altstadt konnten nicht durch bessere ersetzt werden. Selbst als man während der Blütezeit der Republik und später unter der Römerherrschaft die Stadt durch ein Netz breiter und regelmäßiger angelegter Straßen erweiterte, und selbst als man schon während der Tyrannenzeit nach besten Kräften bemüht war, dem hygienischen Mangel der Straßen durch die unterirdischen Leitungen, durch reichliche Wasserversorgung und Reinigung, worauf wir später zurückkommen werden, abzuhelpen, so blieb der Zustand

in der Hauptsache derselbe. Auch nach der Plünderung der Stadt durch die Perser, im Jahre 480 v. Chr., trat in dieser Beziehung keine wesentliche Veränderung ein. Als die Athener nach der niedergebrannten Stadt zurückkehrten, bauten sie so schnell wie möglich ihre Hütten auf den Trümmern der alten wieder auf. In diesen Häusern und auf diesen in hygienischer Hinsicht so primitiven Strafsen war es, wo unter Perikles eine furchtbare Pest wütete und Tausende der damals 200 000 zählenden Bewohner hinwegraffte. Bekanntlich starb auch Perikles an dieser schrecklichen Krankheit im Jahre 429 v. Chr.

Eben dieselbe Entwicklung und dasselbe Schicksal hatte Rom. Auch hier dieselbe planlose Anlage, dieselben engen und krummen Strafsen. Auch Rom wurde geplündert und niedergebrannt, und zwar von den Galliern unter Brennus 390 v. Chr. Auch hier baute man, wie Livius berichtet, die Stadt ebenso planlos und mit den engen Strafsen wieder auf. Und wie wir später sehen werden, konnte man trotz reichlicher Wasserversorgung, Kanalisation, vorzüglicher Pflasterung und Strafsenreinigung die Übelstände, welche die engen und krummen Strafsen zur Folge haben, vor allem den üblen Geruch, nicht beseitigen.

Selbst die modernsten hygienischen Veranstaltungen hätten dem Hauptmangel der Strafsen im alten Athen und Rom nicht abhelfen können. Es fehlte an Licht und Luft; und dieser Mangel wurde um so gröfser, je mehr die Stadt sich ausdehnte. Die Strafsen blieben eng und krumm, die Häuser wurden aber immer höher, und die Verunreinigung der Strafsen nahm mit der Zahl der Einwohner zu.

Dieser primären Forderung der Strafsenhygiene an Licht und Luft ist man erst durch planmäfsig angelegte Städte mit regelmäfsigen geraden und breiten Strafsen gerecht geworden.

Gewöhnlich nimmt man an, dafs die Griechen die ersten waren, welche Städte mit breiten, geraden und einander kreuzenden Strafsen, deren Häuser den hygienischen Forderungen entsprachen, erbaut haben. Nach Aristoteles soll Hippodamos von Milet zuerst Peireus und Rhodus nach einem solchen Plan angelegt haben.

Aber ohne Zweifel haben die Griechen diese Kunst aufser vielem andern von den Assyro-Chaldäern und den Ägyptern gelernt. Wie oben erwähnt, gründete der Sumerer-König Uru-ka-gin-na um das Jahr 4200 v. Chr. eine Stadt mit Häusern aus Ziegelsteinen und mit einer Wasserleitung, und Gudéa berichtet, dafs er Ninive gegen 3100 v. Chr. erbaut habe. Wenn wir auch nichts Näheres darüber wissen, wie die Strafsen in diesen Städten beschaffen waren, so hindert uns nichts anzunehmen, dafs sie regelmäfsig und breit gewesen sind.

Herodot erzählt, dafs Babylon von ein Quadrat bildenden Mauern umgeben war, wovon jede Seite 120 Stadien (= ca. 22500 m) lang war. »Die Stadt selbst hat lauter Häuser von drei bis vier Etagen Höhe und ist von geraden, am Flusse entlang führenden oder rechtwinklig zu demselben laufenden Strafsen durchschnitten. An dem am Flusse liegenden Ende dieser Strafsen befinden sich Thore in der Mauer«, die sich längs den beiden Ufern hinzieht. Dieses Babylon, das Herodot gesehen hatte, und von dem noch jetzt bedeutende Überreste vorhanden sind, war aber von Nabuckodonosor (605—562 v. Chr.) angelegt. Bekanntlich wurde diese Stadt von dem Assyrerkönig Sennacherib geplündert und darauf vollständig zerstört, aber schon nach 11 Jahren von Asarhaddon wieder aufgebaut. Dafs Babylon jedenfalls dann gute, reguläre und vielleicht auch gepflasterte Strafsen bekam, ist mehr als wahrscheinlich, denn die von Place<sup>1)</sup> vorgenommene Ausgrabung von Korsabad zeigt, dafs Sennacheribs Vorgänger, Sargon II., seine Residenzstadt Dur-Sarrukin den modernsten Forderungen der Zeit gemäfs angelegt hatte. Eine diese Stadtanlage betreffende Inschrift des Sargon lautet: »Meinem mir von den Göttern gegebenen Namen entsprechend (eine Anspielung auf Sargon I., gegen 3750 v. Chr.), wonach ich Recht und Gerechtigkeit üben und die Schwachen regieren und ihnen nicht schaden soll, vergüte ich den Eigentümern den Grund dieser Stadt (Magganubba) in Übereinstimmung mit den Werttafeln (dem Grundbuche), indem ich

1) Ninive et l'Assyrie.

ihnen Silber oder Kupfer dafür gebe; und um niemand Unrecht zu thun, gebe ich denen, welche kein bares Geld für ihr Grundstück haben wollen, Land für Land, wo sie es wünschen.« Also Sargon exproprierte den Grund und baute seine Stadt in Form eines Vierecks und umgab sie mit Mauern, die acht Thore enthielten. Von den Thoren führten, wie man aus Places Aufdeckungen ersieht, acht rechtwinklig sich durchschneidende Strafsen in die Stadt. Diese Strafsen waren 12 m breit, hatten Bürgersteige und waren mit flachen Steinen gepflastert. Wenn das Pflaster auch kaum so elegant war wie in Rom, so war es doch befriedigend, heisst es in Places Bericht.

Aber Place fand in Sargons Stadt noch eine andere hochwichtige hygienische Einrichtung, nämlich eine spitzbogige Hauptkloake, die nach dem nahen Flusse führte. Bis jetzt ist erst der Palast ausgegraben. Hier fand Place — was Layard auch in Nimrond (Kalach) aufdeckte — ein vollständiges System von Abfluskanälen, welche von den meisten Zimmern nach der Hauptkloake führten. Ja, er fand in diesem Palaste sogar drei Räume, die kaum etwas anderes gewesen sein können als Klosetts mit Wasserausspülung. Die Stadt selber ist, wie gesagt, noch nicht abgedeckt; aber man darf wohl annehmen, dafs auch die Strafsen Abflufs nach der Kloake gehabt haben. Wir erwähnten oben schon, dafs Layard<sup>1)</sup> ähnliche Abfluseinrichtungen in Assurnasirpals (ca. 880 v. Chr.) und in Salmanassars (ca. 1300 v. Chr.) Palästen in Kalach fand. Unzweifelhaft ist also, dafs die Assyrer jedenfalls gegen das Jahr 720 v. Chr. Städte mit breiten, geraden, gepflasterten Strafsen hatten, die sogar mit Bürgersteigen versehen waren, während die Griechen die Bürgersteige erst unter der Römerherrschaft bekommen haben.

Ferner gab es, und wahrscheinlich schon seit langer Zeit, in den assyrischen Städten öffentliche Brunnen. Sarzec deckte nämlich in Tello vor dem Palaste des Gudéa eine Fontaine auf, die sich auf einem 5 m breiten, aus gebrannten Fliesen

---

1) Niniveh and its remains; 1850. Niniveh and Babylon; 1853.

gemachten Bürgersteige befindet; — auf den Steinen stand Gudéas Name. Diese Fontaine besteht aus einem 2,5 m langen, 0,5 m breiten und 0,3 m tiefen Wasserbassin, zu dem vom Bürgersteige zwei Stufen führen. Auf der Längsseite des Bassins sieht man Amphoren tragende weibliche Figuren, an denen zwei sich kreuzende Ausflußöffnungen angebracht waren. Außerdem fand man in dieser ohne Zweifel ältesten menschlichen Wohnung Reste von gemauerten Wasserleitungen und andere sehr wichtige hygienische Einrichtungen, auf welche wir hier jedoch nicht näher eingehen können. Die oben erwähnte Fontaine muß jedenfalls vor 3000 v. Chr. angelegt worden sein und war wahrscheinlich für Gudéas Privatgebrauch bestimmt. Sie liefert uns auch den unumstößlichen Beweis dafür, daß man solche im Freien angebrachte Fontainen benutzt hat.

Es ist bekannt, daß die Wasseranlagen in den chaldäisch-assyrischen Inschriften eine auffällig wichtige Rolle spielen. Aber fast ausschließlich handelt es sich dort nur um die Anlage von Wasserleitungen und um die Herstellung von »immer dauernden« Wasserbehältern für die Städte.

So ließ Chammuragas (1900 v. Chr.) in Babylon ein Wasserreservoir und Assurnasirpal (gegen 880) in Kalach eine Leitung anlegen. Und Sennacherib führte Ninive und 18 anderen Städten mittels einer teilweise tunnelartig gebauten Leitung Wasser zu.

In dieser betreffenden Inschrift heißt es am Schlusse: »Ich habe Zisternen von Kisiriland bis nach Ninive anlegen lassen. — — So habe ich Ninive, meine Residenzstadt, erneuert. Ich habe ihre Straßen reguliert und ihre Fontainen und Wasserleitungen vermehrt. — —« Hier geschieht der Straßenanlagen und Fontainen direkt Erwähnung, und meines Wissens ist dies das einzige Mal trotz der außerordentlich zahlreichen assyro-chaldäischen Berichte über Wasserleitungen nach den Städten und Landdistrikten.

Aber auch die Ägypter haben schon sehr früh Städte nach einem vorher entworfenen Plan angelegt. So hat Flinders Petrie in der Nähe des Sees Möris bei Kahun eine kleine

Arbeiterstadt aufgedeckt, welche von einem der Könige aus der zwölften Dynastie, wahrscheinlich von Usertesen II., um das Jahr 2000 v. Chr. gegründet wurde.

Der Stadtplan stellt ein Viereck dar. Die eine Hauptstraße läuft von Osten nach Westen, und von ihr gehen sechs Seitenstraßen von Norden nach Süden. Unter einem rechten Winkel zu dieser Hauptstraße geht eine andere Hauptstraße in Form eines T in der Richtung von Norden nach Süden, von welcher wieder zehn Seitenstraßen von Osten nach Westen führen. Die Hauptstraßen haben eine Breite von 7 m, die Seitenstraßen von 4—4,5 m. Es scheint nicht, daß ein Pflaster vorhanden gewesen ist; dagegen befindet sich in der Mitte der Straßen ein aus 0,3 m breiten flachen Steinen gebildeter Rinnstein, der eine in der Mitte ausgehöhlte Abflusssrinne hat. Die Häuser liegen in einer geschlossenen Baulinie und bestehen aus lauter kleinen für die an den Pyramiden und Tempeln beschäftigten Arbeiter bestimmten Wohnungen von drei bis vier Zimmern. Nur an der nach Westen laufenden Hauptstraße liegen neun größere Gebäude mit sehr vielen Zimmern. Auf die auch in hygienischer Beziehung sehr wichtigen Einzelheiten dieser Häuser hier einzugehen, würde zu weit führen. Nur will ich noch bemerken, daß Flinders Petrie unter den Häusern und Straßen mächtige Gänge fand, die unter der XII. Dynastie von den Ratten gegraben worden sind. Nach der Ansicht der Gelehrten ist die Stadt nur bis in die XVIII. Dynastie (gegen 1300 v. Chr.) bewohnt gewesen. An den vorgefundenen Thonvasen und anderen Gefäßen glaubt Petrie auf eine Handelsverbindung zwischen dieser Stadt und den griechischen Inseln schließen zu können.

Eine andere ägyptische Stadt von viel größerem Umfange ist die von Amenophis IV. um das Jahr 1400 v. Chr. angelegte Residenzstadt Heliopolis. Da die Einwohner diese Stadt bald nach ihrer Gründung verließen, so sind noch sehr viele Überreste dieser alten Anlage erhalten. Man sieht noch heute die Spuren einer 25 m breiten, am Flufs entlang laufenden Hauptstraße, in welche die oft sehr engen Seitenstraßen unter einem rechten Winkel münden.

Auch von den Etruskern weiß man, daß sie regelmäßige Städte bauten. In der von Brizio<sup>1)</sup> in der Nähe von Marzabotto (das 3—4 Meilen südlich von Bologna liegt) ausgegrabenen Stadt aus dem 6. Jahrhundert sieht man 4 Hauptstraßen, von denen eine in der Richtung von Norden nach Süden und drei von Osten nach Westen laufen. Dieselben sind 15 m breit, haben einen Fahrdamm von 5 m Breite und auf jeder Seite einen 5 m breiten Bürgersteig. Auch sind sie gepflastert und an den Häuserreihen mit 0,8 m breiten Rinnsteinen versehen. Zwischen den drei von Osten nach Westen laufenden Hauptstraßen gehen 5 m breite Nebenstraßen von Norden nach Süden.

Hieraus geht zur Genüge hervor, daß man sich schon lange vor den Griechen der sanitären Vorteile einer regulären Strafsenanlage, wenigstens schon 1500 Jahre vor Hippodamos, bewußt gewesen ist. Und von Gudéas Festungsplan mit seinem regelmäßigen Mauern und den sechs von hervorspringendem Mauerwerk geschützten Thoren ausgehend, darf man wohl auch mit vollem Rechte auf regelmäßige Strafsen schließen, wie solche in der später von Sargon angelegten Burg zu sehen sind. Ist dies aber der Fall, so können wir noch 1000 Jahre weiter zurückgehen.

Hippodamos von Milet hat die regelmäßige Stadtanlage sicherlich von den östlichen Nachbarn seiner Vaterstadt gelernt. Daß den Griechen die bedeutenden Vorteile einer solchen Anlage sofort klar geworden sind, ist ganz natürlich. Kannten sie doch aus eigener Erfahrung die Nachteile einer unregelmäßigen Bauart einer Stadt und der schlechten Strafsen nur zu gut. Diese Übelstände wurden um so fühlbarer, als das Expansionsvermögen ihrer Städte noch mehrere Jahrhunderte lang fort dauerte.

Wir werden jetzt dazu übergehen, einige nach diesem Plane angelegte Städte zu beschreiben.

Piräus scheint die Stadt gewesen zu sein, welche zuerst von Hippodamos angelegt wurde. Nach Thukydides (I. 48) ist Piräus vor 430 v. Chr. gegründet worden. Es war um die Zeit, als in Athen die Pest ausbrach. Thukydides erzählt, daß man

1) Una Pompeji Etrusc a Marzabotto.

die Peloponnesier beschuldigte, die Zisternen vergiftet zu haben; denn damals gab es noch keine Quellenleitungen.» Die Stadt hat bis zu 25—30 m breite, gerade Strafsen, die einander rechtwinklig kreuzen. Zwischen den beiden Häfen gibt es eine noch breitere Passage, die Aphrodision hiefs. Der Marktplatz war nach den modernen Begriffen klein.

Nach einem ähnlichen Plane mit 4 Längen- und 3 Querstraßen wurde Thurii in Süditalien an Stelle des niedergebrannten Sybaris gegen 440 v. Chr. angelegt. Auch hier waren sämtliche Häuser in der Baulinie gebaut.

Auch Rhodos soll von Hippodamos nach demselben Plan angelegt worden sein.

Obgleich Pompeji ursprünglich vielleicht 100 Jahre früher von den Oskern angelegt ist, so muß das Straßennetz, wie es jetzt vorhanden ist, nach Nissens<sup>1)</sup> Ansicht um das Jahr 400 v. Chr. entstanden sein. Es sind hier zwei Hauptstraßen, die vom Norden nach Süden und drei, welche von Osten nach Westen laufen; zwischen diesen befindet sich eine große Zahl von Seitenstraßen. Alle Straßen durchkreuzen einander rechtwinklig. Die Hauptstraßen sind 8—9 und die Seitenstraßen 3—5 m breit. Die Hausblöcke variieren etwas in der Größe und sind nicht von derselben Form, aber doch alle fast viereckig und von geraden Straßen begrenzt. Diese Hausblöcke bestehen nur aus 1, 3 oder 4 Häusern. Die Häuser liegen in geschlossener Baulinie und haben meistens einen Baugrund von 15 × 20 m. Der Markt ist auch hier nicht groß, kaum so groß wie zwei Hausblöcke. Weiter unten werden wir auf die Straßen näher eingehen.

Ungefähr 100 Jahre später, also zur Zeit Alexanders und seiner Nachfolger, gab es schon eine ganze Reihe regelmäßig angelegter Städte. So wurde Alexandria im Jahre 322 v. Chr. nach Demokrates' Plan angelegt. Wie man aus Mahmoud Beys Ausgrabungen ersieht, hat Alexandria sieben mit der Küste parallel laufende und elf rechtwinklig zu diesen laufende Straßen. Je eine dieser Straßen hat eine Breite von 14 m; die

---

1) Pompejanische Studien zur Städtekunde des Altertums. 1877.



andern sind 7 m breit. Die längste StraÙe ist 5090 m lang, und der Abstand zwischen den LängenstraÙen beträgt 278 m. Die Hausblöcke haben die Form eines Quadrates. Die Ergebnisse von Mahmoud Beys<sup>1)</sup> übrigen Untersuchungen über die StraÙenanlage beweisen, daÙ diese unter der Römerherrschaft neu angelegt worden sind.

Antiochia wurde 301 v. Chr. durch Seleucus-Nicator erbaut. Diese Stadt hatte zwei einander kreuzende breite StraÙen, wodurch sie in vier Stadtviertel geteilt wurde, die wieder von kleineren StraÙen durchschnitten waren. Die eine halbe Meile lange HauptstraÙe, welche von Osten nach Westen lief, und mit prächtigen Säulengängen über den Bürgersteigen und einem kostbaren Marmorpflaster geschmückt war, stammt aus der Zeit, wo die Römer regierten (Augustus und Tiberius).

Aus der Zeit Alexanders stammt Priene, das im Jahr 1895 von deutschen Archäologen<sup>2)</sup> aufgedeckt wurde. Man nimmt an, daÙ Alexander diese Stadt ungefähr gleichzeitig mit dem Athentempel bauen lieÙ, und daÙ sie nicht lange gestanden hat. Die letzte Inschrift ist aus dem Jahre 150 v. Chr., woraus hervorgeht, daÙ sie nicht lange der Einwirkung von Rom ausgesetzt gewesen sein kann, weshalb die Stadt mit ihrem rein griechischen Gepräge ein besonderes Interesse darbietet. Der ausgegrabene Teil besteht aus einem System von geraden, einander rechtwinklig schneidenden StraÙen, die ungefähr 70 Hausblöcke bilden. Wegen des sehr hügeligen Terrains müssen die HauptstraÙen längs den Abhängen in der Richtung von Osten nach Westen laufen. Sie sind 6—7 m breit, und um die allzu bedeutenden Steigungen und Senkungen zu vermeiden, war man genötigt, an mehreren Stellen bedeutende Sprengungen von Klippen vorzunehmen und an andern Stellen auszufüllen. Die an den Abhängen hinauflaufenden SeitenstraÙen, welche also die Richtung von Norden nach Süden hatten, sind 4 m breit, nicht mit besonderer Sorgfalt angelegt und endigen nicht selten in steile TreppenstraÙen. Alle StraÙen sind mit sorgfältig gelegten Brecciaquadern

1) Alexandria; Copenhague, 1872.

2) Jahrb. d. Kaiserl. deutschen archäolog. Instituts, 1897.

gepflastert. Bürgersteige gibt es hier nicht. In der Mitte befindet sich ein mit großen Platten geschlossener Rinnstein. An mehreren Straßenecken sieht man kleine öffentliche Laufbrunnen. Längs den Häusern hat man Thonrohrleitungen gefunden, von welchen Seitenleitungen nach den in den Häusern befindlichen Zisternen gehen.

Woher das Wasser gekommen ist, weiß man bis jetzt noch nicht. Jeder Hausblock hat eine Grundfläche von  $30,7 \times 41$  m und enthält vier Baulose.

Mit den übrigen Städten am Mittelländischen Meere, die übrigens für uns sowohl in litterarischer als auch in monumentaler Hinsicht sehr interessant sein würden, wie Knidos, Pergamon, Cäsarea, Smyrna, Agä, Hierapolis, Thamugadi, Palmyra, Jerusalem u. v. a., werden wir uns hier nicht näher beschäftigen.

Aus der Anlage der oben etwas eingehender besprochenen Städte sieht man, daß man sich bestrebt, der Forderung des Aristoteles gerecht zu werden, welche lautete: »Wenn man die Wahl hat, so soll man die Stadt an einer gesunden Stelle bauen, die für die gesunden Ost- oder Nordwinde zugänglich sind und sie reichlich mit gutem Wasser versorgen.« Durch die nach dem Plane des Hippodamos in Kleinasien und Europa angelegten Städte haben die Griechen eine sowohl in allgemein kultureller als in hygienischer Hinsicht außerordentlich wichtige Mission erfüllt. Dieses Verdienst der Griechen wird dadurch nicht geschmälert, daß die Chaldäer und Ägypter ihre Städte schon viel früher nach diesem Plane angelegt hatten. Sie haben vielmehr das, was sie von der Kultur des Ostens übernommen hatten, entwickelt und verallgemeinert. Es war in Griechenland nicht allein dem Willen eines einzelnen Herrschers überlassen, wie er eine Stadt bauen wollte, sondern ein freies Volk forderte die Anlage von regelmäßigen und hygienisch günstigen Städten. Und gerade durch diesen Umstand wird vom hygienischen Standpunkte aus die Bedeutung dieser Mission erhöht.

Die Straßen der meisten griechischen Städte waren nach den modernen Begriffen eher schmal als breit. Gewöhnlich

hatten die Hauptstraßen eine Breite von 9—14 m, die Seitenstraße von 3—7 m. Aber man darf nicht vergessen, daß erstens die Häuser bei weitem nicht so hoch waren wie die unsrigen, da sie gewöhnlich nur eine, höchstens wie in Athen zwei Etagen hoch waren. Häuser von 4—7 Etagen, wie es deren in Rom, Karthago und Tyrus gab, gehörten im Altertum zu den Seltenheiten. Zweitens muß man sich daran erinnern, daß die Sonne in Griechenland, Italien und den übrigen Ländern am Mittelländischen Meere bedeutend höher steht als in unseren nördlichen Breiten.

Deshalb war den Häusern und Straßen wohl Licht und Luft in genügender Menge zugänglich, um die Atmosphäre rein und angenehm zu erhalten. Leider waren die übrigen Einrichtungen aber nicht den hygienischen Forderungen entsprechend. Städte wie Piräus, das Straßen von mehr als 30 m Breite hatte, oder der Badeort Hierapolis, dessen Hauptpromenade mit den Säulengängen an den Seiten 25 m breit war, bilden im Altertum eine Ausnahme.

Die griechischen Straßen hatten — wie es durch die Untersuchungen in Priene nachgewiesen ist — keine Bürgersteige. Man hat im Griechischen nicht einmal ein Wort für Bürgersteig. Häufig waren die Straßen, wie in Pompeji, in dem Grunde eingegraben und fast immer ohne Pflaster. Nur die Hauptstraßen waren in Athen und den meisten griechischen Städten mit Kies belegt, weshalb sie gar nicht mit den römischen makadamisierten Wegen (*viam munire*) zu vergleichen waren.

Die Pflasterung war schon früh bekannt, man wendete sie aber nur bei schroffen Steigungen und bei kurzen Strecken einer Straße an.

Schliemann fand ein schönes Pflaster auf der Rampe zu einem der Thore von Troja aus der zweiten Periode.

Daß aber auch sämtliche Straßen zur Zeit der Griechen um das Jahr 300 v. Chr. gepflastert waren, beweist Priene.

Zu Strabos Zeit (von 60 v. bis 25 n. Chr.) waren die Straßen in Kleinasien, auf den Inseln und in Griechenland so selten

gepflastert, das Smyrna, welches nur gepflasterte Strafen hatte, als ein Muster hingestellt wird.

Die antike, 5 m breite Strafe, welche Dörpfeld<sup>1)</sup> zwischen Athens Akropolis und Pnyx aufgedeckt hat, hat ebenfalls weder Pflaster noch Bürgersteige.

Aber Prienes Strafen zeigen, das die Griechen sehr wohl verstanden, ein sogar gutes Pflaster zu legen, wo die natürlichen Verhältnisse es erforderten; und gleichzeitig war hier für einen Abfluss durch einen verdeckten Rinnstein gesorgt.

Sonst geschieht der Abfluss von den Strafen und den Häusern, wie wir unten sehen werden, fast überall durch die offenen Rinnsteine der Strafen.

Die Strafen von Pompeji waren nach Nissen, als sie um das Jahr 400 v. Chr. ihre jetzige Gestalt bekamen, auch nicht mit Bürgersteigen versehen, wie sie auch ohne Pflaster waren. Erst gegen 200 liefen die Ädilen Silius und Pontus die Hafenstrafe, die Pompejanerstraße, die Jupiterstraße und die Senatorstraße mit Bürgersteigen und makadamisierten Fahrdämmen anlegen. Die Strafenpflasterung in Pompeji ist späteren römischen Ursprungs, sie hatte aber doch schon begonnen, als die Pflasterung der Strafen durch Cäsars lex municipalis vom Jahre 45 v. Chr. den mit dem Bürgerrecht ausgestatteten Städten zur Pflicht gemacht wurde. Auch hier ist vor und nach der Pflasterung die Ableitung durch Rinnsteine erfolgt, die längs den Kantsteinen der Bürgersteige waren.

Dasselbe gilt von Alexandria. Auch hier sind die gepflasterten Strafen, die nach Mahmoud Bey aus Augustus' Zeit stammen, mit Bürgersteigen versehen, welche durch Kantsteine von dem leicht gewölbten, aus Granitquadern gepflasterten Fahrdamm getrennt waren. Die 14 m breite Längsstraße ist zur halben Breite gepflastert; die andere Hälfte ist makadamisiert, und in der Mitte befindet sich ein 1 m breiter Streifen von Kulturerde, der nach Mahmoud Beys Ansicht zur Anpflanzung von Bäumen verwendet wurde.

---

1) Mitteil. d. Kaiserl. deutschen archäolog. Instituts. Athen, Abt. 1894.

Auch hier wurde der Unrat aus den Häusern und von den Strafsen ebenso wie in Pompeji durch die Rinnsteine des Kantsteines fortgeleitet.

Die von Mahmoud Bey unter der Strafsen gefundenen Leitungen, welche mehrere für Kloakleitungen gehalten haben, waren ohne Zweifel Wasserleitungen. Ebensowenig gab es in Pompeji Kloakleitungen; jedenfalls waren die Leitungen, welche man dafür gehalten hat, z. B. die unter der Strada dell'Abondanza, von Strada Stabiana, wie auch die unter dem westlichen Teile der Strada delle terme, nur bedeckte Rinnsteine.

Überhaupt gab es in den Strafsen der griechischen und römischen Städte nur ausnahmsweise Kloakleitungen. Es ist sogar wahrscheinlich, daß die wenigen bekannten Kloakanlagen des Altertums ursprünglich in gar keiner Beziehung zu den Strafsen standen, sondern nur innerhalb der Grenzen der Stadt befindliche, bedeckte Wasserläufe waren.

Unbedingt gilt dies von der cloaca maxima in Rom, die erst später im 2. Jahrhundert v. Chr. eine solche Erweiterung erfahren hat, daß man sie für eine wirkliche Strafsenkloake halten konnte; die Richtung der Strafsen stimmte nicht immer mit der Lage der Kloake und ihren Verzweigungen überein.

Diese Kloakanlage ist zu allen Zeiten viel, auch von den Griechen, bewundert worden. Dionysus von Halicarnassus erklärte »die Wasserleitungen, die gepflasterten Strafsen und die Kloaken für den besten Beweis von der Macht des römischen Reiches.« Und man ist noch jetzt allgemein der Ansicht, die man schon damals hatte, daß die Kloakierung der Strafsen den alten Griechen unbekannt war.

Aber auch in dieser Beziehung sind die Griechen die Lehrmeister der Römer gewesen; selbst hatten sie wohl die Idee von den Assyriern bekommen und selbständig weiter entwickelt.

Die Ausgrabungen der letzten Jahre haben mehrere höchst interessante griechische Ableitungsanlagen ans Licht befördert.

Besonders in Athen. Hier hat Dörpfeld unter einem Teile der oben erwähnten Strafsen zwischen Akropolis und Pnyx eine Kloakleitung aufgedeckt, die aus großen Röhren von

gebranntem Thon zusammengesetzt war. Dieselbe hatte Einsteigeschachte, deren Röhren ebenfalls aus gebranntem Thon waren und eine solche Breite hatten, daß ein Erwachsener darin Platz fand. Der flüssige Abfall von 13 Häusern wurde durch vierkantige Thonröhren direkt in die Kloake geleitet. Nach Dörpfelds Ansicht ist dieselbe vor dem 4. Jahrhundert v. Chr. angelegt worden.

Eine von Ziller<sup>1)</sup> nordöstlich von der Akropolis aufgedeckte gesonderte Kloake scheint noch älteren Datums zu sein; ja sie ist in ihren ältesten Teilen vielleicht noch älter als die Tarquinische Kloake. Diese Leitung ist gewölbt und aus Piräusquadern gemacht; an einer Stelle erkennt man noch deutlich die uralte Überkragungstechnik. Von der Mitte des heutigen Athens läuft sie gegen 6 m unter der jetzigen Terrainhöhe in der Richtung nach dem Dipylonthore. Die Dimensionen sind  $2 \times 2$  m. Bei dem Thore erweitert sie sich und bildet hier ein viereckiges Bassin von 4,20 m Breite. Von diesem Bassin verzweigen sich dann nach rechts und links viereckige und kreisrunde engere Leitungen, von denen die größte einen Durchmesser von 0,67 m hat. Diese Seitenäste führen nach den an dem Abhange liegenden Ländereien. Bei dem Ausgange einer der viereckigen Leitungen fand Ziller deutliche Spuren einer Ziehschützenvorrichtung, wodurch der Abfluß von der Leitung abgesperrt oder in diese hinein und in jeder beliebigen Menge über das Land geleitet werden konnte. Die Vorbauten im Bassin lassen vermuten, daß die übrigen Leitungen mit ähnlichen Vorrichtungen versehen waren.

Wir haben hier also eine Überrieselungsanlage in optima forma vor uns. Der letzte Teil der Anlage ist jüngeren Ursprungs und aus Mauersteinen gemacht; derselbe scheint aber vor der Römerzeit angelegt zu sein. Das älteste Gebäude der Griechen aus gebrannten Steinen, Philippeion in Olympia, wurde gegen 350 v. Chr. erbaut.

Ohne Zweifel sind mehrere Verbesserungen an dieser Anlage, wie auch andere von Ziller ausgegrabene Leitungen in Athen auf die Römer zurückzuführen.

1) *Mitteil. d. deutschen archäolog. Instituts. Athen, Abt. 1877.*

Dasselbe gilt in der Hauptsache auch von der Kanalisation in Olympia, bei deren Anlage Herodes Atticus einen neuen Beweis von seiner großen Freigebigkeit gab. Es existieren jedoch in Olympia auch gemauerte Kloakleitungen aus der griechischen Zeit. Die Ausgrabungen in Pergamon haben besonders interessante Ableitungsanlagen ans Licht befördert. Dieselben bestanden aus gebrannten, mit griechischen Namenstempeln versehenen Thonröhren von 0,56—0,65 m Länge und inwendig mit einem Durchmesser von 0,13 bis 0,18 bis 0,20 m. An ihnen allen sieht man eine Tülle und eine Muffe.

Auch die Räume (Wohnungen?) um den Athena Polias-tempel haben geschlossene Ableitung durch derartige Röhren, ja, man hat sogar bis in die oberen Etagen führende Fallrohrleitungen gefunden, die durch eine gemeinschaftliche Leitung unter der Thürschwelle in das Freie führen. (Pergamon Bd. II u. VI.)

Auch in Girgenti (Akragas) auf Sizilien, in Nicomedia, Kyzikos und in vielen andern Städten finden sich Kloakleitungen. Ferner gibt es in Jerusalem ein sehr altes System von Ableitungskanälen. Nach Schicks<sup>1)</sup> Ansicht stammen diese meistens aus der Zeit der Könige. Er glaubt, daß sie den Abfluß von den Strafsen und Häusern unterirdisch nach dem Klippenrande führten.

Über die Laufbrunnen in den präromischen Strafsen ist man sehr wenig orientiert. Es muß hier jedoch hervorgehoben werden, was wir schon oben mit Rücksicht auf die Strafsenbrunnen von Priene gesagt haben. Allerdings gibt es eine bedeutende Anzahl von Wasserleitungen aus der ältesten griechischen Periode. Ich erinnere nur an die von Dörpfeld gefundene tunnelförmig gebaute Peisistratos-Leitung in Athen, an die Eupalinos-Leitung auf Samos (Fabricius)<sup>2)</sup>, an die von Megara und Korinth und an die große Menge von Druckleitungen, welche aus durchbohrten, mit Tüllen und Muffen versehenen Quadersteinen hergestellt waren. Wir haben es hier mit einer Technik zu thun, die den griechischen Kolonien auf den Inseln

1) Zeitschr. des deutschen Palästinavereins. Bd. I.

2) Mitteil. d. deutschen archäolog. Instituts. Athen, Abt. 1884.

und in Kleinasien eigentümlich war, und welche diese von den Phöniziern gelernt zu haben scheinen. Im Vergleich zu diesen sind unsere, aus Gulseisen verfertigten Leitungsrohre freilich billiger und leichter, aber kaum vollkommener. Diese Technik verschwand ungefähr ganz, als die Römer im Anfange des 2. Jahrhunderts v. Chr. die Herrschaft über diese Länder bekamen. Reste von solchen Druckleitungen gibt es noch bei Patara<sup>1)</sup>, Jerusalem (Salomons obere Leitung von den Teichen), Laodicea<sup>2)</sup> ad Lycum, Smyrna, Methymna und Pergamon.

Auch auf diesem hygienischen Gebiete sind die Griechen die Vorläufer der Römer, sowohl hinsichtlich der Technik als hinsichtlich der Zeit. Die Eupalinos- und Peisistratos-Leitungen sind mindestens 200 Jahre älter als die erste, Aqua Appia in Rom; gar nicht zu reden von der Druckleitung in Patara, welche ohne Zweifel noch 200—300 Jahre älter war.

Wir werden jedoch nicht näher auf diese interessante Frage eingehen, da die Wasserversorgung der Strafsen bei den Griechen nicht überall eingeführt gewesen zu sein scheint. Es gab eine oder zwei Quellen innerhalb der Stadt, wie Kallirrhoe-Enneakrunos in Athen. Jene erhielt ihre gröfsere Wassermenge von der Peisistratos-Leitung. Oder seltenerweise wurde das Wasser nach den in den Häusern und vereinzelt in Strafsen angelegten Zisternen geleitet. Eine solche Leitung fand man in Olympia. Die vielen Strafsenbrunnen aber, welche man in Rom, Pompeji, Antiochia, Alexandria und vielen andern Städten findet, sind von den Römern angelegt. Allgemein eingeführt wurden sie durch Agrippa. Um sie genügend mit Wasser versorgen zu können, baute er zahlreiche private Wasserkastelle über dem Strafsennetz der Stadt und ermöglichte dadurch auch die Wasserversorgung der Häuser mit Laufbrunnen.

Diese Technik führten die Römer nun überall ein, wo sie hinkamen. Und darin besteht das gröfste Verdienst der Römer auf diesem Gebiete.

1) Texière, Description de l'Asie mineure.

2) Jahrb. d. deutschen archäolog. Instituts, Bd. XIII u. f.



Wie aber schon oben erwähnt, wurde in der griechischen Stadt Priene das Wasser in jedes einzelne Haus geleitet. Ich erinnere hier an die Inschrift auf der bekannten Mesa<sup>1)</sup>-Stele in Louvre, die beweist, dafs man schon gegen das Jahr 900 v. Chr. das Wasser in die Häuser geleitet hat. Diese Inschrift lautet: »Ich habe Qarha mit hölzernen und steinernen Mauern angelegt, ich habe die Thore und Türme gebaut. — — Und innerhalb der Stadt gab es keine Brunnen in Qarhe; und ich sagte zu dem ganzen Volke: Macht euch Zisternen, ein jeder in seinem Hause; und ich hohlte eine Wasserleitung aus nach Qarha (mit den Gefangenen) von Israel.«

Schon früh waren die Griechen darauf bedacht, aufser der erwähnten Ableitung etwas für die Reinigung der Strafsen zu thun. In Athen gab es schon im grauen Altertum eine Strafsenpolizei, die fünf sogenannten Astynomen, die dafür aufzukommen hatten, dafs die Baulinie nicht überschritten wurde, und dafs der Verkehr in den schmalen Strafsen nicht durch Vorbauten und nach aufsen gehenden Thüren noch mehr gehindert wurde. Aufserdem hatten sie die Aufsicht über die Wasserversorgung, und endlich hatten sie für die öffentliche Ordnung und die Reinlichkeit aufzukommen. Unter ihnen rangierten die »Koprologoi«. Später, im 4. Jahrhundert, traten die Agoranomen an ihre Stelle. Piräus hatte fünf solcher Agoranomen. Es existiert noch aus dem Jahre 320 v. Chr. ein Volksbeschluss der Stadt Athen, wonach: »Diejenigen, welche Abfall auf die Strafsen werfen, gezwungen werden sollten, denselben wieder zu entfernen. Und um alles gut im Stande zu halten, sollten diejenigen, welche in der Zukunft Abfall und Exkreme auf die Strafsen oder den Markt werfen, bestraft werden.«

Jedoch waren es nur die Hauptstrafsen, welche unter der Aufsicht der Astynomen standen, und die von Koprologoi gereinigt wurden. Diese wurden von der Stadt angelegt und wahrscheinlich auch in Stand gehalten. Die schmalen Nebenstrafsen aber, in deren Häusern, wie man in Priene sieht, kein Eingang von der Hauptstrafse war, waren privat und sind gewifs im

1) Moubiterkönig.

höchsten Grade schmutzig gewesen, ebenso wie die angioportus in Rom.

Überhaupt waren die Strafen im Altertum — Athen und Rom nicht ausgeschlossen — ohne Zweifel trotz ihres Pflasters und trotz ihrer Ableitung, dieser notwendigen Voraussetzung einer Strafsenreinigung, nichts weniger als rein. Dies sieht man besonders in Rom.

In allen griechischen Städten spielte der Marktplatz, agora, eine bedeutende Rolle in dem politischen und kommunalen Leben, aber nichtsdestoweniger war er in hygienischer Hinsicht wegen seiner geringen Größe meistens sehr bedeutungslos. Größeren Gartenanlagen und öffentlichen Plätzen begegnet man erst in der Kaiserzeit.

Als die Römer die Erbschaft der griechischen Kultur antraten, übernahmen sie selbstverständlich auch die hier behandelten und viele andere hygienische Einrichtungen. Aber während sie in Litteratur, Wissenschaft und Kunst hinter ihren Lehrern zurückblieben, so kann nicht geleugnet werden, daß sie die technisch-hygienischen Veranstaltungen und besonders diejenigen, mit denen wir uns hier beschäftigen, bedeutend vervollkommnet haben.

Sie verbesserten nicht nur die Technik der Strafsenpflasterung, und ließen sich die Instandhaltung und die Reinlichkeit nicht nur besonders angelegen sein, sondern sie wirkten am allermeisten im Dienste der Strafsenhygiene dadurch, daß sie ihre Einrichtungen für alle mit dem römischen Bürgerrecht ausgestatteten Städte obligatorisch machten, sowie auch dadurch, daß sie durch die Macht des Beispiels die Forderungen an Komfort und Hygiene, an welche sie sich zu Hause gewöhnt hatten, auch auf die Städte und Länder übertrugen, welche sie im Laufe der Zeit eroberten.

Deshalb sehen wir, wie in allen Städten am Mittelmeere die alten Einrichtungen auf dem Gebiete der Strafsenhygiene den neuen römischen Platz machen müssen.

Eine besonders kolonisierende Bedeutung hat Rom nicht gehabt. Man suchte das Vorhandene zu ändern, zu verbessern,

zu romanisieren. Daher beschränken sich ihre Neuanlagen hauptsächlich auf die Anlage von Lagern mit dem regulären Strafsenkreuz. Die Lagerstädte scheinen nicht nach einem bestimmten Plan angelegt worden zu sein. Turin wurde jedoch von Augustus mit geraden und einander senkrecht durchschneidenden Strafsen, die von der Anlage aus mit Kloaken versehen waren, angelegt. — Auf dieselbe Weise wurde später auch Konstantinopel erbaut.

Aber im allgemeinen sind die Römer bestrebt gewesen, die engen Strafsen in Rom und den übrigen alten Städten in hygienischer Beziehung möglichst erträglich zu machen.

Zum Schlusse werden wir uns eingehender mit den hygienischen Einrichtungen der Strafsen in Rom beschäftigen.

Rom gehört zu den alten Städten, welche im Laufe der Jahrhunderte auf der ursprünglichen Stelle aufgewachsen sind. Mit Recht sagt daher auch das Sprichwort: »Rom wurde nicht an einem Tage erbaut.« Wenn wir annehmen, dafs diese Stadt 753 v. Chr. gegründet wurde, so ist gegen 2600 Jahre an ihr gebaut worden.

Daher findet man hier als Überreste der alten Stadt nur noch die aus Quadersteinen errichtete Stadtmauer des Servius, die bekannte Quellenkammer — Tullianum — am Fusse des Kapitols und die cloaca maxima.

Zum Glück sind noch einige Bestimmungen des Zwölftafelgesetzes erhalten, so dafs wir uns eine ziemlich deutliche Vorstellung von der sanitären Beschaffenheit der Strafsen machen können.

Eine dieser Verordnungen lautet: »Die Strafsen sollen dort, wo sie in gerader Richtung laufen, 8 Fufs und dort, wo sie eine Biegung machen, 16 Fufs breit sein.« Weiter heifst es in demselben Gesetze mit Rücksicht auf die Häuser: »Rund um die Mauern soll ein Strich Landes — ambitus — von  $2\frac{1}{2}$  Fufs Breite sein.« Dadurch war die Möglichkeit geschaffen, einen Bürgersteig anzulegen. Die Breite der Strafsen war also in Wirklichkeit  $8 + 2\frac{1}{2} + 2\frac{1}{2} = 13$  Fufs, bezw. 21 Fufs. Die Folge davon war aber auch, dafs die Häuser nicht in der geschlossenen Bau-

linie zu liegen kamen, da ja jedes Haus  $2\frac{1}{2}$  Fufs von der Grenze aufgebaut werden durfte. Auf diese Weise entstanden dann die zwischen den Häusern liegenden, äußerst schmalen privaten Gänge von 5 Fufs Breite — die *angiportus*, wo oft die Latrine ihren Platz hatte, als *amphora in angiportu*. Da diese Gänge privat waren, hatten sie kein Pflaster. Die Häuser waren ohne Ordnung aufgeführt und in dieser Beziehung wurde es nach der Einäscherung der Stadt durch die Gallier (390) nicht besser. Als man sich entschlossen hatte — so berichtet Livius — die Stadt wieder aufzubauen, »wurden Ziegelsteine auf Kosten der Stadt herbeigeschafft (an der Sonne getrocknete Steine). Holz konnte ein jeder nehmen, wo er es bekommen konnte, aber nur unter der Bedingung, daß er sich verpflichtete, das Haus in einem Jahr fertig zu stellen. Bei dieser Eile dachte niemand daran in einer geraden Linie zu bauen; ein jeder baute, wo er am besten Platz fand. So ist es zu erklären, daß die alte Kloake, welche ursprünglich auf dem städtischen Grunde lag, jetzt (zur Zeit des Augustus) an manchen Stellen unter den Privathäusern lief, und daß die Stadt jetzt ein Aussehen hat, welches nicht auf eine planmäßige Anlage, sondern auf eine willkürliche Bebauung schließen läßt.« Und so blieb es jedenfalls bis zum Neronischen Brande. Erst nach diesem wurden die Strafen der abgebrannten Stadtteile »zum Bedauern der Römer breiter gemacht, da der Schatten und die Kühle geringer wurden«, erzählt Tacitus. Die schmalen Privatgänge zwischen den Häusern bestehen noch immer.

Hinsichtlich der Höhe der Häuser berichtet Livius, daß Rom im 3. Jahrhundert schon die drei-doppelte Haushöhe erreicht hatte. Augustus, der ein Baugesetz (Vitruvius)<sup>1)</sup> herausgegeben zu haben scheint, bestimmt, daß die Häuser in den Strafen nicht über 70 Fufs hoch sein sollen (ein römischer Fufs = 0,296 m). Trajan setzte die Höhe auf 60 Fufs herab.

---

1) Auf Vitruvius Ansichten über die Anlagen von Städten wollen wir hier nicht näher eingehen, da die von ihm aufgestellten Prinzipien kaum von irgend welcher praktischen Bedeutung gewesen sind.

Diese engen Strafsen entbehrten jedenfalls bis zum Jahre 312 jeglicher Belegung, denn erst da inaugurirt Appius Claudius die römische Wegebaukunst mit makadamisierten Fahrdämmen und Bürgersteigen. Und erst vom Jahre 189 v. Chr. beginnt man allmählich damit, die Fahrdämme zu pflastern, aber besonders von 174 an machte man Ernst mit der Sache, indem, wie Livius sagt, »die Censoren Q. Fabius Flaccus und A. Posthumius Albinus zum ersten Male die Pflasterung der Strafsen in der Stadt und die Makadamisierung von Wegen außerhalb der Stadt lizitierten.« Im Jahre 45 v. Chr. kam die lex Julia municipalis heraus, welche endlich die Anlage, Instandhaltung und Reinigung der Strafsen vorschrieb. Nach der lex Caesaris sollten vier Ädilen die Aufsicht über sämtliche Strafsen führen. In jeder der 14 Regionen der Stadt stehen unter den vier Ädilen zwei Curatores, und zu jeder Strafse gehörten vier vicomagistri, Strafsenaufseher. Es gibt in Rom über 200 vici von 13 Fufs und nur 5–6 viae von 21 Fufs Breite.

Hieran konnte durch Cäsars Gesetz selbstverständlich nichts geändert werden. Aber die lex Julia bestimmte, dafs der Fahrdamm von der städtischen Behörde, der Bürgersteig dagegen mit kleineren Steinen von dem betreffenden Hausbesitzer gepflastert werden sollte. Wenn die Strafse angelegt war, sollte der Hausbesitzer den Bürgersteig und den Fahrdamm bis zur Strafsenmitte in Stand halten, für ihre Reinigung Sorge tragen und auch für genügenden Abflufs sorgen. Sollte ein Besitzer der grossen »Insulae«, Miethäuser, dies unterlassen, so sollten Ädilen die Reinigung auf Kosten des Besitzers besorgen lassen. Nach anderen Verordnungen war der Mieter berechtigt, dies selber thun zu lassen und die Kosten von der Miete abzuziehen. Wo es sich um öffentliche, nach der Strafse liegende Gebäude handelte, hatte die Stadt für die Instandhaltung und Reinigung der Strafse aufzukommen. Ebenfalls mufste jeder Hauswirt für den Abflufs seines Grundstückes sorgen. »Derjenige oder diejenigen, deren Häuser nach der Strafse liegen, sollen auf Anordnung der Ädilen die Strafse in Stand halten, so dafs kein Abflufswasser, wodurch das Volk die Strafse weniger gut benutzen kann, stehen bleibt.«

Dieses interessante hygienische Gesetz ist eins der wenigen in Erz eingegrabenen römischen Gesetze, die uns zum größten Teil noch auf den sogenannten Herakleischen Tafeln in Neapel erhalten sind. Als dieses Gesetz herauskam, war Rom schon fast überall gepflastert, — es ist wohl nicht wahrscheinlich, daß die 5 Fuß breiten Gassen oder Gänge ein Pflaster hatten —, so daß sich nur die Bestimmungen über die Instandhaltung und Reinigung auf die Hauptstadt bezogen. Dagegen war dieses Gesetz für die vielen übrigen Städte des römischen Reichs von der größten Bedeutung. Als Pompeji im Jahre 79 verschüttet wurde, waren schon alle Straßen gepflastert; mehrere derselben machten schon eine Umpflasterung im hohen Grade notwendig, andere waren bereits umgepflastert. Im ganzen war in dieser kleinen Provinzstadt eine Million Quadratfuß ihres Grundes mit Pflaster versehen. Es würde zu weit führen, wollte ich alle römischen Städte, in denen es gepflasterte Straßen gab, auch nur aufzählen. Kurz gesagt, es gab nicht nur in Italien, sondern auch in allen Ländern des Mittelmeeres, die von den Römern erobert waren, keine Stadt ohne Pflaster.

Daß die technische Anlage der Straßen sehr schön und solide war, ist ja allgemein bekannt. Auffällig ist es, zu sehen, wie die Technik mit der Kunst und Kultur im allgemeinen im 2.—3. Jahrhundert n. Chr. in Verfall geriet. Man vergleiche nur das Pflaster der auf dem forum Romanum aufgedeckten *via sacra* aus der Zeit Caracallas mit einer einzelnen Partie des alten Pflasters vor dem Tempel des Saturn.

Bekanntlich hatte Rom schon seit alten Zeiten eine Kloake, die *cloaca maxima*, welche aller Wahrscheinlichkeit nach angelegt wurde, um dem Teile, wo sich jetzt das Forum Romanum mit dessen östlichen Fortsetzungen befindet, einen Abfluß zu verschaffen. Dieselbe soll ja von Tarquinius im 6. Jahrhundert v. Chr. angelegt worden sein. Sie war aus Tuffquadersteinen gemacht und war ungefähr  $4 \times 4$  m im Durchmesser. Den Boden hatte man mit Lavapolygonen gepflastert und die Kloake war gewölbt. Den ältesten Teil derselben, von dem Forum bis zum Tiber, benutzt man noch heutigen Tages.

Zur selben Zeit, oder wahrscheinlich noch etwas früher, als man anfang, die Straße zu pflastern, wurde die cloaca maxima durch zahlreiche Ausläufer erweitert, so daß sie den Abfluß von allen Grundstücken innerhalb der Mauer des Servius aufnehmen konnte. Man hat an den verschiedensten Stellen der modernen Stadt wohlerhaltene Reste derselben gefunden.

Da die Straßen gegen 174 v. Chr. gepflastert wurden, so ist ohne Zweifel der Abfluß von diesen Straßen in die Kloake geleitet worden. Dies geht auch aus folgender späterer Bestimmung des Zwölftafelgesetzes hervor: »Wenn der auf öffentlichen Grund geleitete Abfluß einem Privatmanne Schaden zufügt, so muß gegen den ersten Privatmann eine Privatklage erhoben werden.« Offenbar ist aber die Wassermenge damals zu gering gewesen, denn man beklagte sich ungefähr um dieselbe Zeit darüber, daß die Kloake zugesetzt worden war, weshalb man eine Summe von 1000 Talenten (4½ Millionen Mark) zur Reinigung anwenden mußte. Später erfährt man nichts mehr von einer solchen Katastrophe. Seit dem Jahre 145 v. Chr. leitete man auch aqua Marcia nach Rom, welche der Hauptstadt innerhalb 24 Stunden 100 000 Kubikmeter Wasser zuführte, und um das Jahr 60 n. Chr. flossen wenigstens 6—700 000 cbm Wasser innerhalb 24 Stunden durch die Kloake.

Aus einer Stelle bei dem älteren Plinius geht hervor, daß die Kloake zur allgemeinen Zufriedenheit funktionierte. Es heißt dort: »Agrippas 7 Wasserströme (worunter man natürlich die sieben von Agrippa rekonstruierten und neu angelegten Wasserleitungen: Aqua Appia, Anio vetus, Marcia, Tepula, Julia, Virgo und Alscetina zu verstehen hat) spülen allen Unrat der Stadt in die Kloake; zuweilen fließt das Wasser des Flusses da hinein, und dann entsteht ein Kampf zwischen den beiden Strömen; jedoch der starke Bau hält es aus. Große Massen von den Strömen mitgerissener Unrat passieren deren Mauern, ohne sie zu sprengen.«

Wir sehen hieraus also, daß Rom auch den Beweis geliefert hat, daß, wie die Erfahrung der neueren Zeit auch lehrt, die Kanalisation einer Stadt ohne genügende Wassermenge vom

hygienischen und technischen Standpunkte aus undurchführbar ist.

Dafs übrigens diese enorme Wasserzufuhr nicht genügte, um die cloaca maxima auszuspülen, davon kann man sich überzeugen, wenn man den vor einigen Jahren aufgedeckten Teil, der von Augustus' Forum nach dem Forum Romanum hinabgeht, passiert. Von einem allgemeinen oder erlaubten, geschweige denn obligatorischen Anschluß von den Häusern nach der cloaca maxima, wie dies in Athen der Fall war, wird uns nichts berichtet.

Dafs trotzdem die Exkremente — per nefas — häufig in die Kloake geworfen wurden, geht aus folgender Bemerkung des Columella hervor: » — auch haben die Kräuter nichts dagegen, dafs man den müden Brachfeldern das bietet, was die Latrinen in die schmutzigen Kloaken ergiessen.« Diese Bemerkung kann jedoch wohl kaum als ein Beweis dafür gelten, dafs es in Rom Wasserklosetts gab. Öffentliche Latrinen scheint man nicht vor Tiberius' Zeit gekannt zu haben. Im Jahre 315 n. Chr. waren in Rom 144 latrinae publicae und 116 necessariae längs der Aurelianischen Mauer. Dafs man jedoch öffentliche Strafsenlatrinen mit Wasserausspülung gekannt und benutzt hat, beweist Pompejis Forumlatrine. Diese hatte acht Sitze und war über einem 2 m tiefen ausgemauerten Halbkanale angebracht, wohin ein bleiernes Wasserrohr führte. Der Abflufs war nach einem verdeckten Rinnsteine. Einer ganz ähnlichen öffentlichen Latrine, die 25 Sitze hatte und mit grofser Eleganz ausgestattet war, erwähnt Gaston Boissier (l'Afrique Romaine). Diese befand sich in einer mit Quadersteinen gepflasterten Hauptstrafse der kleinen Militärkolonie Tamugadi in der Nähe der Wüste Sahara. Hier handelt es sich um zwei antike Trogklosettanlagen. In Pompeji hat ja übrigens ungefähr jedes Haus seine Latrine, wahrscheinlich mit einer Amphora (antikes Tonnensystem), die meistens nahe bei der Küche lag.

Die oben erwähnte reichlichere Wasserzufuhr in Rom kam nicht nur der cloaca maxima zu gute, sondern sie half auch dem mehr und mehr sich geltend machenden Bedürfnisse nach Trink- und Verbrauchswasser ab, und sie trug auch nicht unwesentlich



zur Reinlichkeit der Strafsen und der Luft in diesen Strafsen bei. Die zahlreichen Laufbrunnen (lacus — 700), welche Agrippa in den Strafsen anlegen liefs, und die vielen monumentalen Fontainen (munera — 105) auf den Marktplätzen und andern freien Plätzen, die mit 300 Bronze- und Marmorstatuen und mit 400 Säulen geziert waren, gereichten nicht nur den Strafsen zur Zierde, sondern das Tag und Nacht fliefsende Wasser erfrischte die Luft und reinigte die Strafsen und die Kloake unter der Strafsen. In demselben Mafse wie die Wassermenge vermehrt wurde, in demselben Mafse nahm die Zahl der Strafsenbrunnen zu, so dafs ihre Zahl, nachdem sie zur Zeit des Frontinus auf 391 lacus und 39 Fontainen (munera) zurückgegangen war, wieder auf 1352 (im Jahre 315 n. Chr.) stieg.

Eine eigentliche Wassersprengung im modernen Sinne des Wortes gab es in Rom nicht. Das überlaufende Wasser der Strafsenbrunnen, sowie das Überfallwasser der Kastelle (von diesen hatte Agrippa 130 angelegt; zur Frontinus' Zeit gab es deren 247) durfte ohne Cäsars ausdrückliche Erlaubnis nicht in die Häuser geleitet oder zu industriellen Unternehmungen benutzt werden; »denn«, sagt Frontinus, »von den Kastellen mufs notwendig ein Teil des Wassers überfliefsen, aber dieses trägt nicht nur zur Gesundheit der Stadt bei, sondern es nützt auch dadurch, dafs es die Kloaken reinigt.« Und an einer andern Stelle heifst es bei Frontinus: »Selbst das überlaufende Wasser ist von nicht geringem Nutzen; mit der Reinlichkeit sieht es schon jetzt ganz anders aus, und die Ursachen der ungesunden Dünste, wodurch die Stadt in üblen Ruf gekommen war, sind entfernt.«

Übrigens war die Anlegung der vielen Strafsenbrunnen darauf zurückzuführen, dafs die Wasserleitungen in den Häusern in Rom bei weitem nicht so allgemein waren wie in Pompeji, wo selbst das ärmlichste Haus einen Laufbrunnen hatte, oder in Antiochia, »wo«, wie Lebanios berichtet, »die Einwohner nicht nötig haben, sich an den Strafsenbrunnen zu schlagen, um Wasser zu bekommen, da jedes Haus und jede Werkstatt einen und oft mehrere Laufbrunnen hatten.«

Zu Frontinus' Zeit überliefs man den Bewohnern zum privaten Hausgebrauch so viel Wasser, als 3847 Quinnarien liefern konnten; und jedes einzelne Haus durfte nach einer Verordnung aus dem Jahre 382 n. Chr. nur von ca.  $\frac{1}{2}$ — $3\frac{1}{2}$  Quinnarien erhalten.

Da Rom im Jahre 315 n. Chr. 46602 Insulae — Mietkasernen — und 1790 Domus — Patrizierhäuser — zählte, so ist es mehr als wahrscheinlich, dafs diese alle die Quinnarien benutzten, die für die 250000 Sestertien den Abonnenten überlassen wurden, und dafs die Bewohner der 46602 Insulae auf die zahlreichen Strafsenbrunnen angewiesen waren.

Aber trotz der vorzüglichen Pflasterung, trotz der Kloaken und der fortwährend reingespülten Rinnsteine und trotz der Pflicht der Hausbesitzer, die Strafsen zu fegen, war bekanntlich der Zustand der Strafsen nicht der beste. Der privaten Fegepflicht ist man wohl nicht immer nachgekommen; auch liefsen die Ädilen es oft an der nötigen Gewissenhaftigkeit fehlen. Selbst der so bürgerlich gesinnte Vespasian mußte sich nach Sueton von Caligula höhnlische Bemerkungen gefallen lassen, weil er als Ädil nicht genügend dafür Sorge getragen hatte, dafs die Bürger die Strafsen reinigten.

Bei einer Einwohnerzahl von mindestens  $1\frac{1}{4}$ — $1\frac{1}{2}$  Millionen in der Kaiserzeit ist es nicht zu verwundern, dafs der Verkehr in diesen engen Strafsen, trotzdem die lex Julia municipalis den Wagenverkehr in den ersten zehn Stunden des Tages verbot, die Reinhaltung derselben schwierig machte; nur dem Triumphator, den Vestalinnen und den Bauern, welche nachts nach der Stadt kommen, um Stercora wegzufahren«, war es gestattet, mit Wagen zu fahren. Auch aus der letzten Bestimmung geht hervor, dafs die Abfuhr die Regel war. Kein Wunder also, dafs Juvenal sich darüber beklagt, dafs seine Füfse auf der Strafsse schmutzig wurden, und dafs Martial »die Luft in den Strafsen so dicht fand, dafs er von seiner Wohnung auf der dritten Etage nicht die Pflastersteine sehen konnte«, wenn wir bei dem gewissenhaften Frontinus lesen, dafs die Stadt wegen der giftigen Dünste in der Luft berüchtigt war.

Und erinnert man sich der unendlich vielen Klagen über die Baufälligkeit und die häufigen Einstürze, so kann man sich Horaz' und Senecas Furcht, beim Passieren der Strafsen einen Stein oder einen Balken auf den Kopf zu bekommen, erklären.

Die wesentliche Ursache davon, daß die Luft in den Strafsen dieser alten Millionenstadt dumpfig, drückend und voll Staub war, lag ohne Zweifel darin, daß die sehr engen Strafsen nicht durch breitere ersetzt werden konnten. Jedoch sind sie wohl kaum schmutziger gewesen als die meisten Strafsen unserer modernen Großstädte.

Außerordentlich interessant und lehrreich ist es, zu sehen, wie Rom besonders seit Julius Cäsar mit Erfolg bestrebt war, den Übelständen und den hygienischen Mängeln, an denen die Millionenstadt wegen ihrer unregelmäßigen und planlosen Anlage und ihrer engen Strafsen litt, abzuhelpfen.

Natürlich war die Kloakierung und reichliche Wasserzufuhr eine notwendige Voraussetzung der klugen, von Cäsar erlassenen Gesetze.

Und wenn wir auch, wie schon oben erwähnt, den Römern die Originalität auf diesem wie auf fast allen andern Gebieten der Kunst und Kultur absprechen müssen, so läßt sich nicht leugnen, daß sie das ihnen von andern Nationen Überlieferte durch ihre technische Tüchtigkeit wie durch ihr Organisations-talent so vervollkommnet haben, daß wir sie erst im 19. Jahrhundert überflügelt haben, wie Hueppe<sup>1)</sup> dargelegt hat.

Und unzweifelhaft besteht das größte Verdienst der Römer auf dem hygienischen wie auf andern Gebieten darin, daß sie die sämtlichen Bewohner der Städte in dem großen römischen Reiche durch die Macht des Beispiels oder durch Verordnungen veranlaßten, mit ihnen gleichen Schritt zu halten.

Es ist fast unbegreiflich, wie alle diese nützlichen hygienischen Veranstaltungen und Einrichtungen der Menschheit so vollständig aus dem Gedächtnis entschwinden konnten, daß die

---

1) Hueppe, Zur Rassen- und Sozialhygiene der Griechen im Altertum und in der Gegenwart, 1897.

ersten 5—6 Dezennien des 19. Jahrhunderts sich allen Ernstes rühmten, auf dem Gebiete der Stadthygiene etwas Originales geschaffen zu haben.

Wir dürfen aber nicht vergessen, daß die Strafsen der Städte bis in unser Jahrhundert hinein im äußersten Grade schmutzig waren. Waren doch Paris im Jahre 1641 und London 1605 noch nicht mit der Pflasterung ihrer Strafsen fertig, und hatten doch Berlin und Kopenhagen erst in der letzten Hälfte des 17. Jahrhunderts mit einer geordneten Pflasterung begonnen.

---

116

## Über das Vorkommen löslicher Antimonverbindungen in Kleidungsstoffen.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann** und Dr. **Franz Göbel**.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

Die Baumwollfärberei verwendet und verwendete früher in weit größerem Umfange Antimonverbindungen, namentlich Brechweinstein, zur Beizung der zu färbenden Stoffe. Bei der bekannten, einst therapeutisch benützten Eigenschaft der Antimonverbindungen Hautentzündungen hervorzurufen (schwere Ekzeme, ja pustulöse Affektionen), ist es nicht zu verwundern, daß nachlässig hergestellte farbige Stoffe gelegentlich beim Tragen zu Hauterkrankungen führten. Ist die Litteratur auch nicht reich an derartigen Angaben, so enthält sie doch eine Zahl unzweifelhaft festgestellter Fälle.

Besonders beweisend ist der Fall von **K a y s e r**, dem ein braunroter Baumwollstoff zur Untersuchung vorlag, welcher zu Hosentaschen Verwendung gefunden und an den Oberschenkeln starke Ekzeme hervorgebracht hatte. Die Untersuchung ergab 85 mg wasserlösliches Antimon pro 100 qcm Stoff. Das Ekzem verschwand wenige Tage nach der Beseitigung der gifthaltigen Taschen. (Rep. f. analyt. Chemie, 1883, p. 121.)

Über antimonhaltige Strümpfe von roter Farbe berichtet **Sendtner** in seinen Mitteilungen: Erfahrungen auf dem Gebiete der Kontrolle der Lebensmittel und Gebrauchsgegenstände 1893 in 17. Band dieses Archives. Die Strümpfe erzeugten bei ihren

Trägern heftige Hautausschläge. In einem Fall wurde eine quantitative Antimonbestimmung vorgenommen: 100 qcm Stoff enthielten 22 mg Antimon, ein ganzer Strumpf von 800 qcm 177 mg — wasserlösliches — Antimon. Neben dem Antimon nahm das Wasser reichliche Mengen roten Farbstoffs auf. Auch in Plüschstoffen, namentlich in meergrünen und olivgrünen Nuancen, wie sie als Möbelbezüge sehr beliebt sind, fand Sendtner mehrfach reichliche Antimonmengen, auf die er die Hygieniker aufmerksam machte, ohne selbst Zahlen mitzuteilen. Auch unterliefs Sendtner, anzugeben, ob es sich um wasserlösliche Antimonpräparate handelte.

Von systematischen Untersuchungen über den Antimongehalt von Gespinststoffen konnten wir nur die von Bischoff aus dem Jahre 1883 finden, welcher folgende Angaben macht (Rep. f. anal. Chemie 1883 S. 305).

In kunstgerecht, aber ohne besondere Vorsicht mittels Brechweinstein gebeizten 17 Baumwollgarnen von allen möglichen Farben wurde auf 100 g gefunden:

a) in Wasser löslich	b) in Säure löslich
Spur	110
Spur	260
12 mg	120
Spur	240
Spur	130
8 mg	250
Spur	180
Spur	100
8 mg	220
Spur	244
Spur	310
13,5	300
14,0	200
Spur	36
Spur	110
Spur	121
Spur	200

Bischoff überläßt den Medizinern zu beurteilen, ob solche kleine wasserlösliche Mengen eine Bedeutung haben und bezweifelt, daß den wasserunlöslichen Mengen überhaupt eine Bedeutung zukommt. Bei der außerordentlichen Spärlichkeit von Antimonvergiftungen durch Kleidungsstücke ist es kaum zu bezweifeln, daß für nicht abnorm empfindliche Menschen derartige Antimongehalte, wie sie Bischoff fand, belanglos sein müssen.

Neuere umfassende Arbeiten über den Antimon Gehalt von Stoffen gelang es uns nicht zu finden. Da aber die Baumwollfärberei mit dem Erscheinen der Sendtnerschen Arbeit vielfach neue Wege eingeschlagen und mit Erfolg in weitem Umfang »direkt färbende«, eine vorhergehende Beizung nicht erfordernde Teerfarbstoffe eingeführt hat, so schien es nicht uninteressant, einmal eine große Zahl Baumwollstoffproben einer eingehenden Untersuchung auf wasserlösliche Antimonverbindungen zu unterziehen. Wir beschränkten uns absichtlich auf die Untersuchung von wasserlöslichen Verbindungen, weil noch nie eine Vergiftung auf in Wasser unlösliches Antimon zurückgeführt wurde, trotz der relativ großen Mengen Antimon, die mindestens zur Zeit von Bischoffs Untersuchung verbreitet in den Geweben vorkamen<sup>1)</sup>.

Für unsere Untersuchungen dienten 41 Stoffproben:

- I. 5 Herrenkleider-Futterstoffe (Baumwolle),
- II. 9 Möbelripse (Wolle),
- III. 4 Baumwollbettstoffe,
- IV. 5 Möbelkattune (Baumwolle),
- V. 3 Damenkleiderstoffe (Wolle),
- VI. 3 Herrenkleiderstoffe (Wolle),
- VII. 8 Möbelplüsch (Baumwolle),
- VIII. 4 Baumwollstrümpfe.

Die Untersuchungen zerfielen in eine Vorprüfung und eine genaue quantitative Untersuchung, der letzteren wurden nur die Proben unterworfen, bei denen die Vorprüfung wenigstens deutliche Spuren von löslichen Antimonverbindungen ergaben.

1) Nachträglich haben wir noch 25 qem von  
 II 6    II 7    VII 8    VII 2    VIII 2    VIII 4  
 auf Gesamtantimon Gehalt untersucht. Probe II 6 enthielt reichlich (ca. 1,5 mg) Antimon, andere Proben nichts oder Spuren.

Der Gang der Analysen war folgender:

a) Vorprüfung. Ein lufttrocken gewogenes Stück Stoff von 25—100 qem und 0,7—4,4 g Gewicht wurde mit 200 ccm Wasser eine halbe Stunde in einer Porzellanschale gekocht, die Flüssigkeit, welche meist kräftig gefärbt war, durch ein Faltenfilter noch warm filtriert und Filter und Tuchstück einige Male mit heissem Wasser ausgewaschen. Das gesammelte Filtrat wurde erwärmt, mit Salzsäure kunstgerecht angesäuert und längere Zeit Schwefelwasserstoff eingeleitet. Der Niederschlag wurde nach einigen Stunden abfiltriert und mit Schwefelwasserstoffwasser ausgewaschen, das Filtrat wurde auf  $\frac{1}{3}$  eingeengt und nochmals Schwefelwasserstoff eingeleitet, und ein event. entstandener Niederschlag auf einem besonderen Filter gesammelt. War ein Niederschlag von gelber, gelblicher oder roter Farbe entstanden, so begann

b) die genaue Untersuchung. Der Niederschlag wurde mit gelbem Schwefelammonium  $\frac{1}{2}$  Stunde im Wasserbad erwärmt, das Schwefelammonium abfiltriert und mit warmem Wasser ausgewaschen. Der Auszug wurde nun zur Trockene verdampft und mit der ca. 7fachen Menge eines Gemisches von Natriumkarbonat (1 Teil) und Natriumnitrat (2 Teile) im bedeckten Porzellantiegel geschmolzen und die Schmelze in warmem Wasser gelöst. In Lösung ging dabei etwa vorhandenes Arsen und ein Teil des Zinns, es blieb zurück Antimon als pyroantimonsaures Natron und ein Teil des Zinns (als Zinnoxid). Der Filtrerrückstand wurde nochmals mit Soda und Salpeter geschmolzen, um die letzten Zinnspuren von Antimon zu trennen, und das so gereinigte pyroantimonsaure Natron nach Veraschung des Filters mit Cyankalium geschmolzen. Das erhaltene metallische Antimon wurde in heisser Salzsäure unter Zusatz von etwas  $KClO_3$  gelöst, das Chlor verjagt, mit Ammoniak neutralisiert, schwach mit Salzsäure angesäuert und auf 25 ccm aufgefüllt. Durch Einleiten von Schwefelwasserstoff wurde nun das Antimon als orange-farbiger feiner Niederschlag erhalten, der sich in den kleinen Mengen, wie er in unseren Proben vorhanden war, nur langsam absetzte und kolorimetrisch genügend genau bestimmt werden konnte. Als Vergleichslösung diente eine Brechweinsteinlösung



mit einem Gehalt von 1 mg Antimon in 1 ccm. Von dieser Lösung setzten wir 0,1—0,3—0,5—1,0 ccm zu 25 Wasser, leiteten Schwefelwasserstoff ein und verglichen den Niederschlag mit dem in unseren Analysen.

Die Ergebnisse der Arbeit lassen sich sehr kurz mitteilen: Nennenswerte Antimonmengen fanden sich niemals, der Schwefelwasserstoffniederschlag bei der Vorprüfung war nie orange, stets nur gelb oder gelblich und bestand jedenfalls größtenteils aus Schwefel, 3mal wurde ein schwarzer Niederschlag erhalten; derselbe wurde 3mal nicht weiter untersucht, da der Antimongehalt aller gelben und rötlichen Niederschläge so gering war. Die Angabe über das Gewicht der Schwefelwasserstoffniederschläge beruht auf Schätzung, nachdem einige Niederschläge gewogen waren; diese Zahlen — welche das Gewicht von viel Schwefel einschließen — sind ziemlich wertlos und sollen nur eine grobe Orientierung geben.

Tabelle I. Herrenkleider-Futterstoff.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag	
					Farbe	ca. mg
1	schwarz . . . .	60,0	2,0	schwarz . . . .	schwarz	5,0
2	marine . . . .	25,0	1,0	dunkelblau . . .	„	1,0
3	raye . . . .	25,0	0,7	„ . . . .	0	—
4	heliotrop . . . .	45,0	1,0	purpurrot . . . .	0	—
5	erdbeerrot . . . .	60,0	1,0	zinnober . . . .	0	—

Tabelle II. Möbel-Ripse.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag		Im Nieder- schlag Antimon
					Farbe	ca. mg	
1	olive-grün	90,0	3,3	dunkelgrün	schwarz	1,0	0
2	grün	72,0	2,2	grün	„	0,5	0
3	olive-grün mit bunt	72,0	4,2	hellrot	gelblich	2,0	0
4	rot	81,0	2,6	„	„	2,0	0
5	granatrot	90,0	2,6	„	„	3,0	0,1
6	„	90,0	2,4	„	„	1,0	0,15
7	rot	96,0	2,8	„	„	0,5	0
8	hellgrün	90,0	2,8	hellgrün	0	—	—
9	dunkelgrün	90,0	2,7	dunkelgrün	0	—	—

Tabelle III.  
Baumwoll-Bettstoff.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag	
					Farbe	ca. mg
1	rot-carreau . . .	100,0	2,2	farblos . . . . .	gelblich	0,2
2	blau-carreau . . .	74,0	1,5	„ . . . . .	„	0
3	rosa-carreau . . .	81,0	1,8	Stich ins Rote . . .	0	—
4	rot und blau car- reau . . . . .	70,0	1,3	Stich ins Gelbe . . .	0	—

Tabelle IV.  
Möbel-Kattun.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag	
					Farbe	ca. mg
1	olive-bunt . . .	48,0	1,3	hellgrün . . . . .	0	—
2	marine-bunt . . .	56,0	0,7	„ . . . . .	0	—
3	schwarz bunt . . .	48,0	0,6	rot . . . . .	0	—
4	hellblau-bunt . . .	50,0	1,6	farblos . . . . .	0	—
5	crème-bunt . . .	64,0	1,6	grün . . . . .	0	—

Tabelle V.  
Damenkleiderstoff.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag	
					Farbe	ca. mg
1	blau . . . . .	35,0	0,8	hellblau . . . . .	0	—
2	„ . . . . .	35,0	0,7	dunkelblau . . . . .	0	—
3	grün . . . . .	35,0	0,8	dunkelgrün . . . . .	0	—

Tabelle VI.  
Herrentuche.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag	
					Farbe	ca. mg
1	blau-grau . . . . .	50,0	2,1	violett . . . . .	0	—
2	hellgrau . . . . .	50,0	1,8	Stich ins Blaue . . .	0	—
3	dunkelgrau . . . . .	50,0	1,8	dunkelblau . . . . .	0	—

Tabelle VII.  
Möbelpflüsch.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag	
					Farbe	ca. mg
1	terracotta . . .	65,0	3,7	hellrot . . . .	gelblich	1,0
2	olive . . . . .	65,0	4,4	grün . . . . .	„	2,0
3	grün . . . . .	65,0	4,1	„ . . . . .	„	0,5
4	dunkel-olive . .	65,0	4,0	Stich ins Grüne.	0	—
5	dunkelrot . . .	65,0	3,4	purpurrot . . .	0	—
6	hellrot . . . .	65,0	3,8	farblos . . . .	0	—
7	grün . . . . .	65,0	4,6	„ . . . . .	0	—
8	olive . . . . .	65,0	1,3	grün . . . . .	schwarz	3,0

Tabelle VIII.  
Strümpfe.

Nr.	Farbe	qcm	g	Farbe des Auszuges	H <sub>2</sub> S-Niederschlag		Anti- mon
					Farbe	ca. mg	
1	hellrot . . . .	60,0	3,2	rot . . . . .	0	—	—
2	dunkelrot . . .	60,0	2,3	„ . . . . .	0	—	—
3	grau . . . . .	48,0	1,5	farblos . . . .	0	—	—
4	dunkelrot . . .	70,0	2,7	rot . . . . .	rot	1,0	0,2

Zur Kontrolle dieser fast ganz negativen Ergebnisse haben wir ein Stück Baumwollstoff in 1<sup>0</sup>/<sub>100</sub> Brechweinsteinlösung eingetaucht und ausgedrückt. Ein Stück von 50 qcm wurde direkt, ein anderes nach kurzem Auswaschen mit Wasser so behandelt wie unsere Stoffproben, schon einige Kubikcentimeter der Auskochung beider Proben, auch der zweiten, gab einen orangefarbenen Niederschlag, wie wir ihn nie, auch nur annähernd sonst bei unseren Untersuchungen gesehen haben.

Es folgt also aus unseren Untersuchungen, daß es jedenfalls zu den großen Ausnahmen gehört, wenn Stoffproben heute nennenswerte Mengen wasserlöslicher Antimonsalze enthalten — wir haben keine derartige Probe gefunden, vielmehr ausschließlich Antimonspuren, die man als belanglos bezeichnen kann, d. h. Mengen von 0,1 bis 0,3 mg in 100 qcm Stoff oder etwa 4—10 mg in 100 g.

# Über die Bedeutung der Zerkleinerung und des Kochens der Speisen für die Verdauung.

Von

Prof. Dr. **K. B. Lehmann**

in Würzburg.

Nach in Gemeinschaft mit den Herren Dr. Felix Meyer aus Magdeburg und  
Dr. Moritz Götz aus Fischach ausgeführten Untersuchungen.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Würzburg.)

## I. Vorbemerkung und Methode.

Durch Versuche, welche von Dr. J. Gaudenz auf meine Veranlassung und unter meiner Leitung angestellt wurden, ergab sich meines Wissens zum ersten Mal ein klarer Einblick in die Zerkleinerung unserer Speisen beim normalen Kauakt (Arch. f. Hygiene Bd. XXXVIII, 230). Es lag nahe im Anschluß an diese Ergebnisse die wichtige Frage einmal genau zu untersuchen, welchen Einfluß denn der Grad der Zerkleinerung auf die Verdauung besitzt.

Die Versuche<sup>1)</sup> wurden alle *in vitro* angestellt mit bestimmten Mengen des Nahrungsmittels, das eine möglichst ziffermäßige angebbare Zerkleinerung erfahren hatte; es wurden möglichst gute Fermente, optimale Temperaturen angewendet und stets eine Reihe von Versuchen mit verschiedenem Zerkleinerungsgrad

1) Ausführliche Mitteilungen über die Versuche enthalten die Dissertationen:

Dr. Felix Meyer: Über die Bedeutung des Kochens und Kauens kohlehydrathaltiger Nahrungsmittel für die Verdauung. Würzburg, 1900.

Dr. Moriz Götz: Über die Bedeutung der Zerkleinerung von Speisen für die Pepsinverdauung des Eiweißes. Würzburg, 1901.

aber gleicher Dauer gleichzeitig ausgeführt. Die Wirkung der Fermente wurde stets durch Bestimmung des in Lösung gegangenen Produktes vorgenommen.

Von ähnlichen Versuchen ist uns in der Litteratur nichts bekannt geworden, jedenfalls bringen auch die großen und mittleren Lehrbücher der Physiologie und Hygiene über diese Frage nicht viel mehr als die auf aprioristischer Überlegung begründete Angabe, daß gutes Kauen die Verdauung günstig beeinflusse. Vielfach findet sich die Beobachtung von Ärzten und Zahnärzten citiert, daß ein künstliches Gebiß bei Menschen mit defekten Zähnen und infolgedessen darniederliegender Verdauung Wunder gewirkt habe durch Verbesserung der Ernährung. Es wird bei diesen Fällen allerdings stets zu unterscheiden sein zwischen Verbesserung der Ausnutzung der Speisen durch bessere Zerkleinerung, geringere Belästigung des Verdauungsapparates durch die feiner gekaute Nahrung und dem mindestens ebenso wichtigen Faktor: Erleichterung der Aufnahme größerer Speisemengen durch Beseitigung schmerzender Zähne.

## 2. Versuche über Eiweißverdauung.

Zu den Versuchen diente frisch von Gröbler bezogenes Pepsinum . . . Der Brutschrank zeigte 36—37°; es wurde die verdaute Masse stets gemessen und die Untersuchungen auf Stickstoff nach Kjeldahl in einem aliquoten abfiltrierten Teil des Filtrates vorgenommen.

### a. Versuche mit hartgekochtem Hühnereiweiß.

Angewendet wurden stets 5 g hartgekochtes Hühnereiweiß = 0,795 g trockenes Eiweiß. Da uns eingehendere Erfahrungen fehlten über die geeignetsten Mengen Pepsin und Salzsäure, sowie über die zweckmäßigste Versuchszeit, so wurden zuerst eine Reihe Orientierungsversuche angestellt. Die drei Zerkleinerungsgrade waren folgende:

1. Würfel von 1 cm Seitenlänge
2. Würfel von ca. 1 mm Seitenlänge
3. in der Reibschale so fein als möglich zerriebenes Eiweiß.

Alle Versuche wurden doppelt angestellt, die Zahlen der Kontrollversuche stimmten ausnahmslos vorzüglich mit denen der Hauptversuche. Die Resultate der sieben doppelt ausgeführten Eiweißversuche sind folgende:

Tabelle I.

Versuche mit gekochtem Hühnerweiß.

Versuchsnummer	Dauer	Angewendete Verdauungsflüssigkeit			Gelöstes Eiweiß in %		
		1% Normal HCl ccm	1% Pepsinlösung ccm	Wasser ccm	aus groben Würfeln	aus feinen Würfeln	aus zerriebenem Eiweiß
Versuch I . . .	1/2 h	20	10	10	9	13	20
Kontrollversuch Ia	1/2 h	20	10	10	9	14	19
Versuch II . . .	3 1/2 h	20	10	10	16	38	56
Kontrollversuch IIa	3 1/2 h	20	10	10	16	38	57
Versuch III . . .	7 h	20	10	10	22	40	58
Kontrollvers. III a	7 h	20	10	10	21	40	58
Versuch IV . . .	14 h	20	10	10	48	73	83
Kontrollvers. IV a	14 h	20	10	10	48	73	84
Versuch V . . .	7 h	40	20	20	30	47	66
Kontrollversuch Va	7 h	40	20	20	32	49	66
Versuch VI . . .	7 h	20	20	10	29	69	74
Kontrollvers. VI a	7 h	20	20	10	29	68	73
Versuch VII . . .	7 h	40	10	20	26	45	53
Versuch VII a . .	7 h	40	10	20	27	43	52

Drückt man die Hauptresultate der Tabelle graphisch aus, so ergibt sich das in Fig. 1 auf S. 126 Dargestellte.

Das heißt: Die Wirkung der Zerkleinerung auf die Löslichkeit ist eine höchst auffallende, nicht nur fördert die Zerkleinerung der groben Würfel mit 1 cm Seitenlänge zu solchen von 1 mm Seitenlänge die Verdaulichkeit sehr bedeutend, nein, die Zerreibung vergrößert die Geschwindigkeit der Verdauung abermals außerordentlich. Bei jeder Versuchsdauer liegt die Menge des aus den feinen Eiweißwürfeln in Lösung gegangenen Eiweißes fast genau in der Mitte zwischen dem aus den groben Würfeln und dem aus dem fein zerriebenen Material Gelösten.

Auffallend ist, dafs im Versuch II trotz nur  $3\frac{1}{2}$  stündiger Versuchsdauer fast ebensoviele Eiweifs in Lösung ging wie im Versuch III bei 7 stündiger Versuchsdauer; ob hieran eine Unregelmäßigkeit im Funktionieren des Brutschranks oder sonst etwas Schuld war, ist aus unseren Protokollen nicht nachträglich zu ersehen.

In einer zweiten graphischen Darstellung haben wir die Versuche von 7 stündiger Dauer, aber unter Verwendung verschieden

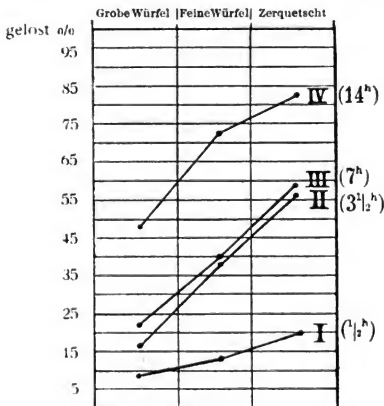


Fig. 1.

großer Mengen von Pepsin und Salzsäure zusammengestellt. Große Unterschiede traten zwischen Versuch III, V und VII nicht hervor, das auffallend bessere Resultat von VI scheint zu bedeuten, dafs bei Anwesenheit genügender Salzsäuremengen der Erfolg von dem prozentischen Gehalt der Verdauungsflüssigkeit an Pepsin abhängt.

Versuch III und V mit ganz gleichartig zusammengesetzter Verdauungsflüssigkeit, aber unter Verwendung sehr verschiedener Mengen vorgenommen, zeigt die mäßige Begünstigung durch Ver-

mehrung der Verdauungsflüssigkeit. Mit Ausnahme von VI zeigen alle Kurven einen ziemlich geradlinigen Verlauf, es steht also unter den verschiedensten Versuchsbedingungen fast jedesmal die Wirkung der feinen Zerkleinerung gerade in der Mitte zwischen der Wirkung der Zerschneidung zu groben Würfeln und der Zerreibung.

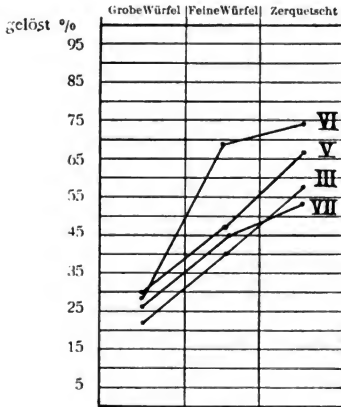


Fig. 2.

#### b. Versuche mit Fleisch und Käse.

Sehr leicht und genau waren die Versuche mit Käse anzustellen; derselbe liefs sich besonders exakt in Würfeln und Würfelchen schneiden, ebenso auf dem Reibeisen reiben (als »gerieben« bezeichnet), wie in der Reibschale zerreiben (als »zerrieben« bezeichnet), die Wirkung der Zerkleinerung war sehr auffallend.

Die Versuche mit Fleisch waren um so schwieriger. Es wurden stets 5 g roh abgewogen und dasselbe teils roh, teils nach  $\frac{1}{2}$  stündiger Behandlung im Koch'schen Dampftopf zu zerkleinern versucht. Sowohl die groben Würfeln wie die feinen, 1 mm Seitenlänge zeigenden Würfeln waren nur sehr ungenau herzustellen.



Die Zerreibung wollte überhaupt nur gelingen, wenn man das Fleisch vorher fein zerschnitt. Die Thatsache, daß das Zerreiben der feinen Würfelchen die Ausnutzung nur einmal schwach günstig, dreimal schwach ungünstig beeinflusste, ist offenbar auf Mängel der Methodik zu beziehen, und es erscheint richtiger, unter diesen Umständen auf die Fleischzerreibungsversuche nicht viel Wert zu legen. Die Einzelheiten ergeben sich aus Tabelle II.

Tabelle II.

## Versuche mit Fleisch und Käse.

Versuchsnummer	Zeit	Angewendete Verdauungsflüssigkeit			Gelöstes Eiweiß			
		$\frac{1}{10}$ Normal HCl ccm	$\frac{1}{100}$ Pepsinlösung ccm	Wasser ccm	aus großen Würfeln $\frac{\%}{\%}$	aus feinen Würfeln $\frac{\%}{\%}$	aus geriebenem Material $\frac{\%}{\%}$	aus zerriebenem Material $\frac{\%}{\%}$
Emmenthalerkäse (5 g)								
Versuch VIII . . .	$3\frac{1}{2}$ h	20	10	10	18	25	35	37
Kontrollvers. VIIIa	$3\frac{1}{3}$ h	20	10	10	18	25	35	37
Rohes mageres Rindfleisch (5 g = 1,26 g trockenes Eiweiß)								
Versuch IX . . .	$3\frac{1}{2}$ h	20	10	10	27	43	—	40,1
Kontrollvers. IX a	$3\frac{1}{2}$ h	20	10	10	27	43	—	45,5
Gekochtes mageres Rindfleisch (roh 5 g = 1,26 g trockenes Eiweiß)								
Versuch X . . .	$3\frac{1}{2}$ h	20	10	10	15	23	—	20
Kontrollvers. X a	$3\frac{1}{3}$ h	20	10	10	15	23	—	22

Sehr auffallend ist, wie viel langsamer das gekochte Fleisch ceteris paribus in vitro angegriffen wird als der rohe.

## c. Versuche mit Vegetabilien (Erbsen, Graubrot, Pfannkuchen).

Die Erbsen wurden 5 Stunden im Dampftopf gedämpft und waren dann sehr leicht zu zerreiben. Wir verglichen ganze Erbsen, achte Erbsen (diese Fragmente waren erheblich größer als 1 mm) und zerriebene Erbsen. Der relativ geringe Unterschied in der Eiweißlösung ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Erbsen sehr weich gekocht waren, so daß auch die ganzen Erbsen fast von selbst zerfielen.

Über die Brotversuche ist nicht viel Besonderes zu sagen; hier erklärt sich der relativ geringe Unterschied zwischen der

Eiweißlösung aus den großen und kleinen Würfeln wohl durch die große Porosität des Brotes.

Bei Pfannkuchen hatten die größten Stücke nur 400 - 600 mm Inhalt; die 1 mm großen Würfelchen waren nur annähernd herzustellen, und die feinste Zerkleinerung mit dem Wiegemesser war natürlich auch bei weitem keine ideale, immerhin beweisen auch diese Versuche, was sie sollen, schlagend.

Tabelle III.

Versuchsnummer	Zeit	Angewendete Verdauungsflüssigkeit			Gelöstes Eiweiß		
		$\frac{1}{10}$ Normal HCl ccm	1% Pepsinlösung ccm	Wasser ccm	aus großen Würfeln (ca. 1 ccm) %	aus feinen Würfeln (ca. 1 cmm) %	aus zerkleinertem Material %
Gelbe Erbsen (5 g lufttrocken = 0,985 g Eiweiß)							
Versuch XI . . . . .	3½ h	20	10	10	13	16	25
Kontrollvers. XIa . . . . .	3½ h	20	10	10	13	16	25
Graubrot (8 g lufttrocken = 0,648 g Eiweiß)							
Versuch XII . . . . .	6 h	40	10	20	41	46	61
Kontrollvers. XIIa . . . . .	6 h	40	10	20	40	46	61
Pfannkuchen (7 g frisch = 0,623 g Eiweiß)							
Versuch XIII . . . . .	3½ h	20	10	10	17	31	39
Kontrollvers. XIIIa . . . . .	3½ h	20	10	10	18	33	41

### 3. Versuche über Lösung von Kohlehydraten.

Etwas komplizierter als für die Eiweißkörper gestaltete sich die Untersuchung für die Kohlehydrate, weil hier wasserlösliche Stoffe neben solchen in Frage kommen, welche erst nach Einwirkung diastatischer Fermente löslich werden. Außerdem schien es geboten, den Einfluss des Kochens der vegetabilischen Nahrung auf die Löslichkeit der Kohlehydrate mit zu studieren. Es ergaben sich also folgende Aufgaben:

#### I. Versuchsreihe:

- a) Die Zuckermenge zu bestimmen, die aus rohen zuckerhaltigen Nahrungsmitteln bei verschiedenen Graden der Zerkleinerung in Lösung geht;
- b) Bestimmung der gelösten Zuckermenge nach Kochen der Nahrungsmittel bei im übrigen gleicher Versuchsanordnung.

## II. Versuchsreihe:

- a) Die Zuckermenge zu bestimmen, welche bei verschiedenen Graden der Zerkleinerung nach Einwirkung von Malzdiastase in bestimmter Zeit aus mehlhaltigen rohen Nahrungsmitteln entsteht;
- b) dieselben Versuche bei verschiedenen Graden der Zerkleinerung nach Einwirkung des Kochens.

Als Zerkleinerungsgrade wurden, soweit es anging, wieder gewählt Würfel von 1 cm, von 1 mm und fein zerriebenes Material.

### a. Versuche über die Auslaugung wasserlöslicher Zuckerarten aus rohen und gekochten Vegetabilien bei verschiedener Zerkleinerung.

Zu den Versuchen dienten Äpfel und gelbe Rüben. Die verschieden stark zerkleinerten Proben blieben mit je 50 cm Wasser  $\frac{1}{2}$  Stunde im Brutschrank, die Flüssigkeit wurde rasch filtriert und das Filter so lange nachgewaschen, daß 60 cm Filtrat entstand. Der Zucker der Äpfel wurde als eine Mischung von Dextrose und Lävulose angesehen, die Zuckerbestimmung deshalb durch direkte Reduktion von Fehlingscher Lösung mit dem zuckerhaltigen Auszug vorgenommen. Bei den gelben Rüben wurde ein Versuch auch in dieser Weise angestellt — die spärliche Zuckerausbeute bewies aber, daß der Zucker hier jedenfalls vorwiegend als Rohrzucker vorhanden ist. Es wurde daher in einem zweiten Versuch der Zucker nach der Zollinversionsmethode kunstgerecht invertiert, der Invertzucker zur Kupferreduktion verwendet und das reduzierte Kupfer auf Rohrzucker berechnet. Die Bestimmung des reduzierten Kupfers fand stets nach der jodometrischen Methode statt, welche sich auch hier wieder vorzüglich bewährte. Von den Rüben wurde nur die an Saft und Zucker reiche Aufsenszone verwendet. Die gekocht untersuchten Proben wurden roh zurechtgeschnitten oder zerrieben und dann im Dampftopf gekocht.

Tabelle IV.

Versuchsnummer	Ver- suchs- dauer	Wasser- menge	Gelöster Zucker in Gramm auf 100 g Nahrungsmittel		
			aus großen Würfeln ca. 1 ccm	aus kleinen Würfeln ca. 1 cmm	aus zer- riebenen Material
10 g Apfel (roh)					
Versuch XIV . . .	1/2 h	50 ccm	1,7 g	5,0 g	8,1 g
10 g Apfel (nach der Präparation gekocht)					
Versuch XV . . .	1/2 h	50 ccm	3,5 g	8,9 g	13,2 g
10 g gelbe Rüben (roh). Nur der direkt reduzierende Zucker bestimmt					
Versuch XVI . . .	1/2 h	50 ccm	Spur	Spur	1 g
10 g gelbe Rüben (nach der Präparation 45 Min. in Dampf gekocht). Nur der direkt reduzierende Zucker bestimmt					
Versuch XVII . . .	1/2 h	50 ccm	0,5 g	0,5 g	2 g
10 g gelbe Rüben (roh). Zucker nach der Inversion bestimmt und als Rohrzucker ausgedrückt					
Versuch XVIII . . .	1/2 h	50 ccm	0,63 g	1,71 g	8,2 g
10 g gelbe Rüben (nach der Präparation 60 Min. in Dampf gekocht). Zucker nach der Inversion bestimmt und als Rohrzucker ausgedrückt					
Versuch XIX . . .	1/2 h	50 ccm	1,58 g	6,1 g	9,23 g

Aus der Tabelle ergibt sich, wie erwartet, ein starker Einfluss der Zerkleinerung, und namentlich für die gröberen Partikel ein sehr erheblicher Einfluss des Kochens, bei dem fein zerriebenes Material ist, wie zu erwarten, der Einfluss des Kochens ein geringerer.

**b. Versuche über die Bildung von Zucker aus rohen und gekochten stärkereichen Vegetabilien bei verschiedener Zerkleinerung.**

Die Versuche sind mit jungen italienischen Kartoffeln und mit Maccaroni angestellt. Als Ferment wurde eine einprozentige Diastaselösung verwendet, hergestellt aus frisch von Grübler be-

zogener Diastase. Die Diastaselösung ließen wir 1 Stunde im Brutschrank bei 37° einwirken und unterbrachen dann die weitere Diastasewirkung durch Zusatz von 3 ccm starker Salzsäure; jetzt wurde filtriert und durch Nachwaschen das Filtrat auf 100 gebracht. Von diesen 100 ccm wurden je nach dem zu erwartenden Zuckergehalt kleinere oder gröfsere Proben kunstgerecht mit Fehlingscher Lösung 4 Minuten lang gekocht unter der Annahme, dafs Maltose gebildet sei. Diese Annahme ist natürlich nur annähernd richtig, es schadet dies jedoch nichts, denn wir brauchen ja nur relative Werte.

Tabelle V.

Versuchsnummer	Versuchsdauer	1% Diastaselösung ccm	Gelöster Zucker (Maltose) in Gramm, auf 100 g Nahrungsmittel berechnet		
			aus großen Würfeln ca. 1 ccm	aus kleinen Würfeln ca. 1 cmm	aus zerriebenen Material
10 g Kartoffeln (roh)					
Versuch XX . . . . .	1 h	50	0 g	0,9 g	1,7 g
Kontrollversuch XXa . . . . .	1 h	50	0 g	0,4 g(?)	1,7 0
10 g Kartoffeln (nach der Präparation im Dampftopf gekocht)					
Versuch XXI . . . . .	1 h	50	0,6 g	5,9 g	10,1 g
Kontrollversuch XXIa . . . . .	1 h	50	0,4 g	5,3 g	10,1 g
5 g Maccaroni (lufttrocken, roh)					
Versuch XXII . . . . .	1 h	50	0,6 g	0,9 g	2,4 g
Kontrollversuch XXIIa . . . . .	1 h	50	0,6 g	0,9 g	2,4 g
5 g Maccaroni (lufttrocken präpariert, dann in Dampf gekocht)					
Versuch XXIII . . . . .	1 h	50	1,5 g	5,3 g	17 g
Kontrollversuch XXIIIa . . . . .	1 h	50	1,5 g	5,9 g	15 g

Diese Zahlen zeigen wieder den enormen Einfluss der Zubereitung und Zerkleinerung auf die Raschheit der Verdauung der Speisen. Die Verzuckerung der gekochten Speisen ist etwa fünfmal rascher als die der rohen, die Verzuckerung der fein zerriebenen 5, 10, ja 20mal gröfser als der grob zerkleinerten Speisen. Durch Kochen und feines Zerkleinern kann die Zuckerbildung auf das 30–100fache gesteigert werden.

### Schluss.

Die Arbeit hat in schlagender Weise die Bedeutung der Zerkleinerung für die Lösung und Verdauung von Eiweißkörpern und Kohlehydraten aus unserer Nahrung dargethan. Besonders wichtig erscheint, dass meist zwischen der mittelfeinen (ca. 1 mm) Zerkleinerung und der feinsten Zerreibung noch ein erheblicher Unterschied besteht. In der Mehrzahl der Versuche stellen die Werte der Lösungszahlen von Eiweißkörpern oder Kohlehydraten bei der Zerkleinerung zu ca. 1 mm großen Stückchen ungefähr das Mittel dar zwischen denen, die bei grober Zerkleinerung und feinsten Zerreibung erhalten werden. Es ist also nicht überflüssig oder gleichgültig, dass unsere Zähne, wie Gaudenz gezeigt hat, einen sehr erheblichen Teil der Nahrung außerordentlich fein zerkleinern, und dass gröbere Teile beim Schlucken im Munde zurückbehalten, gewissermaßen abfiltriert werden. Die Bedeutung eines guten Gebisses und einer richtigen Benutzung desselben ist augenfällig und bisher eher unterschätzt als überschätzt. Die Bedeutung des Kochens tritt bei den Vegetabilien sehr stark hervor, weil hier durch Quellen der Stärke zu Kleister einmal die Zellwände gesprengt werden, und weil zweitens die verkleisterte Stärke von den Verdauungssäften viel energischer angegriffen wird als die rohe. Sehr einleuchtend erscheint umgekehrt nach diesen Ergebnissen, dass derbe Kost, die beim Kauen nicht sehr fein zerlegt wird, z. B. grobes Schrotbrot, längere Zeit hindurch im Magen verweilt, da sie langsamer gelöst wird. Eine solche Kost lässt längere Zeit das Gefühl der Sättigung andauern und wird deshalb vielfach in ihrem Nährwert überschätzt.

---

# Über die Wirkung des Einlegens von Fleisch in verschiedene Salze.

Von

Dr. phil. **Kuschel**,

früher Assistent am hygienischen Institut der Universität Berlin.

Eine der ältesten Konservierungsmethoden des Fleisches besteht in dem Einlegen des letzteren in Kochsalzlaken oder in dem Überstreuen mit gepulvertem Kochsalz unter Beigabe von etwas Salpeter.

Das Eindringen dieser Salze in Fleisch ist vor Jahren im hiesigen Institut von Nothwang einer näheren systematischen Untersuchung unterzogen worden. Bei der Untersuchung verschiedener Handelswaren, von Schinken, Corned Beef, Kasseler Rippespeer, hat sich herausgestellt, daß der Kochsalzgehalt der frischen Ware sich zumeist zwischen 1,8—5,9% NaCl bewegt und nur in einem einzigen Falle wurden 8,8% an Salz gefunden.

Äußerst gering war im Verhältnis hierzu der Salpetergehalt, von Spuren bis 0,33%, welche letztere Zahl nur in einem Falle beobachtet wurde.

Aus den systematischen Versuchen über Pökeln, welche namentlich beim einfachen Bestreuen mit Salz sehr hohe Kochsalzwerte schon nach 8tägiger Berührung mit Salz ergaben, zeigte sich, daß im allgemeinen verdünnte Laken in Benutzung genommen werden mußten. Bei dem Salpeter zeigte sich bei verdünnten Laken die Eigentümlichkeit, daß der Salpetergehalt kaum weitere Zunahme mit der Zeit aufwies, sondern bei noch steigendem Kochsalzgehalt sogar zurückging, wodurch sich der

wechselnde Befund an Salpeter in der Handelsware ebensowohl wie aus den ungleichen Zusammensetzungen der Laken erklären dürfte. Die Ergebnisse bewiesen, daß man die Aufnahme an Salpeter mit Schinken und Pökelfleisch sehr überschätzt hat.

In neuerer Zeit sind mehrfach auch andere Salze dem Fleisch, wie man sagt zu Konservierungszwecken, zugesetzt worden. Es hatte daher ein Interesse, zu erfahren, wie sich in vergleichenden Versuchen das Eindringen verschiedener Salze mit Bezug auf das Fleisch verhält. Es war zu erwarten, daß die Salze eine sehr ungleiche Einwanderungsgeschwindigkeit zeigen würden, und der Endeffekt je nach der Natur der Salze ein ungleicher werden würde.

In Vorversuchen, welche von Herrn Geh. Rat Rubner angestellt worden waren, hatte sich eine große Verschiedenheit im Austrocknungsvermögen der Salze für Fleisch ergeben. Die Stufenleiter der Salzwirkung war so, daß bei mittlerer Temperatur des Laboratoriums Borax und Salpeter am wenigsten, etwas mehr Borsäure, am stärksten aber schwefligsaures Natron und Kochsalz wasserentziehend wirkten.

In allen Fällen, außer bei Kochsalz, war Ammoniakentwicklung aufgetreten, die sich im geschlossenen Gefäße auf eingehängtem Curcumapapier geltend gemacht hatte.

Auch die Beschaffenheit der Fleischsorten in Bezug auf ihr Aussehen war verschieden.

Das Borsäurefleisch hatte einen etwas muffigen Geruch, war sehr weich, bräunlich und auf der Schnittfläche hellbraunrot.

Bei dem Boraxfleisch war gleichfalls die Außenseite bräunlich, die Schnittfläche etwas mehr hellrot als im vorigen Fall und ein Geruch nicht wahrnehmbar.

Beim Salpeterfleisch war der Geruch nach Ammoniak direkt wahrnehmbar, die äußere Seite braun, die Schnittfläche rot.

Das Kochsalzfleisch war außen graubraun, innen braunrot.

Das schwefligsaure Natron machte das Fleisch hellrot in allen Teilen; das Fleisch roch dabei auffallend nach Äpfeln.

Bei der Borsäure war wenig Saft in die pulverige Substanz übergetreten. Der Borax war in der Nähe des Fleisches etwas



rötlich, aber es war gleichfalls kein Zerfließen desselben eingetreten.

Beim Salpeterversuch war das Salz zum Teil zerflossen.

Das schweflige Salz war stark mit einer bräunlichroten Flüssigkeit durchsetzt und außerdem zu einem großen Teil verflüssigt.

Bei dem Kochsalzversuch lag das Fleisch in einer braunen Lake; es ließen sich von 150 g Fleisch ca. 24 ccm derselben abgießen.

Die Veränderungen des Fleisches in den Salzen sind demnach, wie schon diese Vorversuche des Herrn Geh. Rats Rubner lehrten, sehr ungleich, und es war daher von Interesse, diese Frage einer weiteren systematischen Untersuchung zu unterziehen.

Man konnte hinsichtlich eines Vergleiches über das Eindringen der Salze einmal von Laken bestimmter Konzentration ausgehen; doch waren es Gründe mehr praktischer Natur, welche es besser erscheinen ließen, die Veränderungen des Fleisches zu studieren, wenn dasselbe in die gepulverten Salze direkt eingelegt wird. In der That wird ja eine solche Salzlagerung zum Teil praktisch geübt; dann aber ist bei dem Einlegen in Salz die kräftigste Wirkung in kürzester Zeit zu erwarten, was die Ausführbarkeit der Versuche erleichtert.

Bezüglich der Wahl der Zeit, während welcher die Salze einwirken sollten, gaben die Versuche von Nothwang auch die nötige Grundlage. Es ist durch dieselben gezeigt worden, daß der Einfluß der Salze in der ersten Woche der größte ist, und später die im Fleisch abgelagerten Salz mengen sich nur langsam ändern.

Die Versuchsanordnung war in allen Fällen folgende:

Es wurden ca. 150 g schwere, vorher gewogene, möglichst kubisch geschnittene Fleischstücke eines des Abends vorher geschlachteten Tieres (Rind) in cylindrischen, mit Kork verschlossenen Glasgefäßen in die betreffende Substanz vollkommen eingebettet und 8 Tage lang in dieser Weise aufbewahrt; und zwar Versuchsreihe 1 und 2 bei Zimmertemperatur (18—20°), 3 und 4

bei Eisschrank- (ca.  $+ 4^{\circ}$ ) und 5 und 6 bei Brutschranktemperatur ( $37^{\circ}$ ). Nach Verlauf dieser 8 Tage wurden die Fleischstücke herausgenommen, durch Abspritzen mit der Spritzflasche von den außen anhaftenden Salz- resp. Borsäureteilen befreit, zwischen Filtrierpapier gut getrocknet und wieder gewogen. Der Gewichtsverlust des Fleisches ist, wie aus anderen Versuchen bei der Pökellung u. s. w. bekannt ist, und wie der unmittelbare Anblick der bei den verschiedenen Salzen entstehenden Laken lehrt, nicht nur Wasserverlust, sondern auch Verlust an Eiweiß und Extraktivstoffen. Ich habe aber darauf verzichtet, auf die nähere Untersuchung der in das anliegende Salz ausgeschiedenen Substanzen einzugehen.

Die Angaben über den Gewichtsverlust beziehen sich auf das ganze zur Anwendung gekommene Fleischstück; ganz offenkundig bestehen aber Unterschiede zwischen Kern- und Rindensubstanz; die Veränderungen der Rindensubstanz sind so große, daß das Fleisch ein völlig fremdes Aussehen gewinnt und für den Kochgebrauch meist nicht in Anwendung gezogen werden dürfte. Das Interesse konzentriert sich demnach auf den Kern der Fleischstücke. Es wurden daher zur Feststellung der aufgenommenen Salzmenge alle äußeren Fleischteile entfernt und nur ein ca. 15 g schweres Mittelstück zur Untersuchung verwendet.

### I. Versuche mit Borsäure. $B(OH)_3$ .

Das Fleisch zeigte nach der Entnahme aus der Borsäure und Abspülen mit Wasser im allgemeinen folgendes Aussehen:

Äußeres hellgrau, trocken; auf dem Durchschnitt war zunächst eine ca. 5 mm breite, der äußeren Rinde entsprechende, schwach schillernde Zone zu erkennen, tiefer innen war das Fleisch hellblafsrot, feucht. Es machte im ganzen den Eindruck eines längere Zeit aufbewahrten, gewöhnlichen rohen Fleisches.

Die bei Brutschranktemperatur aufbewahrten Stücke zeigten insofern einen Unterschied von den vorigen, als sie außen grau aussahen, etwa wie ausgekochtes Fleisch; das Innere war rosafarben. Geruch nicht wahrnehmbar. Das mit dem Fleisch in direkter Berührung gestandene Borsäurepulver war durch

ausgetretene Fleischflüssigkeit etwas grau verfärbt. Die Reaktion des Fleisches war schwach sauer.

Die Borsäure wurde nach dem Jörgensenschen Verfahren bestimmt und die von Beythien und Hempel<sup>1)</sup> gemachten Erfahrungen verwertet. Hierbei will ich bemerken, daß auch ich bei zwei von mir angestellten Kontrollversuchen recht brauchbare Resultate gefunden habe.

Es wurde also, um das Verfahren kurz zu erläutern, das zerkleinerte Mittelstück mit heißem Wasser völlig extrahiert, abfiltriert, das Filter nachgewaschen und das Volumen auf 1 l aufgefüllt. 200 ccm dieses Filtrats wurden mit Natronlauge stark alkalisch gemacht, eingedampft und schließlich im Porzellantiegel gegläht, bis die durch das Auswaschen des Fleisches in das Filtrat mit übergegangenen Extraktivstoffe verascht waren. Die Asche wurde mit Schwefelsäure aufgenommen und die Lösung mit  $\frac{1}{10}$  N. NaOH genau neutralisiert. Nach Zusatz von 25 ccm Glycerin wurde mit  $\frac{1}{10}$  N. NaOH die Borsäure titriert (0,1 Borsäure = 15,9  $\frac{1}{10}$  N. NaOH).

Das Ergebnis der Analysen wird am besten durch folgende Tabelle veranschaulicht:

Tabelle I.

Versuchsreihe	Trockenrückstand des frischen Fleisches in Prozent	a. Gewichtsverlust des Fleisches in $B(OH)_3$ nach 8 Tagen in Prozent bei				b. Gefundene Menge $B(OH)_3$ in Prozent bei				c. Wasserverlust von 100 g frischem Fleisch				d. Gefundene Menge $B(OH)_3$ berechnet auf 100 g frisches Fleisch in Proz. bei				
		Eisenschrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°		Eisenschrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°		Eisenschrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°		Eisenschrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°		
1	23,32	—	3,91	—	—	3,57	—	—	—	7,48	—	—	—	—	3,43	—	—	—
2	22,87	—	5,56	—	—	4,14	—	—	—	9,78	—	—	—	3,91	—	—	—	
3	23,38	2,24	—	16,84	2,68	—	4,98	4,92	—	21,82	2,62	—	—	—	—	—	4,14	
4	24,4	3,72	—	18,66	3,32	—	5,3	7,04	—	23,96	3,19	—	—	—	—	—	4,31	

Zu dieser Tabelle sei, ebenso wie zu den später folgenden, an dieser Stelle ein für allemal bemerkt,

- 1) Zeitschr. f. Unters. d. Nahr.- u. Genusmittel, 1899, 48.
- 2) Unter »Wasserverlust« ist stets der Verlust an Eiweiß- und Extraktivstoffen inbegriffen.

dafs die Rubriken a und b durch die Analyse, die Rubriken c und d rechnerisch aus den Rubriken a und b gefunden wurden. Der Gewichtsverlust (Rubrik a) ist entstanden durch Wasseraustritt und einen geringeren Säure- resp. Salzeintritt. Ist die aufgenommene Salz- resp. Säuremenge bekannt, so ergibt sich durch Addition dieser (Rubrik b) mit dem Gewichtsverlust (Rubrik a) der Wasserverlust. Rubrik d ergibt sich durch Umrechnung der Zahlen der Rubrik a.

Der Grad der Austrocknung durch Borsäure ist demnach bei niedriger Temperatur unbedeutend; erst bei Brutschrank-Temperatur wird er wesentlich höher und beträgt ungefähr  $\frac{1}{4}$  des Gesamtgewichtes des Fleisches. Die Borsäureaufnahme ist im Vergleich zu der geringen Löslichkeit der Borsäure eine erhebliche (100 g Wasser von 5° lösen 2,4 g Borsäure, von 20° 3,99 g). Berücksichtigt man, dafs das Fleisch im Durchschnitt 76% Wasser enthielt, so kann man für die Einwanderung der Borsäure in das Fleisch den Wassergehalt des Fleisches allein nicht für genügend erachten, um die gefundenen Mengen Borsäure in gelöster Form aufzunehmen.

Die auf diese Weise in Borsäure aufbewahrten Fleischstücke sahen, abgesehen von ihrer äufseren etwas grauen Verfärbung, auch nach 2—3tägiger Lagerung an der Luft bei 18° noch nicht ungeniefsbar aus, ebensowenig fiel ihr Geruch unangenehm auf; nur die Oberfläche trocknete etwas stärker ein und wurde runzelig. Später jedoch wurden unangenehmer Geruch und Schimmelpilze wahrnehmbar.

Wenn ein derartiges, ganz und gar mit Borsäure durchsetztes Fleisch sich auf längere Dauer nicht zu halten vermag, so erscheint demnach auch eine Oberflächendesinfektion durch Einreiben von grofsen Fleischstücken mit Borsäure, wie sie Lange als »vielleicht« verwendbar in Betracht zieht, auch nicht in Betracht zu ziehen.

Bei dieser Gelegenheit sei erwähnt, dafs eine Fleischkonservierung mit Borsäure, wie sie hier im kleinen stattgefunden hat, im grofsen zur Anwendung gelangt bei dem aus Amerika nach Deutschland zu importierenden Fleisch. Dasselbe kommt von

da aus in großen Fässern zum Versand, in denen es stückweise übereinander gelagert und stark mit Borsäure überschichtet ist. In solchem amerikanischen Fleisch ist auch thatsächlich schon Borsäure bis über 4% gefunden worden. Dafs der Genuss von Borsäure unter Umständen gesundheitsschädlich ist, hat Rubner festgestellt und ist sie schon aus diesem Grunde als Konservierungsmittel ungeeignet, ganz abgesehen davon, dafs ihre Wirkung als Desinfiziens nur unvollkommen ist.

## II. Versuche mit Borax. ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 10\text{H}_2\text{O}$ ).

Das in Borax bei Eisschrank- und Zimmertemperatur aufbewahrte Fleisch zeigte von dem im Brutschrank aufbewahrten ein gänzlich abweichendes Aussehen.

In den beiden ersteren Fällen war das Äufere blafsgrau, nicht unappetitlich; auf dem Durchschnitt war eine ca. 5 mm breite, dem Äufseren gleich gefärbte Zone zu erkennen. Innen war die Farbe dunkelrot. Konsistenz normal, Geruch eigenartig, aber nicht unangenehm. Der Borax in der Nähe des Fleisches war durch den Fleischsaft schwach rötlich gefärbt.

Die der Brutschrank-Temperatur ausgesetzten Fleischproben dagegen sahen absolut ungeniefsbar aus. Das Äufere war trocken, ziemlich fest und ganz stark grün verfärbt. Der Durchschnitt zeigte diese grüne Zone bis in eine Tiefe von 7—8 mm und dort haarscharf abgegrenzt gegen das dunkelrote, etwas schillernde Innere. Der Geruch war stark laugenhaft und der Borax an der dem Fleischstück zunächst liegenden Schicht durch die ausgetretene Fleischlake ebenfalls grün verfärbt. Reaktion des Fleisches und der Lake in allen Fällen stark alkalisch.

Die Analysen, bei welchen die Borsäure wiederum nach Jürgensen bestimmt wurden, ergab die in die Tabelle eingezeichneten Resultate. Borax ist krystallwasserfrei berechnet.

(Siehe Tabelle II auf S. 141.)

Die in ( ) gesetzten Zahlen, welche der gefundenen Menge  $\text{B}(\text{OH})_3$  entsprechen, wurden auf  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  umgerechnet. Der Borax wird demnach in ähnlichen Gewichtsmengen, wie die Bor-

säure, vom Fleisch aufgenommen, ebenso ist der Gewichtsverlust erst bei Brutschranktemperatur erheblicher. Auffallend ist die Erscheinung, daß die Austrocknung bei Zimmertemperatur geringer war als bei Eisschranktemperatur. Dieselbe Beobachtung wurde, wie später zu ersehen ist, auch bei den Kochsalzversuchen gemacht.

Tabelle II.

Versuchsreihe	Trockenrückstand des frischen Fleisches in Prozent	a. Gewichtsverlust des Fleisches in $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 10\text{H}_2\text{O}$ nach 8 Tagen in Proz. bei			b. Gefundene Menge $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ in Prozent <sup>1)</sup> bei			c. Wasserverlust von 100 g frischem Fleisch			d. Gefund. Menge $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ berechn. auf 100 g frisches Fleisch in Prozent <sup>1)</sup> bei		
		Eisschrank-Temperat. + 4°	Zimmer-Temperat. 18°	Brutschrank-Temperat. 37°	Eisschrank-Temperat. + 4°	Zimmer-Temperat. 18°	Brutschrank-Temperat. 37°	Eisschrank-Temperat. + 4°	Zimmer-Temperat. 18°	Brutschrank-Temperat. 37°	Eisschrank-Temperat. + 4°	Zimmer-Temperat. 18°	Brutschrank-Temperat. 37°
1	23,32	—	4,24	—	—	?	—	—	?	—	—	?	—
2	22,87	—	3,58	—	—	1,75	—	—	5,33	—	—	1,69	—
						(2,16)							
3	23,38	8,86	—	15,73	1,66	—	3,36	10,52	—	19,09	1,51	—	2,75
					(2,08)		(4,12)						
4	24,4	10,08	—	15,06	1,69	—	3,71	11,77	—	18,77	1,51	—	3,45
					(2,14)		(4,55)						

Infolge eines Mißgeschickes konnte in der ersten Versuchsreihe nicht die Borsäure bestimmt werden; es fehlen daher auch die Zahlen der Rubrik c und d. Der  $\text{H}_2\text{O}$ -Verlust bei Zimmertemperatur würde aber vermutlich ebenfalls niedriger als bei Eisschranktemperatur ausgefallen sein, denn der Gewichtsverlust durch Lagerung des Fleisches in Borax betrug in diesem Falle nur 4,24%.

Abgesehen von dem stark grün verfärbten Fleisch, welches man ohne weiteres vom Genuß ausschließen würde, zeigten die andern bei niedrigerer Temperatur aufbewahrten Proben zunächst kein ungenießbares Aussehen. Nach mehrere Tage langem Liegen an der Luft bei ca. 18—20° jedoch machten sich Zersetzungs Vorgänge durch unangenehmen Geruch bemerkbar.

Es leistet demnach Borax als Konservierungsmittel bei dieser Versuchsanordnung wohl mehr als bei der Langeschen mit Hackfleisch, doch dürfte, abgesehen von dem gleichfalls nicht

1) Die in Klammern gesetzten Zahlen entsprechen  $\text{B}(\text{OH})_3$ .

unwesentlichen Borsäuregehalt, die Verwendung eines derartigen Fleisches sehr zweifelhaft erscheinen des laugenhaften, sehr unangenehmen Boraxgeschmackes wegen.

### III. Versuche mit schwefligsaurem Natron. ( $\text{Na}_2\text{SO}_3 + 7\text{H}_2\text{O}$ ).

Die Fleischproben aus dem Eisschrank sahen, ebenso wie die bei Zimmertemperatur aufbewahrten, natürlichem Fleische nicht unähnlich. Die Konsistenz der ersteren war elastisch weich, der letzteren etwas härter, doch bei weitem nicht fest zu nennen. Die Farbe war etwas dunkler als die frischen Fleisches.

Dagegen waren die dem Brutschrank entnommenen Proben knorpelhart, von braunroter Farbe mit weissen Zügen zwischen den Muskelbündeln.

Beim Durchschneiden sah man auf der feuchten Schnittfläche sofort das schwefligsaure Natron auskrystallisieren.

Geruch war in keinem der Fälle wahrnehmbar. Die ausgetretene Lauge sowohl wie das Fleisch reagierte stark alkalisch.

Die Versuchsanordnung zur Bestimmung des schwefligsauren Natrons war hier eine etwas andere als vorher. Es wurden die der Mitte entnommenen, genau gewogenen, durchschnittlich 2 bis 2,5 g schweren Fleischstücke nicht erst mit Wasser extrahiert, sondern in Substanz zur Untersuchung verwendet. Dasselbe erschien aus diesem Grunde schon praktisch, weil dadurch eine teilweise Oxydation des  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  zu  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , wie sie in wässriger Lösung leicht eintritt, vermieden wird.

Das schwefligsaure Salz wurde dadurch bestimmt, dafs die  $\text{SO}_2$ , durch Phosphorsäure freigemacht, im  $\text{CO}_2$ -Strom in Jod-Jodkalilösung überdestilliert und dort als  $\text{BaSO}_4$  gefällt wurde. Das Baryumsulfat wurde auf schwefligsaures Natron umgerechnet. Die Resultate waren folgende. Schwefligsaures Natron ist krystallwasserfrei berechnet.

(Siehe Tabelle III auf S. 143.)

Demnach trocknet das schwefligsaure Natron das Fleisch in sehr hohem Grade aus, so dafs es schliesslich nur noch ca. 50 bis 35 bis 17% seiner Gesamtwassermenge behält. Steigend mit

der Austrocknung ist die Aufnahme an schwefligsaurem Salz; sie steigt von 8,54—21,81% an.

Tabelle III.

Versuchsreihe	Trockenrückstand des frischen Fleisches in Prozent	a. Gewichtsverlust des Fleisches in $\text{Na}_2\text{SO}_3$ + $10 \text{H}_2\text{O}$ nach 8 Tagen in Proz. bei				b. Gefundene Menge $\text{Na}_2\text{SO}_3$ in Prozent bei				c. Wasserverlust von 100 g frischem Fleisch				d. Gefund. Menge $\text{Na}_2\text{SO}_3 + 7 \text{H}_2\text{O}$ berechn. auf 100 g frisches Fleisch in Prozent bei			
		Eisschrank- Temperat. ca. + 4°	Zimmer- Temperat. ca. 18°	Brutschrank- Temperat. 37°	—	Eisschrank- Temperat. ca. + 4°	Zimmer- Temperat. ca. 18°	Brutschrank- Temperat. 37°	—	Eisschrank- Temperat. ca. + 4°	Zimmer- Temperat. ca. 18°	Brutschrank- Temperat. 37°	—	Eisschrank- Temperat. ca. + 4°	Zimmer- Temperat. ca. 18°	Brutschrank- Temperat. 37°	—
1	23,64	—	29,41	—	—	8,7	—	—	38,11	—	—	—	—	6,14	—	—	—
2	24,1	—	29,8	—	—	9,16	—	—	38,96	—	—	—	—	6,14	—	—	—
3	23,28	25,49	—	31,07	5,8	—	15,82	31,29	—	46,89	4,32	—	10,9	—	—	—	—
4	24,4	26,81	—	30,00	5,84	—	16,7	32,65	—	46,7	4,27	—	10,1	—	—	—	—

Kleinere Stücke dieses Fleisches, die längere Zeit an der Luft lagen, trockneten völlig aus, ohne Fäulniserscheinungen zu zeigen und wurden schliesslich so fest, dass sie brüchig wurden. Das Salz kristallisierte an allen Teilen aus.

Ob in diesen Fällen das schweflige saure Natron allein oder im Zusammenhang mit der starken Austrocknung die desinfizierende Wirkung ausübte, lässt sich durch diese Versuche nicht entscheiden.

Noch verdient bei diesen Versuchen hervorgehoben zu werden, dass im Innern eines derartigen Fleisches nach 8tägiger Lagerung an der Luft eine geringe Oxydation der  $\text{SO}_2$  zu  $\text{SO}_3$  stattgefunden haben musste, denn es wurden in den beiden Fällen, die zur Untersuchung herangezogen wurden, nur 95,3 resp. 96,0%  $\text{SO}_2$  wiedergefunden.

#### IV. Versuche mit Salpeter. ( $\text{KNO}_3$ ).

Ein wesentlicher Unterschied im Aussehen der bei Eis- und Zimmertemperatur aufbewahrten Fleischstücke zeigte sich nicht. Die Konsistenz war in beiden Fällen elastisch weich, das Äußere etwas klebrig, von dunkelgrauer Farbe bis zu ca. 1,0 cm Tiefe; weiter innen ging die Farbe in dunkelrot über.

Die bei 37° gelagerten Fleischproben wichen von den vorher erwähnten namentlich in Bezug auf Konsistenz und äußere



Farbe ab. Diese war braun, zum Teil grauschwarz, erstere hart. Auf dem Durchschnitt fiel eine weisse, netzförmige Zeichnung auf, die den Bindegewebszügen entsprach. Der Geruch war eigenartig, aber nicht unangenehm. Die Reaktion alkalisch. Der Salpeter war zum Teil zerflossen.

Die der Mitte entnommenen, ca. 10—15 g schweren Fleischstücke wurden mit Wasser extrahiert, das Volumen gemessen und von einem aliquoten Teil desselben die Salpetersäure nach Kubel-Tiemann bestimmt.

Die Resultate waren folgende:

Tabelle IV.

Versuchsreihe	Trockenrückstand des frischen Fleisches in Prozent	a. Gewichtsverlust resp. Gewichtszunahme <sup>1)</sup> d. Fleisches in KNO <sub>3</sub> nach 8 Tagen in Proz. bei				b. Gefundene Menge Salpeter in Prozent bei		c. Wasserverlust von 100 g frischem Fleisch			d. Gefundene Menge KNO <sub>3</sub> , berechnet auf 100 g frisches Fleisch in Proz. bei		
		Eisenschrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur. ca. 18°	Brutschrank-Temperatur. 37°	Fleischbank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur. ca. 18°	Brutschrank-Temperatur. 37°	Eisenschrank-Temperatur. ca. + 4°	Zimmer-Temperatur. ca. 18°	Brutschrank-Temperatur. 37°	Eisenschrank-Temperatur. ca. + 4°	Zimmer-Temperatur. ca. 18°	Brutschrank-Temperatur. 37°
1	23,32	—	+9,14	—	—	12,35	—	—	3,21	—	—	13,47	—
2	22,87	—	+3,61	—	—	15,55	—	—	11,94	—	—	16,11	—
3	23,38	2,08	—	24,08	9,00	—	22,6	11,08	—	46,68	8,81	—	17,15
4	24,2	+7,37	—	17,09	7,70	—	20,3	0,33	—	37,39	8,26	—	16,89

Die Austrocknung des Fleisches durch Salpeter war demnach bei Eisenschrank- und Zimmertemperatur so gering, daß infolge der Salpeteraufnahme sogar eine Gewichtszunahme des Fleisches zu konstatieren war. Erst bei Brutschranktemperatur verlor das Fleisch über die Hälfte seines Wassergehaltes. Der Salpetergehalt (Rubrik b) ist unter den drei verschiedenen Versuchsbedingungen ein sehr verschiedener; er steigt im Durchschnitt von 8 über 13—21%.

Der Grund hierfür liegt in der wechselnden Wasserabgabe des Fleisches; denn schaltet man diese aus (Rubrik d), so sind die Unterschiede in der Salpeteraufnahme bei Zimmer- und Brutschranktemperatur keine sehr wesentlichen. Sie schwanken nur zwischen 13,5—17,0%.

<sup>1)</sup> Die Fälle, in denen eine Gewichtszunahme stattgefunden hat, haben ein + vor der Zahl.

Dieses salpeterhaltige Fleisch zeigte nach mehrtägigem Liegen an der Luft ebenfalls durch den Geruch wahrnehmbare Fäulniserscheinungen, mit Ausnahme der bei Brutschranktemperatur aufbewahrten Proben, welche ca. 60—70% ihres Wassergehaltes abgegeben hatten. Aus dieser Erscheinung ist der Schluss berechtigt, daß es wohl vor allem die Austrocknung war, welche das Bakterienwachstum zurückhielt.

### V. Versuche mit Kochsalz. (NaCl).

Die Fleischstücke waren nach der Entnahme aus dem Kochsalz im allgemeinen dunkelgrau, stark graugelb, von harter, kaum eindrückbarer Konsistenz. Das Innere des Fleisches war dunkelbraunrot und die Reaktion schwach sauer. Aus dem Fleisch war eine reichliche Menge braunroter Flüssigkeit ausgetreten, die einen Teil des Kochsalzes vollkommen aufgelöst hatte.

Zur Bestimmung des Kochsalzes wurde ein der Mitte entnommenes Stück mit kaltem Wasser extrahiert, das Volumen gemessen und ein aliquoter Teil des Filtrates zur Filtration mit Silbernitratlösung verwendet.

Die gefundenen Zahlen waren folgende:

Tabelle V.

Versuchsreihe	Trockenrückstand des frischen Fleisches in Prozent	a. Gewichtsverlust des Fleisches in NaCl nach 8 Tagen in Prozent bel			b. Gefundene Menge Kochsalz in Prozent bel			c. Wasserverlust von 100 g frischem Fleisch.			d. Gefundene Menge NaCl berechnet auf 100 g frisches Fleisch in Proz. bel		
		Eischrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°	Eischrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°	Eischrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°	Eischrank-Temperatur ca. + 4°	Zimmer-Temperatur ca. 18°	Brutschrank-Temperatur 37°
1	23,32	—	23,68	—	—	16,66	—	—	40,34	—	—	12,71	—
2	22,87	—	30,09	—	—	15,08	—	—	45,17	—	—	10,54	—
3	23,38	38,83	—	37,28	15,38	—	15,52	54,21	—	52,80	9,40	—	9,73
4	24,4	36,86	—	45,85	16,00	—	15,68	52,68	—	61,53	10,1	—	9,25

Es sind demnach in Bezug auf Kochsalzaufnahme unter den verschiedenen Versuchsbedingungen nur geringe Unterschiede. Eine Erklärung hierfür bietet jedenfalls die Eigentümlichkeit des Kochsalzes, daß seine Löslichkeit bei den verschiedensten Temperaturen annähernd gleich bleibt. Die Austrocknung war, wie

bereits an anderer Stelle erwähnt, auffallenderweise bei Zimmertemperatur am geringsten.

Dieses mit Kochsalz stark durchsetzte und stark ausgetrocknete Fleisch hielt sich an der Luft, ohne dafs Fäulnis eintrat. Es trocknete im Laufe der Zeit immer mehr aus, so dafs man kleinere Stücke schliesslich zwischen den Fingern brechen konnte. Es läfst sich annehmen, dafs der Austrocknung auch in diesen Fällen die desinfizierende Kraft des Kochsalzes zuzuschreiben ist.

Zur Entscheidung der Frage, ob eine Konservierung durch Einlegen des Fleisches in die erwähnten Salze in der Praxis Verwendung finden kann, sind zwei Gesichtspunkte ins Auge zu fassen: die Gewichtsverminderung resp. der »Wasserverlust« des Fleisches und der Einflufs der eingewanderten Salzmenge auf den Organismus. Es wird stets der Wunsch des Fabrikanten sein, ein Konservesalz zu besitzen, welches die äufseren Eigenschaften des Fleisches möglichst wenig verändert. Demnach erscheinen die Salze, welche das Fleisch stark austrocknen, ungeeignet, da sie nicht nur die Konsistenz, Farbe und Aussehen des Fleisches unnatürlich machen, sondern auch den Nährwert herabsetzen. Wie schon erwähnt, tritt die Gewichtsverminderung nicht allein durch Wasserverlust ein, sondern auch Eiweifs- und Extraktivstoffe werden gleichzeitig dem Fleische entzogen. Eine Zusammenstellung der Resultate nach dieser Richtung hin aus den fünf vorher angeführten Tabellen ist in folgender Übersicht vorhanden.

Tabelle VI.

Mittlerer Gewichts- und Wasserverlust in abgerundeten Zahlen in Prozent.

Temperatur ca.	Borsäure		Borax		Schweflig- saures Natron		Salpeter		Kochsalz	
	Gewichts- verlust	Wasser- verlust	Gewichts- verlust	Wasser- verlust	Gewichts- verlust	Wasser- verlust	Gewichts- verlust resp. Zunahme	Wasser- verlust	Gewichts- verlust	Wasser- verlust
+ 4°	3	6	9	11	26	32	+ 5	6	38	*54
+ 18°	5	7	4	5	30	39	+ 6	7	27	*43
+ 37°	18	23	15	19	31	*47	20	42	42	*58

Der Gewichts- resp. Wasserverlust ist demnach beim Einlegen des Fleisches in diese Chemikalien außerordentlich verschieden. Borsäure, Borax und Salpeter erscheinen ihres geringen Austrocknungsvermögens wegen nicht ungeeignet, um zum Teil von ihrer, wenn auch nur geringen desinfizierenden Wirkung Gebrauch zu machen. Beim Einlegen des Fleisches in dieselben wandern sie jedoch in einer so erheblichen Menge ein, daß hygienische Bedenken gegen die Genußfähigkeit des Fleisches vorliegen. Aus demselben Grunde und der außerdem stark wasserentziehenden Eigenschaft wegen ist auch das schwefligsaure Natron nicht verwertbar. Das Kochsalz schließlic, welches hygienischerseits nicht zu beanstanden wäre, trocknet das Fleisch aber so stark aus, daß es sich aus diesem Grunde für Konservierung, nur in der bekannten Weise angewendet, eignen dürfte.

Wie bereits erwähnt, ist die wasserentziehende Wirkung der Salze auch von der Temperatur abhängig. Je höher dieselbe ist, um so stärker im allgemeinen ist die Austrocknung. Eine Abweichung von diesem natürlichen Vorgange kann aber bei Zimmertemperatur eintreten. Das Beispiel hierfür bietet der Versuch mit Borax und Kochsalz. In beiden Fällen war der Gewichtsverlust bei 18° geringer als bei 4°. Ganz besonders stark wasserentziehend, auch in der Kälte, waren schwefligsaures Natron und Kochsalz. Bei Borsäure, Borax und Salpeter war die Austrocknung so gering, daß ein Schutz gegen Fäulnis durch sie nicht zu stande kam. Das Salpeterfleisch hatte in der Kälte und bei Zimmertemperatur — mit Ausnahme eines einzigen Falles<sup>1)</sup> — sogar so wenig Wasser abgegeben, daß durch die aufgenommene Salpetermenge eine Gewichtszunahme festgestellt werden konnte.

Die Fälle, in denen ein ganz besonders hartes Fleisch entstanden war, sind mit einem \* bezeichnet. Beim Vergleich dieser Zahlen ergibt sich, daß dort überall ein Wasserverlust von über 40% stattgefunden hatte. Nun könnte es auffallend erscheinen, daß das mit schwefligsaurem Natron behandelte Fleisch bei

---

1) s. Tab. IV S. 144. Versuchsreihe 3.

einem etwas geringeren Wasserverlust (32—39%) noch weiche Konsistenz zeigte. Diese Erscheinung wird aber sofort erklärt, wenn man die dazu gehörigen aufgenommenen Salzmengen in der Tabelle III S. 143 in Berücksichtigung zieht. Das schwefeligsaurer Natron war nur zu 5,82 resp. 8,93%, das Kochsalz dagegen zu 15,69 resp. 15,87% vorhanden.

Die äußere Schicht des Fleisches war jedoch überall stärker verändert als das Fleischinnere; den Austrocknungsgrad hierfür habe ich aber nicht festgestellt. Vermutlich kommt es bei der geringen oder ganz fehlenden Desinfektionswirkung dieser Salze bezüglich des weiteren Verhaltens des Fleisches darauf an, ob man durch Zufall von Haus aus steriles Fleisch in die Hand bekommt oder nicht. Ist ersteres der Fall, so kann möglicherweise die äußere trockenere Schicht einen großen Schutz gegen das Eindringen der Fäulnisbakterien bedeuten; wenn man das Auftreten von Ammoniak aber als ein Zeichen der Veränderung durch Mikroorganismen auffassen darf, so hat es in den meisten Fällen — Kochsalz etwa ausgenommen — an derartiger anormaler Zersetzung nicht gefehlt.

Die Gründe für die Austrocknung liegen, unzweifelhaft, zum Teil in einer Art von osmotischen Vorgängen, dem Austausch von Salz gegen Wasser in dem Fleisch. Aber es spielen doch auch noch andere Momente eine Rolle.

Die Wirkung erhöhter Temperatur auf Fleisch ist im hiesigen Laboratorium zuerst eingehender von Ferrati<sup>1)</sup> einer Untersuchung unterzogen worden. Ferrati konnte darthun, daß alle Fleischsorten schon bei mäßiger Wärme, welche die Brutwärme nicht sehr erheblich überschreitet, mehr oder minder reichlich an Wasser abzugeben im stande sind. Rindfleisch gibt beim Erwärmen auf 45° in einer Stunde an 3,6%, Kalbfleisch bei 50° an 14,8%, Schweinefleisch bei 50° an 8,9% an Flüssigkeit ab. Bekanntlich sieht man sogar zuweilen beim Liegen des Fleisches im Eisschrank kleinere Flüssigkeitsmengen, die vielleicht aus den Blutgefäßen stammen, ausgeschieden. Ich meine aber, es seien

1) Archiv f. Hygiene, XIX, 317.

zwischen dem Experiment bei Kälte und Wärme die Differenzen zum Teil zu groß, um allein durch diese Art von Wasserverlust erklärt zu sein. Ein Verlust an Wasser aus den geschlossenen Gefäßen hat, wie ich mich überzeugt, nicht stattgefunden. Somit müssen andere Veränderungen noch mitgewirkt haben; möglicherweise spielen Gerinnungen gewisser Eiweißkörper eine Rolle, wodurch durch Volumenänderung ein Auspressen von Flüssigkeit zu stande kommt, oder es vermag das anliegende Salz selbst eine große Menge von Wasser in Beschlag zu nehmen und festzuhalten. Somit läßt sich also über die Gründe der verschiedenen Austrocknung ein absoluter Entscheid ohne eingehende Experimente nicht erbringen.

Eine große Bedeutung hat der Grad der Anreicherung an Salzen im Fleisch selbst. Zur Beurteilung kann man entweder von dem direkten Befunde in dem Fleisch selbst ausgehen oder von den für das frische Fleisch berechneten Zahlen. Mit Rücksicht auf die Wichtigkeit, daß manche der hier aufgeführten Salze gesundheitlich nachteilig sind, wird es besser sein, im Sinne der direkten Befunde eine Zusammenstellung durchzuführen. Borax und schwefligsaures Natron sind krystallwasserfrei berechnet.

Tabelle VII.

In 100 Teilen Kernsubstanz wurden gefunden im Mittel Prozent:

	Borax	Borsäure	Schweflig- saures Natron	Salpeter	Kochsalz
ca. + 4°	1,76 (2,16) <sup>1)</sup>	3,00	5,82	8,35	15,69
ca. + 18°	1,67 (2,06)	3,85	8,93	13,95	15,87
+ 37°	3,53 (4,33)	5,14	16,26	21,45	15,45

Die Menge des bei Kälte und Wärme eindringenden Salzes bezw. der Borsäure ist demnach höchst verschieden. Bei Kochsalz nur fehlt jeder Einfluss der Temperatur. Bei den übrigen

1) Die in ( ) gesetzten Zahlen entsprechen  $B(OH)_3$ .

Substanzen aber bewegen sich die Mengen zwischen dem Doppelten und Dreifachen des bei niederer Temperatur eingedrun- genen Salzes.

Diese Salzmengen sind zum Teil ungemein erheblich. Was ihre Wasserlöslichkeit anlangt, so beträgt dieselbe ungefähr:

	0°	20°	40°
Borsäure . . . . .	2,0	4,0	7,0
Borax (H <sub>2</sub> O-frei) . . . . .	1,5	4,0	9,0
Salpeter . . . . .	16,0	26,0	54,0
Schwefligsaures Natron (H <sub>2</sub> O-frei) . . . . .	14,0	26,0	50,0
Kochsalz . . . . .	35,5	35,9	36,6

Berücksichtigt man, dafs Fleisch ca. 76% Wasser enthält, so wären zum Teil ganz bedeutende Konzentrationsverhältnisse vorhanden, bei Borsäure und Borax würde sogar dieser Wassergehalt nicht zur Lösung hinreichen; genau jedoch läfst sich die Konzentration nicht feststellen, da man nicht weifs, wie sich das Wasser zwischen Eiweifs, anderen Salzen und den Eingewanderten verteilt und sich nicht absehen läfst, ob nicht auch einzelne Bestandteile des Fleisches Salz aufnehmen können.

Von der Borsäure speziell sind in der Handelsware, wie bereits erwähnt, auch ähnlich grofse Mengen gefunden worden, die offenbar durch ähnliche Prozeduren wie in diesem Experiment in das Fleisch hinein geraten sein müssen.

## Bakterielles Verhalten der Milch bei Boraxzusatz.

Von

Marinestabsarzt Dr. **Albrecht P. F. Richter**,

Assistent.

(Aus den hygienischen Instituten der Königl. Universität Berlin.)

Auf Veranlassung des Direktors der Hygienischen Institute untersuchte ich das Verhalten der käuflichen Vollmilch bei Zusatz von Borax ( $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 + 10\text{H}_2\text{O}$ ), hauptsächlich bezüglich etwaiger Hemmung des Bakterienwachstums sowie der Gerinnung. Aus den Vorversuchen ergaben sich folgende Daten:

Zusatz von Na, B, O, %	Gerinnung nach Tagen
0	1
0,25	1
0,5	2
1,0	3
2,0	5
3,0	6
4,0	Gerinnung bleibt aus.

Jedenfalls nach dem Alter der Milch sowie der Temperatur des Aufbewahrungsraumes (welche von 15—25° C. wechselte) traten geringe Verschiedenheiten in der Gerinnungszeit auf, welche bei den höheren Boraxzusätzen bis zu einem Tag betragen konnten. Wie aber Lange<sup>1)</sup> schon gefunden hat, gelang es erst bei 4% Boraxzusatz, das Eintreten der Gerinnung auf die Dauer zu verhindern. Bei diesem Zusatz war jedoch der Ge-

1) L. Lange, Beitrag zur Fleischkonservierung etc., Archiv f. Hyg., 1901, Bd. 40, S. 143.



schmack der Milch ein derart widerlicher, daß sie zum Genusse nicht mehr verwertbar erschien. Auch wurden noch 5 ccm dieser Milch auf 100 ccm dünnen Kaffee (20 g Kaffeepulver zu 500 g Wasser) geschmeckt, höhere Zusätze machten den Kaffee völlig ungenießbar.

Bei der Untersuchung des Bakterienwachstums wurde zunächst versucht, mit Ösenimpfung vorzugehen. Es zeigte sich aber, daß bei Ösenimpfung unversetzter geronnener Milch die Verteilung in der Gelatine außerordentlich schwer war; dann aber, daß auch sehr verschiedene Resultate sich ergaben, je nachdem die Öse zufällig mehr Serum oder Gerinnsel faßte. Um auch nicht durch zu kleine Mengen Fehler zu begehen, wurden 20 ccm Milch auf das Tausendfache verdünnt, mit 0,1 ccm dieser Verdünnung wurde dann eine Gelatineplatte gegossen. Da jedoch die geronnene Milch sich nicht genügend in Wasser verteilte, so wurde folgendermaßen verfahren. Je 20 ccm der unversetzten, sowie der Gleichmäßigkeit halber auch der Boraxmilch wurden mit 20 ccm kalter, etwa 10proz. steriler Sodalösung schnell gemischt und geschüttelt, so daß sich das Coagulum löste. Mit sterilem Wasser wurde auf 200 ccm aufgefüllt (I). Von I wurden wieder 20 ccm mit sterilem Wasser auf 200 ccm aufgefüllt (II) und mit 20 ccm von II in derselben Weise verfahren. Die Verteilung der Milch und Bakterien war, wie der Augenschein lehrte und die meist gut übereinstimmenden Bakterienzahlen der fast immer zur Kontrolle doppelt gegossenen Platten bewiesen, eine hinreichend gleichmäßige. Ein wesentlicher Einfluß der etwa 10proz. kalten Sodalösung, welche in dieser Konzentration ja auch nur ganz kurze Zeit, etwa 1—2 Minuten, einwirkte, schien nicht zu bestehen.

Die Versuchsreihen I—VII dienten nur zur Orientierung und zur Feststellung der Untersuchungsmethode; nach diesen kurzen Vorversuchsreihen wurden drei Reihen VIII, IX und X längere Zeit durchgeführt. Die Bakterienzahlen wurden, so lange es zugänglich war, durch Auszählung der ganzen Platte mit der Lupe gewonnen; sonst durch Lupenauszählung einer genügenden Anzahl Quadrate des Wolfhügelschen Zählapparates, schließlich durch Auszählung

von Gesichtsfeldern des Mikroskopes bei schwacher Vergrößerung (Zeitz Obj. III, O.c 1).

Die Milch zu den Versuchen wurde aus dem Milchgeschäft in gut gereinigter Flasche bezogen, je 0,5 l wurden in sterile Kochflasche mit sterilem Wattepfropf gefüllt. »OZ« bleibt ohne Zusatz, »4<sup>o</sup>« wird mit 4<sup>o</sup> Boraxzusatz versehen. Der Borax hatte bei Einstäuben auf Gelatine kein Bakterienwachstum hervorgerufen. Das Plattengießen am ersten Versuchstage geschah unmittelbar nach der Lösung des Borax. Sowohl bei Reihe VIII wie bei Reihe IX und X war die OZ-Milch am zweiten Versuchstage geronnen, während die 4<sup>o</sup>-Milch noch heute (nach 8—9 Monaten) ungeronnen ist. I und II bedeuten hier Platte und Kontrollplatte.

**Reihe VIII.**

Datum	Ver- suchstag	Bakterienzahl bei		Bemerkungen
		OZ	4 <sup>o</sup>	
23. 7. 1901	1	I 2370	I 1020	Bei OZ I ca. 100 Verfl., bei OZ II ca. 50 Bei 4 <sup>o</sup> erscheinen die Kolonien besser entwickelt. Bei 4 <sup>o</sup> I u. II nur wenige Verfl.
		II 2025	II 600	
24. 7. 1901	2	I 7532	I 1248	OZ I 1 Verfl., 23 oid. OZ II 0 Verfl., 22 oid. 4 <sup>o</sup> I 4 Verfl., 0 oid. 4 <sup>o</sup> II 4 Verfl., 1 oid.
		II 7897	II 1553	
26. 7. 1901	4	4706	1144	OZ 91 oid., 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> 80 oid., 0 Verfl.
28. 7. 1901	6	2380	506	OZ 54 oid., 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> 0 oid., 1 Verfl.
29. 7. 1901	7	I 210	I 119	OZ I 24 oid., 0 Verfl. OZ II 27 oid., 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> I 1 oid., 2 Verfl. 4 <sup>o</sup> II 2 oid. 5 Verfl.
		II 200	II 91	
30. 7. 1901	8	I 33	I 233	OZ I 17 oid., 1 Schimmel, 0 Verfl. OZ II 11 oid., 6 Schimmel, 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> I 0 oid., 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> II 3 oid., 0 Verfl.
		II 33	II 188	

**Reihe IX.**

19. 8. 1901	1	I 110	I 156	OZ I 1 Schimmel, 0 oid., 0 Verfl. OZ II keine oid., Verfl. etc. 4 <sup>o</sup> I 1 Verfl. 0 oid. 4 <sup>o</sup> II mehrere confl. Verfl.
		II 82	II 110	
20. 8. 1901	2	I 87 470	I 1 108	OZ I 48 oid., 0 Verfl. OZ II 40 oid. 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> I 1 Verfl., 4 Bct. Zopfii.
		II 95 782	II 1 235	
21. 8. 1901	3	I 49 000	I 743	OZ I 82 oid., 0 Verfl. OZ II 79 oid., 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> I 1 Zopf, 1 Schimmel. 4 <sup>o</sup> II 5 Zopf, 1 oid., 1 Verfl.
		II 49 000	II 770	
22. 8. 1901	4	I 94 162	I 525	OZ I 205 oid., 0 Verfl. OZ II 154 oid., 0 Verfl. 4 <sup>o</sup> I 2 Zopf, 1 Schimmel, 1 oid. 4 <sup>o</sup> II 3 Zopf.
		II 73 537	II 526	

(Fortsetzung von Reihe IX.)

Datum	Ver- suchstag	Bakterienzahl bei		Bemerkungen
		OZ	4 ‰	
24. 8. 1901	5	I 53 662	I 377	OZ I 260 oid., 0 Verfl. OZ II 228 oid., 0 Verfl.
		II 58 725	II 391	4 ‰ I und 4 ‰ II keine Zopf, Verfl. pp.
26. 8. 1901	7	I 25 616	I 310	OZ I 300 oid. OZ II 274 oid.
		II 22 882	II 414	4 ‰ I 1 Schimmel. 4 ‰ II 1 Zopf.
28. 8. 1901	9	3 594	359	OZ 110 oid. 4 ‰ I oid. Rest bei OZ und 4 ‰ fast ausschl. Luftkokken (wie von jetzt ab ständig).
31. 8. 1901	12	I 2 885	I 284	OZ I 28 oid. OZ II 29 oid.
		II 3 766	II 268	4 ‰ I 0 oid., 1 Schimmel. 4 ‰ II 2 oid., 1 Verfl.
2. 9. 1901	14	10 416	I 166	OZ 12 oid.
		—	II 127	4 ‰ I 1 oid. 4 ‰ II —
5. 9. 1901	17	I 1 272	I 280	0 oid., Verfl. etc.
		II 1 369	II 258	
7. 9. 1901	19	4 985	2 869	OZ 7 oid.
10. 9. 1901	22	2 192	6 864	OZ 1 oid., 1 Prot. 4 ‰ I oid., 3 Schimmel.
18. 9. 1901	30	33 699	21 093	OZ 20 oid.

## Reihe X.

30. 9. 1901	1	1 358	1 722	OZ keine oid, 10 Verfl. 1 Zopf. Meist Bact. acid. lactic. Huppe, daneben Bact. acid. lact. Günther. 4 ‰ 0 oid. 5 Verfl. 2 Zopf.
1. 10. 1901	2	I 66 933	I 810	OZ I fast ausschl. Bact. a. l. Huppe. OZ II wie OZ I 3 Verfl.
		II 47 786	II 660	4 ‰ I 0 oid., 6 Verfl. Hauptsachl. Bact. Huppe, 1 Schimmel. 4 ‰ II wie 4 ‰ I 5 Zopf, 3 Verfl.
2. 10. 1901	3	104 623	438	OZ 14 oid., 5 Verfl., 2 Bact. Zopf. Meist Bact. Güntheri, Huppe tritt zurück. 4 ‰ 9 Verfl., 5 Zopf, 1 Schimmel. Meist Bact. Güntheri, wenige Bact. Huppe.
3. 10. 1901	4	82 417	419	OZ 85 oid., 3 Schimmel, 4 Verfl., einige Dutzend Huppe, Rest Günther. 4 ‰ ca. 1 Dutzend Verfl. (conf.), 1 Schimmel, Rest meist Günther.
4. 10. 1901	5	55 957	333	OZ 218 oid., 0 Verfl., meist Günther. 4 ‰ 23 verfl.
5. 10. 1901	6	74 452	I 132	OZ 883 oid., ca. 400 Huppe, Rest meist Günther.
		—	II 143	4 ‰ I 30 verfl. 4 ‰ II 7 oid., 7 Schimmel, 6 Verfl.
6. 10. 1901	7	I 54 574	I 146	OZ I 585 oid., Hauptteil Günther, ca. 1/10 Huppe.
			II 113	4 ‰ I 8 Verfl., Rest meist Kokken. 4 ‰ II 1 oid., einige Verfl., Rest meist Kokken.

(Fortsetzung von Reihe X.)

Datum	Ver- suchstag	Bakterienzahl bei		Bemerkungen
		OZ	4 %	
7.10.1901	8	I 39 757	I 152	OZ I und II ca. 600 oid., je 1 Verfl., haupt- sächlich Günther.
		II 25 852	II 100	
8.10.1901	9	I 14 512	I 73	4% I 43 Schimmel, 2 Prot., 4 Zopf, 6 oid., meist Kokken. 4% II 2 Verfl., 0 oid., meist Kokken.
		II 12 283	II s. Bem.	
10.10.1901	11	I 5 589	60	OZ I 497 oid., ansch. sonst nur Günther. OZ II ähnlich.
		II 5 224	—	
11.10.1901	12	I 3 389	46	1% fast nur gelbl. Kokken. OZ I 460 oid., OZ II 355 oid.
		II 3 826	38	
12.10.1901	13	I 1 304	28	4% I und II wie oben. OZ I 369 oid., sonst meist Luftkokken. OZ II 344 oid., sonst meist Luftkokken.
		II 1 736	39	
13.10.1901	14	I 2 093	I 46	4% I und II Kokken. OZ I 345 oid. OZ II 293 oid., sonst meist Kokken.
		II 1 106	II 59	
14.10.1901	15	I 1 912	I 33	OZ I 353 oid. OZ II 312 oid., sonst w. o.
		II 1 040	II 39	
16.10.1901	17	I 822	I 26	4% wie oben. OZ I 243 oid. OZ II 241 oid., sonst w. o.
		II 775	II 40	
17.10.1901	18	I 531	I 27	OZ I 203 oid. OZ II 184 oid., sonst w. o.
		II 561	II 33	
19.10.1901	20	I 412	I 22	4% wie oben. OZ I 69 oid. OZ II 67 oid., sonst w. o.
		II 421	II 36	
21.10.1901	22	I 379	I 30	4% I 1 Schimmel. 4% II 2 Schimmel, s. w. o.
		II 371	II 53	

Schon in Vorversuchen wurde festgestellt, daß die schließ-  
lich übrig bleibenden Kokken fast ausschließlich zu der gewöhnlich  
Luftkokken genannten Gruppe gehören. Wenn auch eine ganze  
Reihe von Arten aufgefunden werden kann (so wurden z. B.  
aus einer Platte einmal 14 verschiedene Arten, gefärbte und un-  
gefärbte, häutchenförmig wachsende und mäsig verflüssigende etc.  
isoliert), so stellt doch das Hauptkontingent der micr. candidans  
Flügge.

### Schlussfolgerungen.

1. Die Entwicklung der Bakterien in Milch scheint bei ganz kurzer Einwirkung von Borax angeregt zu werden. Vielleicht ist aber die Ursache der erhöhten Bakterienzahlen nur der Umstand, daß durch den Boraxzusatz die Verteilung der Bakterienhäufchen erleichtert wird.
2. Das Wachstum des *Oidium lactis* wird durch Boraxzusatz erheblich gehemmt.
3. Ebenso das Wachstum des *Bact. acidi lactici* Hueppe und *Bact. acidi lactici* Günther.
4. Verflüssigende und andere Bakterien der Fäulnis (*B. fluoresc. liq.*, Proteusarten, *B. Zopfi*) werden nicht durch Boraxzusatz gehemmt, gehen aber später von selbst zu Grunde.
5. In den ersten Tagen bilden die Hauptzahl der Bakterien (besonders bei der unversetzten Milch) die Hueppeschen Milchsäurebakterien, sie werden später von den Güntherschen abgelöst.
6. Die größte Kolonienzahl findet sich am 2.—3. Tage, am 6.—11. Tage tritt sowohl bei der unversetzten wie bei der Boraxmilch ein erhebliches Absinken der Kolonienzahl ein.
7. Die schließlich restierenden Bakterien waren fast ausschließlich Luftkokken, hauptsächlich *micrococc. candicans* Flügge.

# Über die Verfahren und Apparate zur Entwicklung von Formaldehyd für die Zwecke der Wohnungsdesinfektion.

Von

**Dr. Eugen Mayer** und **Dr. Heinrich Wolpert**

Stabsarzt  
früher Assistent am Institut.

Privatdozent  
Oberassistent am Institut

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Das Bestreben, in der Wohnungsdesinfektion gasförmige Mittel anzuwenden, ist zwar schon ein sehr altes, allein sämtliche bis vor wenigen Jahren gebräuchliche und empfohlene Desinfizientien dieser Art hielten einer strengen experimentellen Prüfung nicht stand. Erst mit Einführung des Formalins wurde hierin Wandel geschaffen. Der bedeutsame Vorzug der gasförmigen Desinfektionsmittel gipfelt in erster Linie darin, daß sie von selbst ohne weiteres Zutun des Desinfektors den Raum nach allen Richtungen durchdringen und auch den Luftraum mit desinfizieren, Vorteile, die bei allen andern Desinfektionsweisen fortfallen.

Die Formaldehyd-Litteratur ist seit ungefähr zehn Jahren derart angewachsen und die Zahl der angegebenen Verfahren und Apparate eine so überaus große geworden, daß es kaum möglich wäre, auf alles einzugehen. Die meisten Apparate sind recht kompliziert gebaut; das ist aber für diesen Zweck gar nicht nötig, und man kann, wenn man die eigenartige Wirkung der Formaldehyddämpfe berücksichtigt, mit sehr einfachen Vorrichtungen

auskommen. Eine ausführliche Übersicht über die in der Literatur bekannt gewordenen Verfahren und Apparate zur Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd haben in neuerer Zeit Reischauer<sup>1)</sup> und Hefs<sup>2)</sup> veröffentlicht, zugleich mit kurzen kritischen Beurteilungen der einzelnen Methoden, so daß wir hier auf die früheren, größtenteils unvollkommenen und daher verlassenen Anwendungsweisen, wie die älteren Formaldehydlampen etc., nicht zurückzukommen nötig haben und auf obige Arbeiten verweisen können.

Sämtliche Apparate, die noch heute eine größere Verbreitung besitzen, beruhen auf einem der folgenden drei Prinzipien: entweder wird der Formaldehyd durch Vergasen oder durch Versprayen oder durch Verdampfen entwickelt. Was die Apparate ersterer Art betrifft, welche Formalinpastillen, das ist den unter dem Namen Paraformaldehyd oder Trioxymethylen bekannten polymeren Körper zur Vergasung bringen, so hatten zunächst die von der Firma Schering angegebenen Vorrichtungen (Askulap und Hygica) in Deutschland allgemeine Verbreitung gefunden. Auch die in neuerer Zeit bekannt gewordenen sogen. Carboformal-Glühblocks von Krell-Elb gehören unter diese Gruppe.

Daß bei der ursprünglichen Anwendung der Scheringschen Apparate auch ohne gleichzeitige Wasserverdampfung die Wirkung eine gute sein kann, steht fest; ebenso ist es aber auch sicher, daß unter andern Bedingungen der Erfolg ausbleibt. Im Gegensatz zu der früher von einigen Autoren ausgesprochenen Ansicht, daß die Wirkung des Formaldehyds mit dem Grade der Trockenheit der Luft wachse, brachten Rubner und Peerenboom<sup>3)</sup> durch ihre Versuche den exakten Nachweis, daß bei im übrigen gleichen Bedingungen der trockene Formaldehyd

1) A. Reischauer, Vergleichende Untersuchungen über die Brauchbarkeit verschiedener Verfahren zur Ausführung der Wohnungsdesinfektion mit Formaldehyd. Hygien. Rundschau, 1901. Nr. 12 u. 13.

2) O. Hefs, Der Formaldehyd. Marburg, Elwert, 1901.

3) Rubner und Peerenboom, Beiträge zur Theorie und Praxis der Formaldehyd-Desinfektion. Hygien. Rundschau, 1899, Nr. 6.

keine Desinfektionskraft besitzt, während bei Befenchung der Luft alle Testobjekte abgetötet waren. Die widersprechenden Angaben der früheren Beobachter sind darauf zurückzuführen, daß in dem einen Falle die äußeren Bedingungen zufällig günstige waren (hohe Feuchtigkeit, hohe Temperatur), in dem andern aber nicht. Letzteres zeigte sich auch bei einigen Versuchen, die wir bei mittlerer Feuchtigkeit und Temperatur nach diesem Verfahren anstellten (s. General-Tabelle Abt. I Nr. 1—3, folgt unten am Schluß unserer zweiten Abhandlung). Alle 16 Testobjekte blieben demnach unversehrt bei Anwendung von 330 g Paraform, die in zwei Äskulapapparaten in dem zu allen Versuchen benutzten Zimmer von 108,8 cbm ohne Rückstand vergast wurden, obwohl zudem bei dieser Versuchsreihe das Zimmer leer war. Durch eine gleichzeitige oder vorhergehende künstliche Wasserverdampfung läßt sich diesem Übelstand abhelfen, sei es nun, daß man das Wasser gesondert oder mit Hilfe des neuerdings von Schering in den Handel gebrachten »kombinierten Äskulaps« verdampft. Wir verkennen nicht, daß die Anwendung der sogen. Formalinpastillen in manchen Fällen von wesentlichem Vorteil ist, insbesondere da, wo Transportschwierigkeiten in Frage kommen. So kann es z. B. von Vorteil sein, die Sanitätsformationen im Felde mit Formalinpastillen auszustatten oder Pastillen statt der Lösung in kleinere Ortschaften oder Gehöfte zu senden, da der Transport der wasserfreien Substanz wegen des geringeren Gewichts billiger und die Verpackung bequemer und sicherer ist. Aber ebenso wird man nicht bestreiten können, daß in sehr vielen Fällen die Verwendung der Lösung vorzuziehen ist, da nämlich, wo vorstehende Bedenken nicht in Betracht kommen. Für gewöhnlich ist die Verwendung der Lösung billiger und auch insofern rationell, als man genötigt ist, dabei mindestens eine gewisse, zuweilen schon ausreichende Wassermenge mit zur Verdampfung zu bringen. Wir gaben daher für unsere Laboratoriumsversuche im allgemeinen dem flüssigen Formalin den Vorzug.

Was von den Formalinpastillen gesagt ist, gilt ebenso von den Carboformal-Glühblocks, die ja im wesentlichen nichts an-



deres als grofse (50 g schwere), in Stanniol eingehüllte und in einen Kohlenmantel eingesenkte Pastillen sind. Man kann dabei das Bedenken nicht von der Hand weisen, dafs bei mangelhaftem Stanniolbelag das Paraform zuweilen Feuer fängt und somit die Wirkung des verbrannten Anteils verloren geht, wie wir dies zu wiederholten Malen zu beobachten Gelegenheit hatten. Ebenso halten wir nicht für ausgeschlossen, dafs auch für Schering's Vorrichtungen, falls unversehens die Flamme zu hoch brennt, das Drahtnetz ins Glühen kommt und hierdurch die Pastillendämpfe ebenfalls Feuer fangen, das dann auf die Pastillen selbst übergreift; Beobachtungen hierüber liegen uns allerdings nicht vor. Die Firma Schering gibt aber bestimmte Vorschriften für eine maximale überstehende Dochtlänge.

Alter als die Anwendung der Pastillen ist die Verdampfung der wässerigen Lösung. Der erste, welcher letzteres Verfahren anwandte und damit überhaupt die Formaldehyddesinfektion in Aufnahme brachte, war Trillat, nachdem er für denselben Zweck schon 1891 Formaldehyd aus Methylalkohol dargestellt und zu Desinfektionszwecken angewendet hatte<sup>1)</sup>, wozu er sich eines mit zahlreichen, kranzförmig angeordneten Ausströmöffnungen versehenen Autoklaven bediente. Später modifizierte er den Apparat dahin, dafs nur eine einzige durch das Schlüsseloch von aufsen her einzuführende Dampfabströmungsröhre benutzt und gleichzeitig statt des Methylalkohols die wässerige Lösung des Formaldehyds angewandt wurde, zu welcher er Chlorcalcium oder ein anderes hygroskopisches Salz zusetzte. Wesentlich einfacher ist das Verdampfungsverfahren nach Flügge. In seiner Schrift: »Die Desinfektion durch Formaldehyd auf Grund praktischer Erfahrungen«, die im Oktober 1900 erschien, beschreibt Flügge seinen Apparat so ausführlich, dafs derselbe, wie er selbst meint, danach von jedem Klempner hergestellt werden könne. Der Apparat besteht im wesentlichen aus einem

1) A. Trillat, *Propriétés antiseptiques du formol (ou aldéhyde formique)*. Comptes rendus, 1894, II, p. 563.

— *Revue d'Hygiène*, 1895, S. 716.

— et Roux, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1896, S. 283.

Kupferkessel von ungefähr 35 cm Durchmesser, dessen hart aufgelöteter Deckel in der Mitte eine Abströmungsrohre mit einer lichten Weite von nur  $\frac{1}{2}$  cm trägt. In diesen Kessel, der von einem Eisenblechmantel getragen wird, füllt man Formalin nebst Wasser ein; die Verdampfung der Flüssigkeit geschieht durch einen sehr großen Spiritusbrenner mit Luftzuführung durch etwa 20, in konzentrischen Kreisen angeordnete Röhren.

Hiervon unterscheidet sich das sogen. »Strafsburger« Verfahren<sup>1)</sup> nur dadurch, daß dabei keine Wasserzugabe zum Formalin erfolgt, das Wasser vielmehr gesondert schon vorher verdampft wird.

Bei jedem derartigen Verfahren muß das Bestreben dahin gerichtet sein, in kurzer Zeit möglichst viel Formaldehyd zu entwickeln, um eine möglichst hohe Konzentration der desinfizierenden Dämpfe im Raume zu erzielen. Springfeld<sup>2)</sup> sucht dies dadurch zu erreichen, daß er als Heizkörper an Stelle der offenen Flamme glühend gemachte Metallketten (Springfelds Formalinketten) verwendet, die in einen Eimer mit Formalinlösung geworfen werden. Für einen besonderen Vorteil seines Verfahrens hält er auch den Umstand, daß dabei angeblich jede Feuergefährlichkeit ausgeschlossen sei. Ob letzteres wirklich in allen Fällen zutrifft, darf zweifelhaft erscheinen, da Hellmann<sup>3)</sup> es für notwendig erachtet, die Formalinverdampfung mittels Ketten nur in einem geschlossenen Gefäß vorzunehmen; er sah, daß »beim Einlegen der rotglühend gemachten Formalinkette in ein offenes Gefäß das Formalin sich entzündete und mit heller Flamme emporloderte.« Ähnlich, jedoch ohne Feuergefahr, ist das bereits vor dem Springfeldschen bekannt gewordene und patentierte Formalin-Kalk-Verfahren Schörings. Dabei wird Atzkalk mit Formalin in bestimmten Verhältnissen übergossen und die beim Löschen des Kalks frei werdende Wärme als Heiz-

1) Veröffentlichungen des Kaiserlichen Gesundheitsamts von 1900, Abteilung: »Gesetzgebung u. s. w.«, S. unter Elsass-Lothringen.

2) Springfeld, Die Desinfektion der Wohnungen durch Formaldehyd. Zeitschrift für Polizei- und Verwaltungsbeamte. IX. Jahrg., Nr. 6.

3) R. Hellmann, Neueste Verbesserungen der Desinfektion von Wohnungen bei ansteckenden Krankheiten mittels Formaldehyd. Medico, 1901, Nr. 39.

quelle benutzt. Dies Verfahren hat ebenfalls den Vorzug einer raschen Gas- und Dampfentwicklung, indessen soll dabei nach Flügge (S. 11 a. a. O.) ein Teil des Formaldehyds zerstört werden.

Eine andere Reihe von Apparaten setzt sich zum Ziel, um jeden Preis eine Paraformbildung zu verhüten. Unseres Erachtens geht man hierin vielfach zu weit, denn die Paraformbildung kann doch nur dann das Desinfektionsmittel beeinträchtigen, wenn nach der Desinfektion ein Rückstand von Paraform vorhanden ist; gleichgültig aber muß es sein, ob Formalin als solches oder als Paraform verdampft, aber freilich muß unter allen Umständen die Heizquelle mindestens so lange ausreichen, bis auch die letzten Spuren des Desinfektionsmittels verdampft bzw. vergast sind.

Die chemische Fabrik Seelze (Hannover) sucht die Paraformbildung in der Weise zu verhindern, daß sie den Formalinbehälter von dem Wasserbehälter trennt und ersteren in letzteren einlagert; direkt durch die Flamme erhitzt wird der Wasserbehälter, und die Einrichtung ist so getroffen, daß die heißen Wasserdämpfe durch das heiße aber nicht kochende Formalin hindurchstreichen und sich so mit Formaldehyd sättigen. Nach demselben Prinzip sind auch ein weiterer patentierter Apparat von Schering<sup>1)</sup> und einige andere gebaut.

Eine dritte Reihe von Apparaten bedient sich des Prinzips der Verspraying. Bereits beim Lingnerschen Apparat kam dasselbe zur Anwendung, allerdings kombiniert mit Zuthaten, welche die eigentümliche Wirkung der Verspraying nicht klar zu Tage treten ließen; es ließ sich schwer entscheiden, ob im einzelnen Fall das gute oder schlechte Resultat der Desinfektion dem Sprayverfahren oder dem Glycerinzusatz zuzuschreiben war. Späterhin hat sich letzterer als unwesentlich und in praktischer Hinsicht unzweckmäßig erwiesen und darf wohl als verlassen gelten. Rein wässrige Lösungen von Formaldehyd benutzten zur Verspraying Czaplowski und Prausnitz. Sie bedienten sich dazu der üblichen Sprayapparate, die allerdings etwas modifiziert und in größeren Abmessungen ausgeführt waren. Das

1) Patentschrift.

Sprayprinzip hat entschieden den Vorteil, daß große Mengen Formalin in kürzester Zeit zur Verdampfung gebracht werden können und daß dabei eine Wasserverdampfung in größeren, zuweilen vielleicht zu großen Mengen ohne weiteres erfolgt.

Alles in allem genommen, dürfte sich in den meisten Fällen die Verdampfung aus wässrigen Lösungen den übrigen Verfahren überlegen erweisen und die meiste Anwendung verdienen. Die Form des Apparates ist dabei ziemlich gleichgültig, sofern nur das Anbrennen der Formaldehyddämpfe vermieden wird und die ganze berechnete Formalinmenge zur Verdampfung kommt. Diejenigen Apparate werden im allgemeinen die meiste Empfehlung verdienen, welche so einfach sind, daß sie sich womöglich leicht improvisieren lassen. Wir benutzten für unsere Versuche zunächst einfache Emailletöpfe, die mit Formalin unter Zugabe von Wasser gefüllt und mit Spiritusvergasungsbrennern geheizt wurden. Dabei zeigte sich der Übelstand, daß mitunter die Flamme so hoch schlug, daß die Formaldehyddämpfe Feuer fingen, welches auf den Inhalt des Topfes übergriff und den Rest des Formalins zu Kohlensäure und Wasser oxydierte, somit unwirksam machte. Diese Beobachtung führte uns nach verschiedenen fehlgeschlagenen Versuchen, z. B. das Hochschlagen der Flamme durch ein Drahtnetz zu verhindern, dazu, die Töpfe mit einem Aufsatz zu versehen. Derselbe besteht aus einem Trichter von Weißblech, dessen weitere Öffnung in den Topf eingepaßt wurde, sodafs die Formaldehyddämpfe nur nach oben durch die Röhre entweichen konnten (vgl. Fig. 1). Unsere Emailletöpfe hatten eine Weite von 16—17 cm, eine Tiefe von  $8\frac{1}{2}$  cm und waren oben mit einem 17 cm langen Handgriff versehen; die Aufsätze tauchten 5 cm tief in die Töpfe ein, ruhten auf deren Mündung mit einem Falz auf und überragten sie zunächst cylindrisch in derselben Weite um 5 cm, um sich dann konisch nach oben zu verjüngen (8 cm) und in einen  $6\frac{1}{2}$  cm weiten und  $4\frac{1}{2}$  cm hohen Cylinder überzugehen. Die Öffnung, durch welche die Dämpfe entwichen, befand sich also  $17\frac{1}{2}$  cm über der Mündung des Topfes bzw.  $24\frac{1}{2}$  cm über der Spiritusflamme. Der Brenner soll so gewählt werden, daß die Flamme

nicht blofs die Mitte der Bodenfläche des Topfes berührt, sondern auf dieselbe auch peripher direkt einwirkt; die Flamme soll jedoch auch nicht darüber emporschlagen, keinesfalls auf den konischen Teil des Aufsatzes übergreifen.

Man könnte denken, durch diesen Aufsatz würde die Verdampfung verzögert; wenn derselbe gar zu hoch gewählt wird, so ist dies infolge Rücklaufs von Condenswasser auch der Fall; bei unseren Abmessungen jedoch bleibt das obere Ende heifs,



Fig. 1.

und die Verdampfung wird im Gegenteil beschleunigt, da nicht wie im offenen Topf Doppelströmungen entstehen, welche die Flüssigkeit abkühlen. Durch die Verengung der Ausströmöffnung werden die aufsteigenden Dämpfe eingengt, so daß für den Gegenstrom der Luft kein Platz mehr bleibt.

Die Emaillierung des Topfes ist kein Erfordernis, im Gegenteil; der Topf muß aber aus einem Stück bestehen oder hart gelötet sein. Weit besser als die von uns nur der größeren Wohlfeilheit halber benutzten Emailletöpfe sind Töpfe aus einem Stück Kupfer. Denn selbstverständlich leiden die Emailletöpfe, wenn sie am Schluß der Versuche leer über der Flamme stehen, durch Abspringen der Emaille und werden schließlich schadhaf, rosten durch. Im Verlauf der Versuche, doch erst nach etwa 50 Versuchen mußten daher die Emailletöpfe, welche übrigens

nur ungefähr 50 Pfennige das Stück kosteten, durch neue ersetzt werden, ein Mifsstand, welcher sich durch Verwendung kleiner kupferner Kessel vollkommen hätte vermeiden lassen.

Unser Apparat wurde zunächst nur mit Wasser beschickt, alsdann zündeten wir die Brenner an und warteten ab, bis das Wasser lebhaft kochte, und gaben erst dann die entsprechende Menge Formalin hinzu; wir rechneten den Beginn der Desinfektion von dem Zeitpunkte des Kochens der Formalinlösung. Durch ein kleines Guckfensterchen in der Thür beobachteten wir die weiteren Vorgänge und konnten von da aus auch Thermometer und Hygrometer, die in Kopfhöhe im Versuchsraum angebracht waren, ablesen. In einzelnen Versuchen wurden außerdem ein Registriertermometer und ein ebensolches Hygrometer an der Decke, in anderen Versuchen am Fußboden angebracht, um die Verteilung von Temperatur und Feuchtigkeit genauer erkennen zu lassen. Wir gaben aus dem Grunde das Formalin erst zum kochenden Wasser hinzu, um ein möglichst rasches Verdampfen des Formalins und damit in thunlichst kurzer Zeit eine hohe Concentration der Formaldehyddämpfe in der Luft zu erreichen. Ein weiteres Mittel, eine rasche Verdampfung zu erzielen, bestand in der Verteilung der zu verdampfenden Flüssigkeiten auf mehrere, in unsern Versuchen vier Apparate. Hierdurch war gleichzeitig eine bessere Verteilung des Formaldehyds im Raume gewährleistet, als wenn wir nur einen oder zwei Apparate verwendet hätten.

Wir kommen nun auf einen Vergleich der verschiedenen Wirkungen unseres und des Flüggesehen Apparates zu sprechen. Letzterer kann sowohl aufserhalb als innerhalb des zu desinfizierenden Raumes aufgestellt werden, unserer nur innerhalb. Zweifellos bietet die Möglichkeit, den Apparat auch aufserhalb aufzustellen, unter Umständen gewisse Vorteile. So kann es erwünscht sein, bei einigen Infektionskrankheiten, z. B. Flecktyphus, Pocken, Pest u. s. w., einen Raum überhaupt vor geschעהer Desinfektion nicht mehr betreten zu müssen; außerdem kann die Aufstellung des Apparates in einem reichlich ausgestatteten Zimmer räumliche Schwierigkeiten bieten und auch eventuell

eine Feuersgefahr in sich schliessen, zumal wenn eine Beobachtung der Flamme von aussen, etwa durch Fenster oder Schlüsseloch, nicht möglich ist. Endlich kann in den Fällen, wo in einem Hause mehrere Räume zu desinfizieren sind oder wegen einer grösseren Epidemie Mangel an Apparaten ist, der Apparat sofort nach der Verdampfung wieder anderweitig verwendet werden, während bei Aufstellung innerhalb des Zimmers das Ende der Desinfektionsdauer abgewartet werden muss, worüber mindestens einige Stunden verstreichen. Dem steht jedoch unter normalen Verhältnissen der gewichtige Nachteil entgegen, dass bei der Verdampfung ausserhalb durch Undichtigkeiten des Apparates ein Verlust an Formalin leicht eintritt, der die Desinfektionswirkung vermindern, eventuell in Frage stellen kann. Eine solche Undichtigkeit bestand z. B. bei dem von uns verwendeten Flüggescher Originalapparat, dessen Einfüllstutzen stets Formalindämpfe durchliess, die zum mindesten den Aufenthalt in der Nähe unangenehm machten, wenn der Verlust vielleicht auch die Wirkung nicht wesentlich beeinträchtigt haben mochte; bei innerer Aufstellung des Apparates schadet diese Undichtigkeit nichts. Aber die Verwendung eines so grossen Apparates mit seinem grossen Spiritusbassin bedingt eine grössere Feuersgefahr als die Aufstellung mehrerer kleiner Apparate, bei denen die Flamme nie so hoch schlägt und auch weniger Umfang hat. Wir sahen mehrfach beim Flüggeschen Apparat, dass gegen Ende der Verdampfung infolge der stärkeren Erhitzung des Kupferkessels der noch übrige Spiritus eine meterhohe Flamme bildete, die ringsum den Kessel in die Höhe schlug. Jedenfalls müsste man diese Möglichkeit kennen, besonders in den Fällen, wo gleichzeitig gemäss Instruktion Betten, Kleider etc. im Zimmer zur Desinfektion aufgehängt werden, um durch Freilassen eines genügenden Zwischenraumes um und über dem Apparat die Gefahr zu vermeiden. Was nun die Wirkung der beiden Apparate betrifft, so zeigte sich dieselbe unter gleichen Versuchsbedingungen ziemlich gleichwertig; es ist auch kein Grund einzusehen, weshalb unsere Einrichtung schlechter wirken sollte. Denn einmal erfolgt die Verdampfung mit Hilfe der vier Apparate, die durch kleinere

Brenner angeheizt werden, ebenso rasch wie mit dem einen großen Apparat und großen Brenner, so daß also die Konzentration des Formaldehyds im Raume in beiden Fällen die gleiche war; durch weitere Vermehrung der Kocheinrichtungen läßt sich die Concentration sogar noch steigern. Gleichzeitig muß auch die Verteilung eine bessere sein, wenn man vier Apparate an verschiedenen Stellen verwendet als nur einen, und zweitens vielleicht bei unserem Apparat auch wegen der verschiedenen Weite der Dampfabströmungsröhren besser als bei dem Flüßgeschen. Denn bei letzterem ist wohl mit Rücksicht auf die Durchführungsmöglichkeit durch das Schlüsselloch jene Abströmrohre so sehr eng gewählt; der Nachteil, der hieraus erwachsen kann, besteht darin, daß der Dampfstrahl mit großer Vehemenz seine Bewegungsrichtung auf große Entfernung beibehält. Bei äußerer Aufstellung des Apparats dürfte infolgedessen die Thürseite nebst den beiden angrenzenden Wänden etwas schlechter wegkommen als die gegenüberliegende nicht allzuweit entfernte Wand, gegen welche einerseits der Dampfstrahl anprallt, welche aber andererseits hinwiederum meist dadurch eine Einbuse an Formaldehyd schafft, daß es sich um die vorzugsweise lüftende Fensterwand handelt. Immerhin erfolgt hierbei der eventuelle Anprall günstigerweise im unteren Teil des Zimmers, anders bei innerer Aufstellung des Apparats. Dann wird das Formaldehyd mit noch größerer Gewalt an die Decke geschleudert, an der Anprallstelle teilweise absorbiert und breitet sich dann über die ganze Decke hin aus, um schrittweise in abnehmender Concentration an den Wänden nach unten zu sinken. Ein Nachteil gegenüber unserem Apparat würde hierbei darin bestehen, daß die Decke durch den scharfen Anprall des Formaldehyds zu viel von dem Desinfektionsmittel absorbierte. Bei Anwendung unseres wie übrigens aller derartigen Apparate ist zwar ebenfalls die Wirkung in der oberen Zimmerhälfte intensiver als unten; aber da infolge der weiten Ausströmrohre kein Einpressen in die Fugen und Poren der Decke erfolgt, ist ein geringerer Verlust zu erwarten, und die untere Zimmerhälfte dürfte besser wegkommen. Der Preisunterschied der Apparate könnte als neben-



sächlich gelten, ist aber praktisch sicher häufig von großem Belang. Unser Apparat (Brenner nebst Emailletopf mit Aufsatz) kostete uns 2—3 Mk., das macht bei Verwendung der vier den Flüggeschen Apparat ersetzenden Vorrichtungen etwa 10 Mk. Der Flüggesche Apparat, von der Firma G. Härtel in Breslau bezogen, kostete uns dagegen etwa 70 Mk. Außerdem empfiehlt Flügge die Verwendung zweier Apparate in größeren Räumen, von über 150, am besten schon von über 100 cbm Inhalt. In solchen Fällen kann man vielfach bei unserem Verfahren mit einem Kostenaufwand von 12—15 Mk. auskommen, während nach Flügge dann etwa 140 Mk. für die Apparate aufzuwenden sind.

Nach Ausführung der Desinfektion kann der Wohnraum meistens nicht so lange entbehrt werden, bis der unangenehme Formaldehydgeruch von selbst durch Lüftung verschwunden ist, dazu wären Wochen und selbst Monate erforderlich. Wir besitzen aber in dem Ammoniak, das sich mit dem Formaldehyd zu Hexamethylentetramin verbindet, ein wirksames Mittel zur Beseitigung dieses Geruchs. Das Ammoniak als Desodorierungsmittel in der Praxis der Formalindesinfektion hat daher allgemeine Einführung gefunden, verschieden sind nur die Methoden seiner Entwicklung. Nächstliegend war wohl der Gedanke, dasselbe durch Erwärmen seiner wässrigen Lösung in Freiheit zu setzen. So empfiehlt Flügge<sup>1)</sup>, das Ammoniak mit einem besonderen Kochapparat außerhalb des Zimmers zu entwickeln und durchs Schlüsselloch einzuleiten. Dieses Verfahren hat den nicht zu unterschätzenden Nachteil, daß in dem ohnehin mit Wasserdampf erfüllten Raum überflüssigerweise noch eine beträchtliche Menge Wassers eingeführt wird, wodurch die Politur der Möbel, Bronzegegenstände u. dgl. leidet. Wir ziehen daher die Entwicklung des Ammoniaks auf trockenem Wege vor, wie zuerst Rubner<sup>2)</sup> vorgeschlagen hat. Das Desodorierungsverfahren, welches wir demnach in Anwendung brachten, gestaltete sich wie folgt: Zunächst wurden die Fenster des Raumes geöffnet und bei dieser Gelegenheit die Kochtöpfe nebst Brennern heraus-

1) S. 15 u. 18 a. a. O.

2) Rubner und Peerenboom, a. a. O., S. 274.

geholt, um für die Desodorierung vorbereitet zu werden. Die Töpfe wurden alsdann mit käuflichem Ammoniumkarbonat beschiekt, dem wir Lavendelöl zusetzten. Die theoretisch nötige Menge Ammoniumkarbonats läßt sich aus der Formalinmenge leicht berechnen. In Räumen, die viele Möbel enthalten, muß man, wie wir gesehen, einen erheblichen Überschufs an Hirschhornsalz zusetzen, etwa doppelt so viel als theoretisch erforderlich.<sup>1)</sup> Die Zugabe des Lavendelöls braucht weniger ängstlich bemessen zu werden, man kann auf kleinere Räume etwa 10 ccm, auf sehr große bis 20 ccm nehmen. Der Geruch, welcher sich hierdurch dem Zimmer mitteilt, ist weit angenehmer als der Geruch des Ammoniaks oder des Lavendelöls für sich, was für die Verbreitung der Formalindesinfektion nur vorteilhaft sein kann. Nachdem der Raum eine Viertelstunde gelüftet war, wurden die Kochtöpfe mit darunter gestellter Flamme wieder hineingebracht, die Fenster geschlossen und der Raum eine halbe Stunde den Ammoniak-Lavendeldämpfen ausgesetzt. Als dann wurde das Fenster wieder für eine Viertelstunde geöffnet, wonach nur ein so schwacher, nicht unangenehmer Geruch zurückblieb, daß wir den Raum alsbald und, wenn unumgänglich erforderlich, noch am selben Abend auch als Schlafzimmer hätten benutzen können.

1) Zur Bindung von 100 g Formaldehyd werden theoretisch etwa 125 g Ammoniumkarbonat gebraucht.

170

171

# Über die Verstärkung der Desinfektionswirkung des Formaldehyds durch allseitigen künstlichen Innenwind.

Von

**Dr. Eugen Mayer** und **Dr. Heinrich Wolpert.**

Stabsarzt

Privatdozent

früher Assistent am Institut.

Oberassistent am Institut.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Obwohl der Formaldehyd spezifisch etwas schwerer als die Luft ist, wird er doch bei jeder Entwicklung auf warmem Wege, welchen der bisher vorgeschlagenen Apparate man auch anwenden mag, stets zunächst an die Decke geführt und daselbst teilweise absorbiert, um alsdann in fortschreitend geringerer Konzentration allmählich nach unten zu sinken. Daher rührt die Erscheinung, daß wohl in den höheren Luftschichten des Zimmers, etwa an der Decke oder auf einem Schrank die Desinfektion leicht eine vollkommene wird, um so schwerer aber in der unteren Zimmerhälfte und besonders an Wänden und Möbeln gegen den Fußboden zu, und auf demselben etwa unter einem Bett oder unter einem Schrank.

Diese Beobachtung, welche einem Jeden bei derartigen Versuchen ins Auge fällt, könnten wir mit einer fast endlosen Anzahl von Beispielen aus unseren Versuchen belegen; wir wollen uns damit begnügen, einige Beispiele herauszugreifen, bezw. zusammenzufassen.

In den Versuchen Nr. 1—34 (vgl. Generaltabelle) wurden die Testobjekte, Milzbrandsporen-Seidenfäden, auf dem Fußboden, in Kopfhöhe und an der Decke untergebracht; in der Regel acht

Stück auf dem Fußboden, sechs Stück in Kopfhöhe und zwei Stück an der Decke (Summe 16 Stück). Waren die Versuchsbedingungen derartige, daß nirgends eine Abtötung eintrat (Nr. 1—3) oder auch überall (Nr. 4—7), so wird selbstverständlich keine Höhenwirkung offenbar. Aber letztere muß dann zu Tage treten, wenn die Formalinmenge so gewählt ist, daß nicht sämtliche, am zweckmäßigsten nur wenige Proben eine Abtötung erleiden. Die Versuche Nr. 8—34 ermöglichen einen Vergleich in dieser Hinsicht. Ist der Höhenunterschied belanglos, so daß nur anderweitige Faktoren und Zufälligkeiten, wie die vielleicht nicht bei allen einzelnen Fäden völlig gleichmäßige Imprägnierung mit dem Sporenmaterial oder dergleichen, eine verschiedene Desinfektionswirkung hervorzurufen geeignet sind, dann ist doch jedenfalls eine an Sicherheit grenzende Wahrscheinlichkeit gegeben, daß eine positive Desinfektionswirkung durchschnittlich, wegen der größeren Zahl an daselbst deponierten Testobjekten, den Fußboden mit seinen acht und die mittlere Zimmerhöhe mit ihren sechs Fäden vor der Decke mit ihren zwei Fäden bevorzugt werde — insbesondere in Versuchen, wo etwa nur zwei oder drei Objekte zur Abtötung kommen. Das Gegenteil war aber der Fall. In allen Fällen, von Versuch Nr. 8—34, wo immer eine positive Desinfektionswirkung nur an einzelnen Fäden erfolgte, erwiesen sich gerade die Deckenobjekte als die von der Abtötung vorzugsweise betroffenen (Beispiel Versuch Nr. 8); erst in zweiter Linie, wo mehr Objekte abgetötet wurden, wurden auch die sechs Objekte in Kopfhöhe zum Teil oder vollzählig mitbetroffen (Beispiel Versuch Nr. 9); erst in letzter Linie, wo mehr als acht Objekte eine Einwirkung erkennen ließen, pflegte die Abtötung auf den Fußboden überzugreifen (Beispiel Nr. 14 und 17).

Von Versuch Nr. 35 ab wurden die höchsten Objekte nicht mehr an der Decke fixiert, sondern auf einem Schrank deponiert, fernere Objekte etwas tieferliegend auf einer Wandkonsole, andere wieder tiefer auf einem Bett, und wie früher auch welche auf dem Fußboden. Hier wiederholte sich die gleiche Erscheinung. Beispielsweise wurden in Versuch Nr. 44 nur die Objekte

auf Schrank, Konsole und Bett abgetötet, unversehrt blieben dagegen die auf dem Fußboden frei oder versteckt liegenden Fäden und auch solche, welche in vorgezogenen Schubladen untergebracht waren.

Das sind Resultate, welche Jeden, der mit praktischen Desinfektionsausführungen zu thun hat, nachdenklich stimmen müssen. Denn auf eine Desinfektion gerade der unteren Zimmerhälfte kommt es doch, wie wohl nicht näher ausgeführt zu werden braucht, in praxi wesentlich mehr an als auf eine solche der oberen — ein Umstand, auf den bisher wohl nicht genug Nachdruck gelegt wurde. Offenbar sind Mittel anzustreben, welche gestatten, die Desinfektion der Wohnräume entweder gleichmäßiger als bei der üblichen Formalindesinfektion zu gestalten oder, noch zweckmäßiger vielleicht, die bisherige Wirkung umzukehren, nämlich die stärkere Wirkung von der Decke nach dem Fußboden zu verpflanzen.

Wir hofften, der Forderung einer gleichmäßigen oder eher nach dem Fußboden hin stärkeren Desinfektionswirkung dadurch Genüge leisten zu können, daß wir mit Hilfe eines transportablen Flügelventilators abwechselnd alle Teile des unteren Zimmers einem künstlichen Anprall der formaldehydhaltigen Luft aussetzten. Letzteres war dadurch erreichbar, daß der Ventilator auf einer durch ein Federuhrwerk in Rotation versetzten Scheibe montiert wurde<sup>1)</sup>; es drehte sich dabei also erstens das Flügelrad des Ventilators und zweitens senkrecht zu dieser Bewegungsrichtung die Unterlage des Ventilators. Der Apparat wurde mitten im Zimmer auf dem Fußboden aufgestellt.

Zunächst suchten wir zu ermitteln, ob bereits durch eine bessere Luftmischung, wie sie bei Laufenlassen des Ventilators ohne Drehung der Unterlage (Fig. 1) gegeben war, ein kräftigerer Desinfektionserfolg gewährleistet werde. Daß thatsächlich die Luft auf diese Weise eine vorzügliche Durchmischung

---

1) Anfänglich, bis Versuch Nr. 47 excl., kam aus äußeren Gründen eine einfachere, wenig praktische Drehvorrichtung in Anwendung, deren Beschreibung wir hier übergehen; näheres ist aus der Bemerkung zu Abteilung II der Generaltabelle (s. unten) ersichtlich.

erfuhr, davon überzeugten wir uns zunächst in Vorversuchen, indem wir im oberen Teil des Versuchszimmers, auf einer hohen Leiter, Salpeterpapier verbrannten. Wir konnten auf diese Weise im oberen Teil des Zimmers eine nach unten scharf abgegrenzte dunkle Rauchwolke erzeugen, welche von unten nicht einmal die Decke erkennen liefs; diese Wolke hielt sich viele Minuten lange in anscheinend genau gleicher Höhe. Sobald wir aber den Ventilator einschalteten, war innerhalb einiger Sekunden die Rauchwolke verschwunden, die Decke wieder sichtbar und

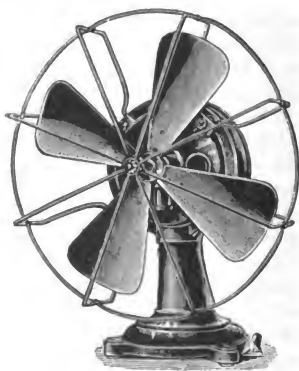


Fig. 1.

der Rauch gleichmäfsig und schwach über das ganze Zimmer verteilt.

Der Ausfall dieser Vorversuche durfte vielleicht erwarten lassen, dafs schon die Anwendung des gewöhnlichen Ventilators an sich, ohne die rotierende Unterlage, eine bessere Desinfektion der unteren Zimmerhälfte verspreche, da ja hierdurch auch der Formaldehyd ziemlich gleichmäfsig im Raum verteilt werden müsse, und sogar, bei tiefer Aufstellung des Ventilators, voraussichtlich eher die untere als die obere Zimmerhälfte besser

wegkommen möchte. Um jedoch möglichst ungetrübt die reine Wirkung der besseren Verteilung, ohne die Komplikation durch die Druckwirkung des Windes zu erkennen, gaben wir in diesen Versuchen dem Wind eine solche Richtung, daß er thunlichst auf Testobjekte nicht unmittelbar auftraf.

Die Erwartungen, welche an diese Versuche geknüpft werden konnten, gingen nicht in Erfüllung. Wie aus Tabelle III, Abteilung I hervorgeht, war die Desinfektionswirkung unter dem Einfluß der einseitig bewegten Luft durchaus nicht besser, sondern im Gegenteil schlechter als in ruhender Luft: einseitig bewegte und ruhende Luft verhielten sich in den Mitteln dreier Versuchsgruppen wie 100 : 134, 100 : 122, 100 : 100 in ihrer Wirksamkeit. Wir haben freilich nur etwa 10 derartige Vergleichsversuche angestellt, und vielleicht würde als Mittel von sehr vielen Versuchen resultieren, daß die einseitige Luftbewegung nicht wesentlich schadet noch nützt. Wir möchten dies dahingestellt sein lassen. Jedenfalls ermutigte uns der Ausfall dieser wenigen Versuche nicht zu einem Weiterarbeiten nach dieser Richtung. Daß hierbei eine geringere Desinfektionswirkung statt haben konnte, möchte folgendermaßen zu erklären sein: Wenn bereits in ruhender Luft die Decke mehr Formaldehyd absorbierte, so wurde noch weit mehr Formaldehyd bei stark bewegter Luft von dem Fußboden und den festen Gegenständen in der Windrichtung in Beschlag genommen und zwar vielleicht eine so große Menge, daß für den ganzen übrigen Raum zu wenig verblieb; dazu kam noch die Erhöhung der Raumventilation unter dem Einfluß des künstlichen inneren Winddruckes; alles in allem genommen erwies sich daher, ungeachtet einer zweifellos gleichmäßigeren Formaldehydverteilung, die Desinfektionswirkung infolge des einseitigen Innenwindes nicht gesteigert, sondern geschwächt. Übrigens handelte es sich hier stets um Sommerversuche. Vielleicht überwiegt im Winter, im geheizten Zimmer, der Nutzen einer besseren Wärmeverteilung die beregten Nachteile einigermaßen.

Ganz anders gestalteten sich die Resultate, sobald die rotierende Unterlage hinzukam (Fig. 2). Die hierdurch erzielte sehr



günstige Wirkung geht deutlich aus Tabelle III, Abt. II—IV (s. unten) hervor. Man ersieht hieraus, daß die erhöhte Wirkung thatsächlich weniger einer besseren Luftmischung als einer vermehrten Luftbewegung, die sich in einem **allseitigen Winddruck und Anprall** der formaldehydhaltigen Luft äußerte, zu verdanken war. Nach Ausweis der Generaltabelle (Versuche Nr. 42, 43, 46, 47, 51 u. s. w.) betraf zudem die gesteigerte Wirkung in ausnehmend günstiger Weise insbesondere auch, wie leicht begreiflich,



Fig. 2.

gerade die versteckter liegenden Objekte, welche ohne eine derartige Einwirkung kaum zu erreichen sind.

Allerdings, verdampft man nur minimale Mengen von Formalin, von denen man eine Wirkung eigentlich von vornherein nicht erwarten darf, etwa 50 ccm auf 100 cbm, so muß die Wirkung beide Male gleich Null sein. Aus den entsprechenden Versuchen in Tabelle III, Abt. IIa, ist dieses Verhalten ersichtlich. Nimmt man etwas höhere, immer noch gänzlich unzureichende Formalinmengen, so wird man offenbar an einen Punkt gelangen können, wo die Desinfektionswirkung sogar bei ruhender

Luft größer ist als bei allseitig bewegter; dann nämlich, wenn die Konzentration der Formaldehyddämpfe in der ruhenden Luft eben für eine schwache Wirkung ausreicht; für diesen Fall wird *ceteris paribus* in bewegter Luft die Konzentration verringert, indem infolge des inneren Winddrucks die Ventilation des Zimmers gesteigert wird, folglich auch größere Mengen Formaldehyds als in ruhender Luft verlustig gehen, vielleicht so große Mengen, daß die an sich günstige Anprallwirkung

überkompensiert wird. Das ist in der That der Fall. Aus der zweiten Versuchsgruppe in Tabelle III, Abt. II, wobei 100 bis 200 ccm Formalin zur Verwendung kamen, geht unzweideutig die Richtigkeit dieser Anschauung hervor; die ruhende Luft war unter diesen Versuchsbedingungen der allseitig bewegten bedeutend überlegen. Doch schon bei 300, 400, 500 ccm Formalin auf 100 cbm (Gruppe III der gleichen Tabelle), Mengen, wie sie noch weit unter den in der Praxis üblichen liegen, schaffte die Anprallwirkung unverkennbar reichliche, und mehr als reichliche Deckung für den Materialverlust infolge des inneren Winddrucks. Das Wirksamkeitsverhältnis von allseitig bewegter zu ruhender Luft stellt sich für 300, 400, 500 ccm Formalin bezw. auf 100 : 81, 100 : 74, 100 : 49. Während in allseitig bewegter Luft die Milzbrandsporen ausnahmslos oder fast so gut wie ausnahmslos abgetötet wurden (100/100, 98/100, 97/100), war dies in ruhender Luft bei weitem nicht der Fall (81/100, 73/100, 48/100). Das Zimmer war in diesen Versuchen freilich unmöbliert.

Im möblierten Zimmer tritt jedoch der gleiche Unterschied zu Tage (Tabelle III, Abt. II b). Das Wirksamkeitsverhältnis von allseitig bewegter zu ruhender Luft stellte sich hier bezw. auf 100 : 67, 100 : 71, 100 : 36, 100 : 44 für 300, 500, 1000, 1500 ccm Formalin auf 100 cbm. In ruhender bezw. allseitig bewegter Luft wurden die Sporen durch 300 Formalin zu 20/100 bezw. 30/100 abgetötet, weiterhin durch 500 Formalin zu 29/100 bezw. 41/100, durch 1000 Formalin zu 18/100 bezw. 50/100, durch 1500 Formalin endlich zu 41/100 bezw. 93/100.

Vergleicht man die allseitig bewegte Luft mit einseitig bewegter hinsichtlich des Desinfektionsresultats, so ergeben sich für das unmöblierte Zimmer die Verhältniszahlen von 100 : 61, sowohl für 300 wie 400 Formalin (Tabelle III, Abt. III). Für das möblierte Zimmer kann dieser Vergleich, mangels entsprechender Versuche mit einseitiger Windwirkung, nicht gezogen werden; es besteht kein Zweifel, daß hier die Verhältnisse ähnlich liegen.

Wie Abt. IV der Tabelle III erkennen läßt, verhielten sich schliesslich allseitig bewegte, einseitig bewegte und ruhende Luft im unmöblierten Zimmer in ihrer Wirksamkeit wie 100 : 61 : 81 für

300 Formalin, wie 100 : 61 : 74 für 400 Formalin, wie 100 : 100 : 100 für 750 : 1000 : 1250 Formalin.

Vergleicht man nur solche Versuche gesondert unter sich, in welchen die Sporen von gleicher Resistenz waren und durchweg die Wirkung angemessener, mittelgroßer Formalinmengen (1000 ccm Formalin auf 100 cbm) erprobt wurde, so ergibt sich als Resultat auch nichts anderes: Für Sporenmateriel von 1—2 Minuten Dampfresistenz (Tabelle IV, Abt. I) verhält sich ruhende Luft zu allseitig bewegter wie 28/100 : 77/100 in ihrer Wirksamkeit und für Sporen von mindestens 3—4 Minuten Dampfresistenz ähnlich, nämlich zu 7/100 : 22/100. Auf die verschiedene Resistenz der verwendeten Sporen brauchte, wie oben geschehen, keine Rücksicht genommen zu werden, da die Parallelversuche stets mit gleichartigem Sporenmateriel, wie überhaupt unter möglichst gleichen Versuchsbedingungen angestellt wurden. Wie ferner aus Tabelle V, Abt. I und II, hervorgeht, bestand speciell in den hier zuletzt für 1000 Formalin verglichenen Versuchen im Mittel die gleiche Raumtemperatur; die unterschiedliche Wirksamkeit der Desinfektion in den beiden letzten Parallelgruppen ist somit jedenfalls ausschliesslich auf die einzige Verschiedenheit, den allseitigen künstlichen Innenwind, zurückzuführen.

Für ein Zimmer von 100 cbm nimmt man bisher üblicherweise nicht 1000, sondern ca. 1500 (1600) ccm Formalin bei 3½ Stunden Desinfektionsdauer (vgl. Flügge, citierte Schrift S. 14). Nach unseren Versuchsergebnissen darf man darauf rechnen, mindestens das gleich günstige, wenn nicht ein erheblich besseres Desinfektionsresultat zu erhalten bei Verdampfung schon der Hälfte, wenn nicht eines Drittels der bisher als ausreichend erkannten Formalinmenge, falls man den rotierenden Ventilator benutzt. Um sicherer zu gehen, möchten wir vorläufig 1000 ccm Formalin für 100 cbm Luftraum als Grundzahl bei Benutzung des selbstrotierenden Ventilators ansehen, wohl wissend, dass man dann meistens, bei Desinfektion eines Diphtheriekrankenimmers z. B., mit einem Überschuss von Formalin arbeiten wird.

In unseren obigen Versuchen hatte der Luftstrom eine Geschwindigkeit von 7—8 m sekundlich, wie sie zufällig unser elektrischer Lundell-Ventilator bot; da das Flügelrad des Ventilators 40 cm im Durchmesser hatte, so wurde in der Minute dabei ein Luftquantum von 53 cbm gefördert; der Elektrizitätsverbrauch war dafür 0,9 Ampère unter 110 Volt Spannung. Der stündliche Betrieb eines solchen Ventilators kommt somit in Berlin, wo die Kilowattstunde 60 Pf. kostet, auf nicht ganz 6 Pf. zu stehen (vgl. A. und H. Wolpert, Die Ventilation, Berlin 1901, S. 590).

Ob eine wesentlich geringere Geschwindigkeit als 7 m in der Sekunde schon eine positive Wirkung hätte erkennen lassen, haben wir nicht untersucht, möchten es aber bezweifeln, da ja eben die Anprallwirkung das hauptsächlich wirksame Moment bildet. Die Umdrehungsgeschwindigkeit der Unterlage kann in weiten Grenzen schwanken; man wird sie aber nicht zu rasch wählen dürfen, um den Luftstrom des Ventilators möglichst in voller Kraft wie bei fehlender Umdrehung der Unterlage zu erhalten. In unseren Versuchen drehte sich die Unterlage in der Regel alle 2—3 Minuten einmal um und das war rasch genug; in einzelnen Fällen wählten wir noch weit weniger Umdrehungen mit ebenfalls befriedigendem Erfolg. Wir haben auf Grund unserer Versuche sogar die Anschauung gewonnen, daß es schon genügen würde, wenn der Ventilator überhaupt während der ganzen Desinfektion nur einige Male sich umdrehen würde.

Das Streben, die Formaldehyddesinfektion durch eine künstliche Luftmischung wirkungsvoller und für alle Teile des Raumes gleichmäßiger zu gestalten, trat schon früher zu Tage. So meint Gehrke<sup>1)</sup>: »Die Vermutung lag nahe, daß eine energisichere Wirkung des Formalins gerade bezüglich des Vermögens in Hohlräume einzudringen, sich erzielen lassen würde, wenn man die Luft des Zimmers und damit die Formaldehyddämpfe in einer dauernden Bewegung erhalten würde. Zu dem Zwecke

1) Gehrke, Versuche über die desinfektorische Wirkung der mit dem Schering'schen Apparat Äskulap erzeugten Formalindämpfe. Deutsche mediz. Wochenschr., 1898, S. 242.

wurde in dem Raum auf einem Tische ein Kosmos-Ventilator mit Wasserbetrieb aufgestellt, der bei einer Förderung von ca. 2 cbm Luft in der Minute den Inhalt des Zimmers in der Stunde ungefähr drei Mal und in den 18 Stunden, während welcher der Ventilator in Betrieb war, die Luft des Zimmers ca. 54 mal durch sich hindurchsaugte. Trotz dieser doch recht energischen Luftbewegung (? M. u. W.) in dem Zimmer war das Resultat nicht verändert. Der Formaldehyd drang nicht weiter in die Röhren ein wie in früheren Versuchen.«

Öhmichen<sup>1)</sup> hatte schon vorher folgenden Versuchsapparat konstruiert: »Ein Metallcylinder von ungefähr  $\frac{1}{3}$  cbm Inhalt wurde oben und unten bis auf eine kreisförmige Öffnung von ungefähr 10 cm Durchmesser geschlossen. Diese beiden Öffnungen wurden durch knieförmig gebogene Rohre von gleichem Kaliber, die an der Außenseite des Cylinders entlang liefen, verbunden. Am Boden des Cylinders wurde ein Flügelrad, dessen Durchmesser nur wenig kleiner als der des Cylinders war, angebracht und durch einen kleinen Wassermotor in Bewegung gesetzt. Unterhalb desselben auf einem Roste war Filtrierpapier ausgebreitet, das mit Formalin übergossen werden konnte. Über dem Flügelrad befand sich gleichfalls ein Rost für die Aufnahme der Testobjekte. Durch eine seitlich angebrachte, dicht schließende Thüre konnten die Objekte, ohne dafs zu viel Formalindämpfe entwichen, entnommen und das Filtrierpapier wieder angefeuchtet werden. Wurde der Apparat in Gang gesetzt, so entwickelte sich ein ständiger Luftkreislauf, so dafs die Formalindämpfe immer wieder in Aktion treten konnten.«

In einer neueren Patentschrift empfiehlt Bengué<sup>2)</sup>, zwecks besserer Verteilung der Formaldehyddämpfe über dem Entwicklungsfafs ein Flügelrädchen anzubringen, welches, durch die aufsteigenden heißen Dämpfe in Rotation versetzt, eine bessere seitliche Verteilung besorge.

1) Öhmichen, Beiträge zur Desinfektionslehre. Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamt, Bd 11, S. 275, 1895.

2) Bengué, Verteilungsräd für Trioxymethylenvergaser u dergl. Patentschrift Nr. 108 103.

Wie man sieht, setzt sich keines dieser Verfahren zum Ziel, die unteren Teile des Zimmers einem thatsächlichen künstlichen Luftanprall auszusetzen. Bei der Einrichtung des Gehrkeschen Apparats wurde nicht die Luft des ganzen Zimmers hindurchgesaugt, sondern nur die Luft in der Mitte des Zimmers trat in Cirkulation, jedenfalls erfolgte keine energische Luftbewegung auf die Wände selbst und vielleicht auch nicht auf einen Teil der Wände, da der Ventilator sehr schwach war. Immerhin ist zuzugeben, daß bis zu einem gewissen Grade eine bessere Luftmischung erreicht wurde ähnlich, wenn auch weniger stark als mit unserer Einrichtung ohne Rotation, womit wir ja ebenfalls keine bessere Wirkung erzielten. Die Laboratoriumsversuche von Öhmichen lassen sich nicht unmittelbar auf Ausführung der Desinfektion in Wohnräumen übertragen, auch gewinnen wir aus seinen Versuchsergebnissen nicht die Überzeugung, daß durch die Luftbewegung eine verstärkte Wirkung eingetreten sei. Versuche mit Bengués Einrichtung sind uns nicht bekannt; wir möchten dieselbe nicht ernst nehmen.

Wenn wir mit dem selbstrotierenden Ventilator auch bessere Resultate als bei der üblichen Desinfektionsausführung erzielten bzw. bei Erreichung des gleichen Resultats wesentliche Mengen an Formalin sparen konnten und somit die Anwendung des rotierenden Ventilators durchaus empfehlenswert finden, so werden doch äußere Schwierigkeiten in der Praxis häufig, wenn nicht meistens, dazu führen, auf diesen Vorteil verzichten zu müssen. Wie wir gesehen haben, erreicht man aber eine ähnliche Aufbesserung der Desinfektionswirkung durch Erhöhung der Konzentration der Formaldehyddämpfe und Anwärmen des Raumes. Aber in manchen Fällen, wo, wie in zahlreichen Krankenhäusern, Motor und Kraft zur Verfügung stehen und viel darauf ankommt, den Raum bald wieder zu belegen, wird man gerne mit möglichst kleinen Formalinmengen auszukommen suchen und dann den Apparat (Fig. 2) mit besonderem Vorteil benutzen. Vor allem empfiehlt sich ein Ventilator, wenn auch ohne rotierende Unterlage (Fig. 1), auch zur raschen und energischen Vertreibung der Formalindämpfe nach Abschluß der Desinfektion; man stellt dann den Ventilator

in zweckmäßigster Weise nicht etwa in das Fenster, welches Vorgehen vielleicht am nächsten liegen könnte, sondern in die Nähe der dem Fenster gegenüberliegenden Wand, etwa auf einen Tisch auf und läßt ihn gegen das geöffnete Fenster nach außen blasen; die Thür wird währenddessen zweckmäßig geschlossen gehalten.

In gewissen besonderen Fällen wird die Anwendung des rotierenden Ventilators so zu sagen unentbehrlich sein, nämlich in den Fällen, wo es sich um die Desinfektion aufsergewöhnlich hoher Räume handelt; als solche können beispielsweise in Betracht kommen die in Berlin wenigstens sehr hohen Schlafstellen der städtischen Asyle für Obdachlose oder Turnhallen, Exerzierhäuser etc., die im Falle der Not eventuell als Seuchenlazarette benutzt werden. Noch mehr als bei gewöhnlichen Wohnräumen ist in solchen Fällen die Desinfektion der Decken und des oberen Raumteils von äußerst geringem Belang, um so mehr aber jene im untersten Abschnitt des Raumes, vom Fußboden an bis etwa zur Kopfhöhe. Mit Hilfe des selbstrotierenden Ventilators wird es möglich sein, diesen Teil des Raumes allseitig von den Formaldehyddämpfen erreichen zu lassen, welche andernfalls nur die Decke und den obersten Raumteil treffen und alsbald zum großen Teil durch Undichtigkeiten in Firsten etc. entweichen.

### Tabelle I. Generaltabelle.

#### Vorbemerkungen.

Die Desinfektionsdauer betrug stets  $3\frac{1}{2}$  Stunden, wo nichts anderes bemerkt. Der Raum hatte 109 cbm Inhalt (4,75 m Höhe, 2,32 m Breite, 6,90 m Tiefe). Die Testobjekte wurden an folgenden Stellen des Zimmers exponiert (+ = positives Wachstum, 0 = kein Wachstum, ? = Wachstum fraglich, — = Objekt nicht ausgelegt):

- Platz 1 = Fußboden dicht am Fenster (unter dem Fensterbrett)
- 1 = unbedecktes Objekt
  - 1' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
  - 2 = Fenster-Vorhang, Innenseite, in Kopfhöhe
    - 2 = unbedecktes Objekt
    - 2' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
  - 3 = Fenster-Vorhang, Außenseite (in Kopfhöhe)
    - 3 = unbedecktes Objekt
    - 3' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
  - 4 = Fußboden in der Nähe der Thür
    - 4 = unbedecktes Objekt
    - 4' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)

- Platz 5 = Innenwand in Kopfhöhe  
 5 = unbedecktes Objekt  
 5' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
- 6 = Innenwand nahe der Decke  
 6 = unbedecktes Objekt  
 6' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
  - 7 = Fußboden inmitten des Zimmers, ca.  $3\frac{1}{2}$  m vom Fenster  
 7 = unbedecktes Objekt  
 7' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
  - 8 = Fußboden in der Nähe des Fensters, ca.  $1\frac{1}{2}$  m davon entfernt  
 8 = unbedecktes Objekt  
 8' = bedecktes Objekt (in Filtrierpapier)
  - 9 = Fußboden unter Bett, Kopfende, gegen Zimmer zu (unbedeckt wie ff.)
  - 10 = Fußboden unter Nachttisch
  - 11 = Auf Bett, Kopfende
  - 12 = Im Schubladenfach des Nachttisches (die Schublade selbst ist entfernt)
  - 13 = Mitte der Tischschublade, von welcher  $\frac{1}{3}$  ausgezogen ist; Platz also von der Tischplatte überdeckt
  - 14 = Auf dem unteren Brett einer zweiteiligen, über dem Tisch angebrachten Wandkonsole
  - 15 = Auf der Vorderkante eines Kleiderschranks
  - 16 = Fußboden unter Bett, Kopfende, gegen die Wand zu
  - 17 = Fußboden unter der Mitte des Betts
  - 18 = Fußboden unter dem Fußende des Betts, Innenseite
  - 19 = Fußboden unter dem Fußende des Betts, Außenseite
  - 20 = Nachttisch, Außenfläche, Platte unterhalb des Schubladenfachs
  - 21 = Nachttisch Innenfläche, oberes Brett (Thür offen)
  - 22 = Nachttisch Innenfläche, Boden (Thür offen)
  - 23 = Hinten in der Tischschublade, von der  $\frac{1}{3}$  ausgezogen ist; Platz also von der Tischplatte überdeckt
  - 24 = Mitten unter dem Tisch
  - 25 = Mitten unter dem Kleiderschrank
  - 26 = Innen im Kleiderschrank, unten (Thür offen)
  - 27 = Innen im Kleiderschrank, oben (Thür offen)
  - 28 = Im nächsten Umkreis des Ofens (auf dem Fußboden)
  - 29 = Im nächsten Umkreis des Ofens (auf dem Fußboden)
  - 30 = Im nächsten Umkreis des Ofens (auf einem Stuhl)
  - 31 = Im nächsten Umkreis des Ofens (auf einem Stuhl).

In einzelnen Fällen setzten wir gleichzeitig in Drahtgaze-Behältern, die mitten im Zimmer auf einen Stuhl gestellt wurden, der Formaldehyd-wirkung auch aus: Mäuse (Hausmäuse), Fliegen, Schmetterlinge, Flöhe, Wanzen u. dergl. Durch ein Guckfensterchen in der Thür (eingekittetes Uhr-glas) konnten Zimmer und Zimmerinhalt, Flammen u. s. w., in einem Teil der Versuche auch ein Thermometer und Hygrometer beobachtet werden.



Tabelle I. Generaltabelle.  
Trockene Sommerversuche.

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen:	Fuß-			
						Am Fenster		Unweit Fensters	
						frei (1)	be- deckt (1')	frei (8)	be- deckt (8')
1	19. Juni (Dienstag)	Ohne Wind	330 Pastillen (à 1 g)	0	Nach 1 Tag	+	+	+	+
2	20. Juni (Mittwoch)	Ohne Wind	330 Pastillen (à 1 g)	0	Nach 1 Tag	+	+	+	+
3	22. Juni (Freitag)	Ohne Wind	330 Pastillen (à 1 g)	0	Nach 1 Tag	+	+	+	+

Da in den Versuchen 1—3 unter den gewählten Versuchsbedingungen (3 Pastillen pro cbm Raum) in keinem Fall eine auch nur schwache Desinfektionswirkung erfolgte, eine Steigerung der aufzuwendenden Formalinpastillen aber in Anbetracht der großen Zahl von Versuchen zu hohe Kosten verursacht und das Verdampfen von Wasser wohl doch nicht hätte ersparen lassen, so wurden die Versuche von Nr. 4 ab sämtlich mit Verdampfung von Formalinlösung und Wasser angestellt. Ein besonderes Gewicht mußte auf die Vertreibung des dem Zimmer nach dem Versuch anhaftenden Formalingeruchs gelegt werden, damit der folgende Versuch nicht beeinflusst wurde; in den Fällen, wo am nächsten Tag noch ein deutlicher Formalingeruch wahrzunehmen war, wurde der etwa geplante Versuch in der Regel verschoben, bzw. ein „blinder Versuch“ eingeschaltet (vgl. Nr. 20).

Tabelle I. Abteilung II.  
Feuchte Sommerversuche. Große

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	For- malin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen:	Fuß-			
						Am Fenster		Unweit Fensters	
						frei (1)	be- deckt (1')	frei (8)	be- deckt (8')
4	26. Juni (Dienstag)	Ohne Wind	1500 ccm	1500 ccm	Nach 1 Tag	0	0	0	0
			Formalin	Wasser	nach 3 Tagen	0	0	0	0
					„ 6 „	0	0	0	0
5	27. Juni (Mittwoch)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	750 ccm	1500 ccm	Nach 1 Tag	0	0	0	0
			Formalin	Wasser	nach 3 Tagen	0	0	0	0
					„ 6 „	0	0	0	0
6	28. Juni (Donnerstag)	Mit Wind, nach einer Richtung	1000 ccm	1000 ccm	Nach 1 Tag	0	0	0	0
			Formalin	Wasser	nach 3 Tagen	0	0	0	0
					„ 6 „	0	0	0	0
7	29. Juni (Freitag)	Ohne Wind	1000 ccm	1000 ccm	Nach 1 Tag	0	0	0	0
			Formalin	Wasser	nach 3 Tagen	0	0	0	0
					„ 6 „	0	0	0	0

**Abteilung I. Versuche Nr. 1—3.**

**Testobjekte: Milzbrand.**

Boden				Kopfhöhe				Decke				Bemerkungen
Mitte Zimmers		An der Thür		Hinter Vorhang		Vor dem Vorhang		An der Thür		An der Decke		
frei (7)	be- deckt (7')	frei (4)	be- deckt (4')	frei (3)	be- deckt (3')	frei (2)	be- deckt (2')	frei (5)	be- deckt (5')	frei (6)	be- deckt (6')	
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Desinfektion wirksam in keinem Fall.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Desinfektion wirksam in keinem Fall.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Desinfektion wirksam in keinem Fall.

Vertreibung des Formalingeruchs nach beendeter Desinfektion, in Versuch Nr. 1—3 und 8—17: 1 Stunde mit Ventilator gelüftet, kein NH<sub>3</sub> entwickelt. Nr. 4—7: Nach Versuch Testobjekte eingesammelt, 1/4 Stunde mit Ventilator gelüftet, 3/4 Stunde die entsprechende Menge NH<sub>3</sub> aus Lösung entwickelt und einwirken gelassen, 1/4 Stunde nochmals mit Ventilator gelüftet. Nr. 18 ff.: Nach Versuch Testobjekte eingesammelt, 1/2 Stunde mit Ventilator gelüftet, 1/4 Stunde unter Zugabe von 10 g Lavendelöl aus Ammoniumcarbonat Ammoniak im Übermaß entwickelt und alsdann 1/4 Stunde mit rotiertem, bezw. rotierendem Ventilator allseitig verteilt, hierauf Thür und Fenster geöffnet und über Nacht offen belassen, um den nächsten Versuch auch nicht durch Ammoniak zu schädigen. (Selbstrotierender Ventilator von Nr. 47 ab in Benutzung.)

**Versuche Nr. 4—7.**

**Formalinmengen. Testobjekte: Milzbrand.**

Boden				Kopfhöhe				Decke				Bemerkungen
Mitte Zimmers		An der Thür		Hinter Vorhang		Vor dem Vorhang		An der Thür		An der Decke		
frei (7)	be- deckt (7')	frei (4)	be- deckt (4')	frei (3)	be- deckt (3')	frei (2)	be- deckt (2')	frei (5)	be- deckt (5')	frei (6)	be- deckt (6')	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Desinfektion wirksam in allen Fällen. Eingesetzte Maus (I) bleibt am Leben, doch ihre Atmung ist mehrere Tage gestört. Fenster beschlagen
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Desinfektion wirksam in allen Fällen. Eingesetzte Maus (II) bleibt am Leben und ist völlig mobil.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Desinfektion wirksam in allen Fällen. Eingesetzte Maus (III) bleibt völlig mobil; große Fliege (-Brunner-) ist tot; Nachschmetterling lebt, aber Motilität gestört.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	Desinfektion wirksam in allen Fällen.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

In den Versuchen 4—5 wurden getrennt, je in einem Topf, 1500 ccm Formalin und 1500 ccm Wasser, in 6—7 je 1000 Formalin und 1000 Wasser verdampft. Die Desinfektion war in allen Fällen eine vollkommene. Daher wurde, von Versuch 8 an, zu kleineren Formalinmengen übergegangen.

Bemerkenswert ist in Nr. 4—6 (wie unten in Nr. 14, 15, 16, 17, 18, 21, 31, 36) die geringe Schädigung von Tieren durch den Formaldehyd.

Der elektrische Ventilator, inmitten des Zimmers aufgestellt, war zunächst auf einer, von Hand mittels Schnüren durch das Schlüsselloch hindurch drehbaren runden Scheibe montiert und wurde in den entsprechenden Versuchen (Nr. 5, 6, 10, 11, 12, 14, 15 u. s. w.) eine Stunde nach Beginn, d. h. alsbald nach Erlöschen der gewöhnlich ca. 45—50 Minuten brennenden Flammen, eingeschaltet und bis zum Schluss, d. i. 2 $\frac{1}{2}$  Stunden in Betrieb belassen. Wo der Ventilator abwechselnd nach verschiedenen Richtungen wirken sollte, wie in Nr. 5, 12, 14 n. s. w., wurde ihm viertelstündlich durch Ziehen an den Schnüren eine andere Richtung gegeben, so dafs der künstliche Wind thunlichst gleichmäfsig im vollen Umkreis unmittelbar durch Anprall wirkte. Sollte der Wind nur

Tabelle I. Abteilung III.  
Feuchte Sommerversuche. Kleine

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen	Fuß-					
						Am Fenster		Unweit Fen- sters		Mitte Zim- mers	
						1	1'	8	8'	7	7'
8	2. Juli (Montag)	Ohne Wind	500 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	+	+	—	—	—	—
					nach 2 Tagen	+	+	—	—	—	—
					» 3 »	+	+	—	—	—	—
9	3. Juli (Dienstag)	Ohne Wind	500 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	+	0	?	0	0	0
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+
					» 3 »	+	+	+	+	+	+
10	4. Juli (Mittwoch)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	0
					» 3 »	0	0	0	0	0	0
11	5. Juli (Donnerstag)	Mit Wind, nach einer Richtung	500 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	?	0	0
					» 3 »	0	0	0	+	0	0
12	6. Juli (Freitag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	500 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	0
					» 3 »	0	0	0	0	0	0
					» 5 »	0	0	0	0	0	0

nach einer Richtung hin blasen, wie in Nr. 6, 10, 11, 15 u. s. w., wo nämlich nur eine bessere Verteilung ohne die Anprallwirkung bezweckt war, wurde er so gerichtet, daß er auf Testobjekte nicht unmittelbar auftraf. Die Drehvorrichtung mittels Schnüren erwies sich, wie vorausgesehen war, als mangelhaft; sie versagte zuweilen ganz, wie im Verlaufe von Nr. 43 u. 45, wo die Windrichtung infolge Festhakens oder Verschlingens der Schnur mit einem Male nicht mehr gewechselt werden konnte; sie wurde auch nur anfänglich, der geringen Kosten halber, gewählt und von Nr. 47 ab durch einen vollkommenen Mechanismus, wie er von Anbeginn im Programm lag, ersetzt: Der Ventilator wurde auf einer mittels Uhrwerks in Rotation versetzten Unterlage montiert, welche sich selbstthätig alle 3 Minuten einmal umdrehte; er stand in Nr. 1—18 auf einem Tisch und wurde in 19—46 zweckmäßig tiefer, auf einen Stuhl gestellt; von Nr. 47 ab stand das Uhrwerk, welches den Ventilator alsdann trug, unmittelbar auf dem Fußboden. Als Windgeschwindigkeit wurde stets, wo nichts Anderes angegeben, die maximal mit dem betr. Ventilator erreichbare, etwa 7(—8) m in der Sekunde gewählt; der Flügeldurchmesser des Ventilators betrug 40 cm.

**Versuche Nr. 8—34.**

**Formalinnengen. Testobjekte: Milzbrand.**

boden				Kopfhöhe				Decke				Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen
An der Thür		Hinter Vorhang		Vordem Vorhang		An der Thür		An der Decke		Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum			
4	4'	3	3'	2	2'	5	5'	6	6'									
0	0	0	0	0	?	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 4 von 12 Fällen (33/100).		
+	+	+	+	+	+	0	0	0	0									
+	+	+	+	+	+	0	0	0	0									
+	+	+	+	+	+	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 10 von 16 Fällen (62/100).		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 15 von 16 Fällen (94/100).		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 16 von 16 Fällen (100/100).		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0									

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen	Fuß-					
						Am Fenster		Unwelt Fen- sters		Mitte Zim- mers	
						1	1'	8	8'	7	7'
13	9. Juli (Montag)	Ohne Wind	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	+	+	0	0	+	+
					nach 2 Tagen	+	+	+	0	+	+
					, 3 ,	+	+	+	0	+	+
14	10. Juli (Dienstag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	+
					, 3 ,	0	0	0	0	0	+
15	11. Juli (Mittwoch)	Mit Wind, nach einer Richtung	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	+	+	+	+
					, 3 ,	0	0	+	+	+	+
16	12. Juli (Donnerstag)	Mit Wind, nach einer Richtung	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	+	+	+	+
					, 3 ,	0	0	+	+	+	+
17	13. Juli (Freitag)	Ohne Wind	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	+	+	+	+
					, 3 ,	0	0	+	+	+	+
18	16. Juli (Montag)	Ohne Wind	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	+
					, 3 ,	0	0	0	0	0	+
19	17. Juli (Dienstag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	400 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	0
					, 3 ,	0	0	0	0	0	0
20	18. Juli (Mittwoch)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	0 ccm Formalin	0 ccm Wasser	Nach 1 Tag	+	+	+	+	+	+
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+
					, 6 ,	0	0	0	0	0	0
21	19. Juli (Donnerstag)	Ohne Wind	300 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	+	0	+
					, 3 ,	0	0	0	+	0	+
					, 5 ,	0	0	0	+	0	+

boden		Kopfhöhe				Decke		Temperatur			RelFeucht		Bemerkungen			
An der Thür	4'	Hinter Vorhang	3'	Vordem Vorhang	2'	An der Thür	5'	6'	Anfang	Ende	Maximum	Anfang		Ende	Maximum	
4'	3'	2'	2'	5'	5'	6'	6'	Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende		Maximum		
0	?	0	+	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 8 von 16 Fällen (50/100). Von 11 Fliegen blieben 6 am Leben; 1 Motte tot.	
+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 13 von 16 Fällen (81/100). Von 17 Fliegen blieben 5 am Leben (leben auch nächsten Morgen noch); 4 Wanzen blieben am Leben (leben auch nächsten Morgen noch).	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 8 von 16 Fällen (50/100). Von 2 Fliegen, andere als gestern, bleibt eine am Leben; 4 Wanzen, dieselben wie gestern, blieben am Leben.	
0	0	+	0	+	+	+	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	+	0	+	+	+	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	+	0	+	+	+	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 11 von 16 Fällen (69/100). Von 8 Fliegen bleibt keine am Leben; 4 Wanzen, dieselben wie vorher, blieben am Leben, 3 neue Wanzen blieben ebenfalls am Leben.	
0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 12 von 16 Fällen (75/100). Die 7 bisherigen Wanzen blieben am Leben.	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 15 von 16 Fällen (94/100). Die 7 bisherigen Wanzen blieben am Leben. Zwei Schmetterlinge, Kohlweissling u. Mauerfuchs, fliegen am Schluss des Versuchs haushoch zum Fenster hinaus.	
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	Desinfektion wirksam in 16 von 16 Fällen (100/100). Desodorierung, wie schon in Versuch 18, mit 200 g Ammoniumkarbonat, es riecht jedoch am Mittwoch Vormittag noch etwas nach Formalin.	
+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	25.5	26.0	26.0	45	44		45
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—		—
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—		—
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25.7	27.2	30.0	45	66	79	Desinfektion wirksam in 13 von 16 Fällen (81/100). 1 Floh u. 1 Käfer blieben am Leben, doch Motllität gestört. Desodorierung wirksam mit 300 g Ammon. carbonic.
0	0	0	?	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	
0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen	Fufs-					
						Am Fenster		Unweit Fen- sters		Mitte Zim- mers	
						1	1'	8	8'	7	7'
22	20. Juli (Freitag)	Ohne Wind	200 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	+	+	+
					„ 3 „	0	0	0	+	+	+
					„ 5 „	0	0	0	+	+	+
23	23. Juli (Montag)	Ohne Wind	100 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	
					nach 2 Tagen	+	+	+	0	+	?
					„ 3 „	+	+	+	0	+	+
					„ 5 „	+	+	+	0	+	+
24	24. Juli (Dienstag)	Ohne Wind	50 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	+	+	+	+	+	
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+
25	25. Juli (Mittwoch)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	50 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	+	+	+	+	+	
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+
26	26. Juli (Donnerstag)	Ohne Wind	50 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	
					„ 3 „	+	+	+	+	+	+
27	27. Juli (Freitag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	50 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	
					„ 3 „	+	+	+	+	+	+
28	30. Juli (Montag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	300 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	0
					„ 3 „	0	0	0	0	0	0
					„ 5 „	0	0	0	0	0	0
29	31. Juli (Dienstag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	200 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	0	0
					„ 3 „	0	0	0	0	0	0
					„ 5 „	0	0	0	0	0	0
30	1. August (Mittwoch)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	100 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+
31	2. August (Donnerstag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	200 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	+
					„ 3 „	+	+	+	+	+	+
					„ 5 „	+	+	+	+	+	+

boden		Kopfhöhe				Decke		Temperatur			Rel. Feucht		Bemerkungen	
An der Thür	Hinter Vorhang	Vordem Vorhang	An der Thür	An der Decke	Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum				
4'	3'	2'	5'	6'										
0	0	0	0	0	0	0	0	26,8	28,3	31,9	45	66	79	Desinfektion wirksam in 11 von 16 Fällen (69/100). Desodorierung wie gestern mit 300 g Ammon. carbonic., 4x75 Ol. Lavand.; Spiritsverbrauch 4x(100.)
0	0	+	0	+	0	0	0							
0	0	+	0	+	0	0	0							
0	0	+	0	+	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	26,8	27,4	31,2	58	74	77	Desinfektion wirksam in 9 von 16 Fällen (56/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic., wie zuvor. Am nächsten Morgen ist ein schwacher, nicht unangenehmer Lavendolgeruch bemerkbar.
+	0	0	0	0	0	0	0							
+	0	0	0	0	0	0	0							
+	0	0	0	0	0	0	0							
+	+	+	+	+	+	+	+	25,9	26,9	30,2	60	73	78	Desinfektion wirksam in 0 von 16 Fällen (0/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.; nächsten Morgen kein Geruch nach F., auch nicht nach NH <sub>3</sub> , nur schwach nach Lavendelöl.
+	+	+	+	+	+	+	+							
+	+	+	+	+	+	+	+	26,0	28,0	30,9	51	76	79	Desinfektion wirksam in 0 von 16 Fällen (0/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
+	+	+	+	+	+	+	+							
+	+	+	+	+	+	+	+	27,8	28,8	30,9	60	74	80	Desinfektion wirksam in 0 von 16 Fällen (0/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
+	+	+	+	+	+	+	+							
+	+	+	+	+	+	+	+	26,1	30,0	31,7	52	70	76	Desinfektion wirksam in 0 von 16 Fällen (0/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
+	+	+	+	+	+	+	+							
0	0	0	0	0	0	0	0	26,0	27,7	30,5	53	71	79	Desinfektion wirksam in 16 von 16 Fällen (100/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
0	0	0	0	0	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	24,5	26,3	30,1	50	64	76	Desinfektion wirksam in 14 von 16 Fällen (88/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
0	0	0	+	+	0	0	0							
0	0	0	+	+	0	0	0							
0	0	0	+	+	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	24,0	26,7	30,0	46	66	74	Desinfektion wirksam in 0 von 16 Fällen (0/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
+	+	+	+	+	0	+	+							
+	+	+	+	+	+	+	+							
0	0	0	0	0	0	0	0	24,8	24,9	26,6	54	72	81	Desinfektion wirksam in 5 von 16 Fällen (31/100). 1 Floh ist tot; 2 Schmetterlinge, Pflanzennage und Nachtfalter, sind munter. Desodorierung wie zuvor.
+	+	+	+	0	0	+	0							
+	+	+	+	0	0	+	0							
+	+	+	+	0	0	+	0							



Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	For- malin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen	Fuß-					
						Am Fenster		Unweit Fen- sters		Mitte Zim- mers	
						1	1'	8	8'	7	7'
32	3. August (Freitag)	Ohne Wind	200 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	+	+
					„ 3 „	0	0	0	0	+	+
					„ 5 „	0	0	0	0	+	+
33	4. August (Sonnabend)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	200 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	0
					nach 2 Tagen	+	+	+	+	+	0
					„ 3 „	+	+	+	+	+	+
					„ 5 „	+	+	+	+	+	+
34	6. August (Montag)	Ohne Wind	300 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tag	0	0	0	0	0	?
					nach 2 Tagen	0	0	0	0	+	+
					„ 3 „	0	0	0	0	+	+
					„ 5 „	0	0	0	0	+	+

In den Versuchen 8—34 wurden kleinere Formalinmengen, nämlich 50 bis 500 ccm des 40 proz. Formalins, das sind 20 bis 200 g Formaldehyd auf die rund 110 cdm Luft-raum probiert; das macht pro cdm 0,45 bis 4,5 ccm Formalin oder 0,18 bis 1,8 g Formaldehyd. Nr. 20 ist als blinder Versuch eingeschoben und zeigt, daß die vom vorhergehenden Versuch zurückgebliebenen Spuren von Formaldehyd zu geringfügig waren, um eine desinfektorische Wirkung auszuüben, obgleich ein deutlicher Formalingeruch vorhanden war.

In den Versuchen von Nr. 8 ab erfolgte die Verdampfung der Flüssigkeit, auf 4 Portionen verteilt, in 4 (Emaile-) Töpfen mittels untergestellter 4 Spiritus-Vergasungs-brenner. Die Spiritusmenge wurde so bemessen, daß die Flamme schließlic noch kurze Zeit unter dem leeren Topf brannte; hierzu waren im allgemeinen 180 ccm auf höchstens je 625 ccm der zu verdampfenden Flüssigkeit erforderlich. In Nr. 8 kamen z. B.  $4 \times 180$  ccm Spiritus auf  $4 \times 375$  Wasser und  $4 \times 125$  Formalin. Stets wurde erst das Wasser zum Kochen gebracht, dann das Formalin zugegeben, und die Anfangszeit des Versuchs von da ab gerechnet, nachdem die Formalinlösung unter Schäumen zu kochen begonnen hatte, und nächst dem die Thür geschlossen und verklebt wurde; nach 32, bezw. 38, 39, 42 Minuten war in Versuch 8 alle Flüssigkeit verdampft und die Flammen erloschen nach 44, 49, 51, 57 Minuten, ähnlich in den übrigen Versuchen. Zur Desodorierung wurde von Nr. 16 ab in denselben Töpfen am Schlufs der Desinfektion mittels derselben Brenner Ammoniumcarbonat in  $\text{NH}_3$  und  $\text{CO}_2$  zerlegt; meistens kamen unter Zugabe von  $4 \times 2$  bis  $4 \times 5$  g Lavendelöl  $4 \times 75 = 300$  g Ammoniumcarbonat mittels  $4 \times 100$  ccm Spiritus zur Verdampfung.

Von Nr. 20 ab wurden Temperatur und relative Feuchtigkeit der Luft in Kopfhöhe durch das Guckfensterchen beobachtet, in der Regel während der ersten Hälfte des Versuchs alle fünf Minuten und nachher viertelstündlich. Stets veränderten

boden		Kopfhöhe				Decke		Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen	
An der Thür	Hinter Vorhang	Vordem Vorhang		An der Thür	An der Decke	Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum				
4	4'	3	3'	2	2'	5	5'	6	6'						
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23,9	28,0	28,6	53	53	Desinfektion wirksam in 12 von 16 Fällen (75/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
+	+	0	0	0	0	0	0	0	0						
+	+	0	0	0	0	0	0	0	0						
+	+	0	0	0	0	0	0	0	0						
0	0	0	+	+	+	0	0	0	0	24,0	28,3	28,3	58	50	Desinfektion wirksam in 5 von 16 Fällen (31/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
+	+	0	+	+	+	0	0	0	0						
+	+	0	+	+	+	0	0	0	0						
+	+	0	+	+	+	0	0	0	0						
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22,1	23,2	27,2	51	73	Desinfektion wirksam in 11 von 16 Fällen (69/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Ol. Lavand.
0	+	?	0	0	0	0	0	0	0						
0	+	+	0	0	+	0	0	0	0						
0	+	+	0	0	+	0	0	0	0						

sich Temperatur und relative Feuchtigkeit unter dem Einfluß der Verdampfung typisch in folgender Weise: 1. Versuche ohne Wind. a) Temperatur. Innerhalb 40—45 Minuten rascher Anstieg zum Maximum (Nr. 21, in 45 Minuten von 25,7 auf 30,0°; Nr. 22, in 40 Minuten von 26,8 auf 31,9° u. s. w.), dann langsamer stetiger Abfall bis Schlufs (Nr. 21 am Schlufs 27,2°, Nr. 22 am Schlufs 28,3°). b) Relative Feuchtigkeit. Innerhalb 25—30 Minuten sehr rascher Anstieg zu einem Maximum (Nr. 21 in 30 Minuten von 45 auf 79%; Nr. 22 in 25 Minuten von 45 auf 79%), innerhalb weiterer 25—30 Minuten stetiger Abfall (Nr. 21 nach 55 Minuten 70%, Nr. 22 nach 55 Minuten 68%), alsdann innerhalb weiterer 50 Minuten wieder allmählicher Anstieg zu einem zweiten, jedoch weniger hohen Maximum (Nr. 21 nach 105 Minuten 74%, Nr. 22 nach 105 Minuten 72%), und im weiteren Verlauf wieder langsamer Abfall (Nr. 21 am Schlufs 66%, Nr. 22 am Schlufs 66% u. s. w.). 2. Versuche mit Wind, der 1 Stunde nach Beginn eingeschaltet wird. a) Temperatur. Mit Einsetzen des Windes verläuft die Temperaturkurve concav nach unten, und bereits von 30 bzw. 90 Minuten ab annähernd als gerade Linie weiter bis zum Schlufs des Versuchs (Nr. 25 Anfang 26,0°, nach 45 Minuten 30,9° als Maximum, nach 60 Minuten 29,6°, nach 65 Minuten 28,8°, nach 75 Minuten 28,2°, nach 90 Minuten 28,0°, Schlufs 28,0°). b) Relative Feuchtigkeit. Innerhalb der zweiten Stunde Anstieg zu einem zweiten, noch höheren Maximum, sonst wie ohne Wind, vgl. 1b (Nr. 25 Anfang 51%, nach 25 Minuten 79% erstes Maximum, nach 45 Minuten 75%, nach 105 Minuten 83% zweites Maximum, Schlufs d. i. nach 210 Minuten 76%; genau analog auch sonst, z. B. Versuch 27, 28, 29 u. s. w.).

In mehreren Versuchen wurden ausserdem Temperatur und relative Feuchtigkeit, mittels selbstregistrierender Instrumente an der Decke und auf dem Fussboden aufgeschrieben; an Decke in Nr. 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 39, 40, 41; auf dem Fussboden in Nr. 42, 43, 44, 45, 47, 48, 49, 50, 51 (gleichzeitige Aufzeichnungen oben und unten konnten nicht gemacht werden, da die

Instrumente nur in je einem Exemplar vorhanden waren). Aus den so gewonnenen Kurven ist folgendes ersichtlich: Die Decken-Temperatur fällt nach Einsetzen des Windes rascher ab als bei ausbleibendem Wind, und die relative Luftfeuchtigkeit an der Decke steigt gleichzeitig, wesentlich höher an. Die Temperatur der Fußbodenluft dagegen erreicht rascher nach Einsetzen des Windes als bei ausbleibendem Wind ein höheres Maximum, die höhere Temperatur hält etwa eine Stunde an. Die Feuchtigkeitskurve des windfreien Versuchs auf dem Fußboden verläuft zunächst in den ersten 60 Minuten, infolge der Verdampfung, konvex nach oben, flacht sich dann vorübergehend ab (60ste bis 90ste Minute fast horizontal!), steigt wiederum bis zum Schluß konvex an, wobei die Prozentzunahmen in der Zeiteinheit immer kleiner werden; auf den ersten Blick bietet sie das Bild einer regelmäßigen konvexen Linie, bei näherem Zusehen erkennt man in der Mitte eine kleine Abflachung. Die entsprechende Fußbodenkurve für die relative Feuchtigkeit im Windversuch dagegen steigt ganz im Gegenteil sofort

Tabelle I. Abteilung IV  
Feuchte Sommerversuche. Kleine Formalin-

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalinmenge	Wassermenge	Wachstum nach Tagen	Platz 1, Fußboden am Fenster			Platz 7, Fußboden in Mitte Zimmers			Platz 8, Fußboden unweit Fensters			Platz 9, Fußboden unter Bett						
						Typhus	Milzbr.	Diphth.	Staph.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Staph.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Staph.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Staph.
35	11. Aug. (Sonntag)	Ohne Wind	300 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tg.	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0
					» 3 »	0	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0
					» 6 »	0	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0
36	13. Aug. (Montag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	300 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tg.	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0
					» 3 »	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0
					» 6 »	0	0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0	0	+	0	0
37	15. Aug. (Mittwoch)	Ohne Wind	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tg.	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—
					» 3 »	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—
					» 6 »	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—
38	16. Aug. (Donnerstag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tg.	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—
					» 3 »	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—
					» 6 »	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—	—	0	—	—

Von Versuch 35 ab (11. August 1900) ist das bisher unmöblierte Zimmer reichlich möbliert. Im Versuch 35 und 36 wurden neben Milzbrand auch Typhus, Diphtherie und Staphylococcus ausgelegt. 300 ccm Formalin auf 110 cbm Luftraum genügten bei mäßig hoher, sommerlicher Lufttemperatur zur Abtötung von Typh., Diphth. und Staph. an allen, oder vielmehr so gut wie allen Plätzen; Anthrax dagegen wurde fast nirgends, an keinem einzigen Platz in der unteren Zimmer.

bei Einsetzen des Windes fast senkrecht an und erreicht schon nach fünf Minuten ihre maximale Höhe, verläuft dann horizontal bis zum Schluß der Desinfektion.

Hinsichtlich des selbstrotierenden Ventilators (Fig. 2, S. 176) sei hier nachgetragen: Der untere Teil von Fig. 2, ein verstellbarer Tisch, hat bei der photographischen Aufnahme als Ständer gedient und ist versenktlich mit auf die Abbildung gekommen. Wesentlich sind: Das auf einem Brett montierte Uhrwerk, welches Uhrwerk den auf die runde Scheibe aufgeschraubten Ventilator trägt; links neben dem Uhrwerk ist ein Schleifkontakt zu sehen. Der für die Versuche verwendete, in dem kugelförmigen Gehäuse geborgene elektrische Motor war für 100 Volt, die Spannung der Berliner Hausleitung, gewickelt. Für die Zwecke der Desinfektions-Praxis eignen sich im allgemeinen mehr solche Apparate, welche für Accumulatoren-Betrieb bestimmt, also etwa für 10—12 Volt gewickelt sind und ebenfalls Vorzügliches leisten, wie sich der Eine von uns in zahlreichen Versuchen überzeugt hat. (A. a. O. S. 104 u. 588 ff.)

**Versuche Nr. 35—38.**

**mengen. Verschiedene Infektionserreger.**

Platz 10, Fußboden unter Nachtisch			Platz 11, Auf dem Bett			Platz 12, In Schub- ladenfach des Nach- tisches			Platz 13, In Schub- lade des Tisches			Platz 14, Auf einer Wand- konsole			Platz 15, Auf einem Schränk			Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen		
Anfang			Ende			Maximum			Anfang			Ende			Maximum											
Typhus	Milzbr.	Diphth.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Typhus	Milzbr.	Diphth.	Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum			
0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	20,7	21,3	24,4	66	80	89	Desinfektion wirk- sam in 21 von 40 Fällen (78/100). Desodorierung mit 300g Ammon. carbonic. u. 10 g Ol. Lavand.
0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0							
0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0							
0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	20,2	21,3	24,2	63	83	89	Desinfektion wirk- sam in 33 von 40 Fällen (83/100). 1 Schmetterling, Pflaumenauge, bleibt leben. Des- odorierung wie zuvor.
0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0							
0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0							
—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	19,4	20,8	—	72	93	—	Desinfektion wirk- sam in allen Fällen (100/100). Desodorierung mit 300g Ammon. carbonic. u. 10 g Ol. Lavand.
—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20,8	22,0	23,0	72	93	94	Desinfektion wirk- sam in "allen" Fällen (100/100). Desodorierung mit 300g Ammon. carbonic. u. 10 g Ol. Lavand.
—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							
—	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—							

hälfte abgetötet. Eine sichere Abtötung des letzteren, in ausnahmslos allen Fällen, wurde in Nr. 37 und 38 durch 1000 ccm Formalin erreicht; selbstverständlich wären dabei auch jene ersteren Infektionserreger ausnahmslos abgetötet worden, ihre Auslage erschien entbehrlich.

Die Wirksamkeit der Desinfektion, nur auf Milzbrand bezogen, wie in den vorausgehenden und folgenden Versuchen, betrug 20/100 in Nr. 35 (ohne Wind), und 30/100 in Nr. 36 (mit Wind)

Tabelle I. Abteilung V.  
Feuchte Winterversuche. Ungeheiztes Zimmer.

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	For- malin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen :	Fußboden am Fenster	Mitte des Fußbodens	Fußbod. unweit Fenster	Unter Bett	Unter Nachttisch	Auf Bett	In Nachttisch-Schubl.	In Tischschublade	Auf Wandkonsole	Auf Kleiderschrank	Unter Bett	Unter Bett	
						1	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
39	16. Okt. (Dienstag)	Ohne Wind	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	0	0	0	+	0	0	+	0	0	0	—	—	
			Formalin	Wasser	> 3 >	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	—	—	
					> 6 >	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	—	—	
40	17. Okt. (Mittwoch)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	0	0	0	0	0	0	?	0	0	0	—	—	
			Formalin	Wasser	> 3 >	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	—	—	
					> 6 >	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	—	—	
41	18. Okt. (Donnerstag)	Ohne Wind	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	—	—	
			Formalin	Wasser	> 3 >	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	—	—	
					> 6 >	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	—	—	
42	19. Okt. (Freitag)	Ohne Wind	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	+	
			Formalin	Wasser	3 >	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+
					> 6 >	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	+
43	20. Okt. (Sonntag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	0	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0	+	
			Formalin	Wasser	> 3 >	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+
					> 6 >	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0	0	0	+
44	1. Novbr. (Donnerstag)	Ohne Wind	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+	
			Formalin	Wasser	> 3 >	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+
					> 6 >	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	0	0	+
45	3. Novbr. (Sonntag)	Mit Wind, nach vier Richtungen abwechselnd	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	
			Formalin	Wasser	> 3 >	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	
					> 6 >	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	
46	9. Novbr. (Freitag)	Ohne Wind	1000 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	
			Formalin	Wasser	> 3 >	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
					> 6 >	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+
47	10. Nov. (Sonntag)	Mit Wind nach allen Richtungen	750 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
			Formalin	Wasser	> 3 >	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
					> 6 >	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
48	13. Nov. (Dienstag)	Mit Wind nach allen Richtungen	500 ccm	1500 ccm	Nach 2Tg.	0	0	0	0	0	—	0	+	+	+	+	+	
			Formalin	Wasser	> 3 >	0	+	0	+	—	0	+	+	+	+	+	+	+
					> 7 >	0	+	0	0	—	0	+	+	+	+	+	+	+

Versuche Nr. 39—63.

Wechselnde Formalmengen. Testobjekte: Milzbrand.

Unter Bett	Unter Bett	Auf Nachttisch	Im Nachttisch, oben	Im Nachttisch, unten	In Tischschubl., hinten	Unter dem Tisch	Unter dem Sehrank	Im Sehrank, unten	Im Sehrank, oben	Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen
										Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum	
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27							
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	13,3	14,0	17,9	65	90	94	Desinfektion wirksam in 6 von 10 Fällen (60/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand.
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,8	14,2	17,0	71	94	100	Desinfektion wirksam in 9 von 10 Fällen (90/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand. Nachdem die Formalinverdampfung fast zu Ende (45 Min.), tritt Nebel auf, der etwa 20 Minuten anhält.
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	12,7	13,2	16,1	70	93	99	Desinfektion wirksam in 3 von 10 Fällen (30/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand. Heute kein Nebel.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	11,8	12,8	14,0	73	94	100	Desinfektion wirksam in 4 von 22 Fällen (18/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand.
+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	11,3	12,7	14,2	65	96	100	Desinfektion wirksam in 7 von 22 Fällen (32/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand. Drehvorrichtung versagt, infolge Festhaltens der Schnur, mühten im Versuch (vgl. Bemerk. zu Tab. I, Abt. II).
+	0	+	+	+	+	+	+	+	+	10,4	11,8	13,8	76	96	99	Desinfektion wirksam in 2 von 22 Fällen (9/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand.
+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	9,0	11,0	—	70	82	—	Desinfektion wirksam in 4 von 22 Fällen (18/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand. Drehvorrichtung versagt nochmals, wie in Nr. 45; daher von Nr. 47 ab durch einen vollkommenen Mechanismus ersetzt (vgl. Bemerk. zu Tab. I, Abt. II).
0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	8,0	11,2	11,5	72	83	100	Desinfektion wirksam in 12 von 22 Fällen (55/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. u. 10 g Öl. Lavand. Nach 35 Minuten Nebel, der über ¼ Stunde anhält.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10,0	11,2	12,8	79	98	99	Desinfektion wirksam in 20 von 22 Fällen (91/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Öl. Lavand. Kein Nebel. Erstmals selbstrotierender Ventilator benutzt.
0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	9,0	10,2	10,8	77	96	96	Desinfektion wirksam in 5 von 21 Fällen (24/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic. und 10 g Öl. Lavand.

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalin- menge	Wasser- menge	Milzbrand nach Tagen:	Fußboden am Fenster	Mitte des Fußbodens	Eufbod. unweit Fenst.	Unter Bett	Unter Nachttisch	Auf Bett	In Nachttisch-Schubl.	In Tischschublade	Auf Wandkonsole	Auf Kiehlerschränk	Unter Bett	Unter Bett
						1	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
49	15. Nov. (Don- nerstag)	Ohne Wind	750 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	+	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0	+
					» 3 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50	16. Nov. (Freitag)	Ohne Wind	750 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+
					» 3 »	+	+	+	+	+	+	0	+	0	0	0	0
51	17. Nov. (Sonn- abend)	Mit Wind nach allen Richtungen	900 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
					» 3 »	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	19. Nov. Montag	Mit Wind nach allen Richtungen	900 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
					» 3 »	0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
53	20. Nov. (Diens- tag)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
					» 3 »	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
54	22. Nov. (Don- nerstag)	Ohne Wind	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
					» 3 »	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0
55	26. Nov. Montag	Ohne Wind	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg.	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+
					» 2 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0
56	28. Nov. (Mitt- woch)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
					» 2 »	0	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0
57	29. Nov. (Don- nerstag)	Ohne Wind	1500 cem Formalin	2250 cem Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	+
					» 2 »	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	0

Unter Bett	Unter Bett	Auf Nachttisch	Im Nachttisch, oben	Im Nachttisch, unten	In Tischschubl., hinten	Unter dem Tisch	Unter dem Schrank	Im Schrank, unten	Im Schrank, oben	Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen
										Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum	
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27							
+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	8,5	9,2	—	88	100	100	Desinfektion wirksam in 5 von 22 Fällen (23/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic und 10 g Ol. Lavand.
+	+	0	+	+	+	+	+	+	0							
+	+	0	+	+	+	+	+	+	0							
+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	8,3	9,8	—	94	100	100	Desinfektion wirksam in 6 von 22 Fällen (27/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic und 10 g Ol. Lavand.
+	+	0	+	+	+	+	+	+	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,3	10,0	14,4	89	100	100	Desinfektion wirksam in 21 von 22 Fällen (95/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic und 10 g Ol. Lavand. Nach 15 Minuten ¼ Stunde lang Nebel; 30 Minuten nach Beginn des Versuchs undurchdringlicher Nebel.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,7	—	—	94	—	—	Desinfektion wirksam in 20 von 22 Fällen (91/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic und 10 g Ol. Lavand.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,7	10,2	17,0	96	100	100	Desinfektion wirksam in 21 von 22 Fällen (95/100). Desodorierung mit 300 g Ammon. carbonic und 60 g «Coniferenduft» (Flasche 3 Mk.) jedoch am nächsten Morgen Geruch nach Formalin bemerkbar
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0							
+	0	0	0	+	+	+	+	+	0	9,2	10,2	15,0	100	100	100	Desinfektion wirksam in 13 von 22 Fällen (59/100). Desodorierung mit 600 g Ammon. carbonic und 100 g «Coniferenduft» erweist sich als unvollkommen, am nächsten Morgen so starker Formalingeruch, daß kein Versuch begonnen wird
+	0	0	0	+	+	+	+	+	0							
+	0	0	0	+	+	+	+	+	0							
+	0	0	0	+	+	+	+	+	0	8,4	9,0	11,5	100	100	100	Desinfektion wirksam in 2 von 22 Fällen (9/100). Kein Geruch nach Formalin zu Beginn des Versuchs. Flüßges Apparat, innerhalb aufgestellt, Desinfektion: 1000 Formalin + 1500 Wasser; 600 Spiritus. Desodorierung: 750 ccm 25 proz. NH <sub>3</sub> -Lösung; 75 Spiritus. Im Desinfektionsapparat blieben 95 ccm flüssiger Rückstand: Flamme nach 41 Minuten erloschen
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,0	—	12,8	95	—	100	Desinfektion wirksam in 12 von 22 Fällen (55/100). Flüßges Apparat, innerhalb aufgestellt, Desinfektion 1000 Formalin + 1500 Wasser; 700 Spiritus. Kein Rückstand. Wirksame Desodorierung mit 600 Ammon. carbonic und 10 g Ol. Lavand. Ende der Formalindampfung nach 50 Minuten, Erlöschen der Flamme nach 51 Minuten.
+	0	0	+	+	+	+	+	+	0							
+	0	0	+	+	+	+	+	+	0							
+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	7,7	8,6	12,3	95	100	100	Desinfektion wirksam in 9 von 22 Fällen (41/100). Flüßges Apparat, innerhalb aufgestellt; 1500 Formalin + 2250 Wasser; 1050 Spiritus. Desodorierung mit 1000 g Ammon. carbonic und 20 g Ol. Lavand. Das Formalin fängt gegen Schluss der Verdampfung Feuer, und der ganze Apparat steht einige Minuten hoch in Flammen.
+	+	0	+	+	0	+	+	+	0							
+	+	0	+	+	0	+	+	+	0							



Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalin- menge	Wasser- menge	Miltbrand nach Tagen:	Fufsboden am Fenster																							
						Mitte des Fufsbodens			Fufsbod. unweit Fenst.			Unter Bett		Unter Nachttisch		Auf Bett		In Nachttisch-schubl.		In Tischschublade		Auf Wandkonsole		Auf Klederschrank		Unter Bett		Unter Bett	
						1	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	1	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
58	30. Nov. (Freitag)	Mit Wind nach allen Richtungen	1500 cem Formalin	2250 cem Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					, 2 ,	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					, 3 ,	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
59	1. Dezbr. (Sonn- abend)	Mit Wind nach allen Richtungen	1500 cem Formalin	2250 cem Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					, 2 ,	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					, 7 ,	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
60	3. Dezbr. Montag	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0			
					, 5 ,	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
					, 7 ,	0	+	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
61	4. Dezbr. (Dien- stag)	Ohne Wind	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 3 Tg.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+			
					, 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	
					, 7 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+
62	8. Dezbr. (Sonn- abend)	Ohne Wind	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	+			
					, 3 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	
					, 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+
63	10. Dezbr. (Montag)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+	+	+	+			
					, 2 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
					, 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Der Flüggesche Apparat wurde benutzt in den Versuchen Nr. 55 (ohne Wind), 56 (mit Wind), 57 (ohne Wind), 58 (mit Wind), 59 (mit Wind), 60 (mit Wind), 70 (ohne Wind), 74 (ohne Wind). Dabei geriet er am Schluss der Formaldehydentwicklung gewöhnlich in Flammen, und zwar fast regelmässig dann, wenn die Spiritusmenge so reichlich bemessen wurde, daß sämtliches Formalin hätte ohne Rückstand verdampft werden können. In Nr. 55 z. B. wurden nach Flügges Vorschrift 600 cem Spiritus in den Brenner eingefüllt, aber nach dem Erlöschen der Flamme verblieben 95 cem Formalinlösung im Kessel; die Flüggesche Vorschrift rechnet offenbar mit einer höheren Anfangstemperatur der Formalin-Wasser-Mischung als ca. 8° wie in Nr. 55; auf eine etwaige minderwertige Qualität des verwendeten Spiritus ist der Rückstand sicherlich nicht zurückzuführen, da stets 96 proz., nicht denaturierter Alkohol verwendet wurde, während Flügge in seinen Tabellen (Schrift 1900, S. 14 und 15) nur 86 proz. Spiritus vorschreibt.

Unter Bett	Unter Bett	Auf Nachttisch	Im Nachtsch, oben	Im Nachtsch, unten	In Tischschubl., hinten	Unter dem Tisch	Unter dem Schrank	Im Schrank, unten	Im Schrank, oben	Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen
										Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum	
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27							
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8,0	—	14,6	94	—	100	Desinfektion wirksam in 19 von 22 Fällen (86/100). Flüßiges Apparat, innerhalb aufgestellt. 1500 Formalin + 2250 Wasser; 1050 Spiritus Desodorierung wie gestern, Spiritusverbrauch 4 × 100. Auch heute steht gegen das Ende der Verdampfung (nach 70 Minuten, gestern nach 75) der ganze Apparat in Flammen.
0	0	0	0	+	0	0	0	+	0	8,0	8,5	10,6	95	100	100	Desinfektion wirksam in 22 von 22 Fällen (100/100). Flüßiges Apparat, außerhalb aufgestellt. Formalin, Wasser und Spiritus wie gestern. Desodorierung wie gestern, mit 1000 g Amm. carb. und 20 Ol. Lav. Nach 68 Minuten wird der Apparat in Flammen stehend vorgefunden.
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7,1	7,8	8,7	—	70	99	Desinfektion wirksam in 11 von 22 Fällen (50/100). Flüßiges Apparat, außerhalb aufgestellt. 1000 Formalin + 1500 Wasser, 700 Spiritus, wie in Nr. 56. Desodorierung mit 800 Amm. carb. und 15 Ol. Lav. Nach 49 Minuten gerät der Apparat hoch in Flammen (in Nr. 56, vergleichbarem Versuch, war die Verdampfung regulär nach 50 Minuten beendet).
+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	7,8	—	13,2	80	—	90?	Desinfektion wirksam in 3 von 22 Fällen (14/100). Desodorierung wirksam mit 800 g Ammon. carbonic. (4 × 200 Ammon. carbonic., 4 × 6 Ol. Lavand.; Spiritusverbrauch 4 × 100.) Nach 30 Minuten starker Nebel, nach weiteren 15 Minuten keine Spur mehr von Nebel.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6,1	—	12,0	90	—	95?	Desinfektion wirksam in 1 von 22 Fällen (5/100). Desodorierung mit 800 g Ammon carbonic u. 20 g Ol. Lavand., wie zuvor, sicher ausreichend; am nächsten Morgen keine Spur von Formalingeruch. Schon nach 15 Min. Nebel.
+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	6,0	—	11,5	85	—	95?	Desinfektion wirksam in 1 von 22 Fällen (5/100). Desodorierung mit 800 g Ammon. carbonic. u. 20 g Ol. Lavand. Nebel zu Anfang, wie sonst.

In dem darauffolgenden Versuch Nr. 56 (mit Wind) wurde durch 700 ccm Spiritus eine völlige Verdampfung der gleichen Formalin-Wasser-Menge wie zuvor unter im übrigen gleichen Umständen erreicht. In Nr. 60 (mit Wind) kamen ebenfalls 700 ccm Spiritus zur Verbrennung, doch fing der Apparat gegen Schluss der Verdampfung Feuer. (Der künstliche Wind ist belanglos für das Feuerfangen, weil er stets erst nach Erlöschen der Flamme eingeschaltet wurde, überdies war in Nr. 60 der Apparat außen aufgestellt.) Für Nr. 57, 1500 + 2250 zu verdampfende Flüssigkeit, schreibt die Flüßigesche Tabelle vor, 950 ccm Spiritus einzufüllen; die vorhergehenden Erfahrungen ließen dabei einen Rückstand nicht ausgeschlossen erscheinen, es wurden daher 1050 statt 950 Spiritus eingefüllt, jedoch mit dem Erfolg, daß der Apparat am Schluss der Verdampfung in Flammen geriet, wie auch in Nr. 58, 59, 60, vielleicht auch in Nr. 70 und 74, wo wir vermutlich (Notizen hierüber fehlen) dem Feuerfangen des Apparats als einem gewohnten Umstand

keine solche Beachtung mehr schenkten, daß wir ein Abpassen der kritischen Minute, zumal bei einer Lufttemperatur von mehreren Graden unter Null, für weiterhin erforderlich hielten (leider fehlt für Nr. 70 und 74 auch eine Notiz über einen ev. Rückstand). Für den Ausfall der Desinfektion dürfte es jedoch in allen diesen Versuchen gänzlich

Tabelle I. Abteilung VI.  
Feuchte Winterversuche. Zimmer zumeist geheizt.

Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	Formalinmenge	Wassermenge	Milzbrand nach Tagen:	Fußboden am Fenster	Mitte des Fußbodens	Fußbod. unweit Fenst.	Unter Bett	Unter Nachttisch	Auf Bett	In Nachttisch-Schubl.	In Tischschubbl.	Auf Wandkonsol.	Auf Kleiderschrank	Unter Bett	Unter Bett
						1	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
64	11. Dezbr. (Dienstg.)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
					» 2 »	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0	0
					» 3 »	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	0	0
65	12. Dezbr. (Mittwoch)	Ohne Wind	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tg.	0	+	+	0	0	0	0	?	+	0	0	
					» 2 »	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	
					» 3 »	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	0	
66	13. Dezbr. (Donnerstag)	Ohne Wind	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tg.	+	+	+	+	+	0	?	0	0	0	+	+
					» 2 »	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+
					» 4 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+
67	14. Dezbr. (Freitag)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tg.	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+
					» 3 »	0	?	?	+	0	0	+	0	+	0	+	+
					» 4 »	0	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+	+
68	17. Dezbr. (Montag)	Ohne Wind	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 2 Tg.	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+
					» 3 »	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	0	+
					» 5 »	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+
69	18. Dezbr. (Dienstag)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tg.	+	+	+	0	0	0	0	+	+	+	+	?
					» 2 »	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+
					» 4 »	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	+
70	19. Dezbr. (Mittwoch)	Ohne Wind	1000 ccm Formalin	1500 ccm Wasser	Nach 1 Tg.	+	+	+	+	+	?	+	+	+	+	+	+
					» 3 »	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+



Nr.	Datum 1900	Künstl. Wind?	For- malin- menge	Wasser- menge	Milz- brand nach Tagen:	Fußboden am Fenster	Mitte des Fußbodens	Fußbod. unweit Fenst.	Unter Bett	Unter Nachttisch	Auf Bett	In Nachttisch-Schubl.	In Tischschublade	Auf Wandkonsole	Auf Klederschrank	Unter Bett	Unter Bett
						1	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
71	20. Dezbr (Don- nerstag)	Mit Wind nach allen Richtungen	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 2 Tg. , 3 , , 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	0	+
72	21. Dezbr (Freitag)	Ohne Wind	1000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg. , 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
73	4. Jan. 01 (Freitag)	Ohne Wind	3000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg. , 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
74	7. Jan 01 (Montag)	Ohne Wind	3000 cem Formalin	1500 cem Wasser	Nach 1 Tg. , 5 ,	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle II. Summarische Zusammenfassung.

(Die Versuche in zeitlicher Folge.)

## Abteilung I.

## Unmöbliertes Zimmer von 110 cbm. Sämtliche Sommerversuche.

Nr.	Datum 1900	For- malin- menge	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %		
				Ruhende Luft	Bewegte Luft	
				Einseitig bewegt	Alseitig bewegt	
4	26. Juni	1500	—	100/100	—	—
5	27. „	750	—	—	—	100/100
6	28. „	1000	—	—	100/100	—
7	29. „	1000	—	100/100	—	—
8	2. Juli	500	—	33/100	—	—
9	3. „	500	—	62/100	—	—
10	4. „	400	—	—	—	100/100
11	5. „	500	—	—	94/100	—
12	6. „	500	—	—	—	100/100
13	9. „	400	—	50/100	—	—

Unter Bett	Unter Bett	Auf Nachttisch	Im Nachttisch, oben	Im Nachttisch, unten	In Tischschubl., hinten	Unter dem Tisch	Unter dem Schrank	Im Schrank, unten	Im Schrank, oben	Fußboden beim Ofen	Fußboden beim Ofen	Auf Stuhl beim Ofen	Auf Stuhl beim Ofen	Temperatur			Rel. Feucht.			Bemerkungen
														Anfang	Ende	Maximum	Anfang	Ende	Maximum	
18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	19,1	—	21,1	60	—	73	Desinfektion wirksam in 1 von 26 Fällen (4/100). Desodorierung mit 800 g Ammon. carbonic. und 20 g Ol. Lavand.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	15,0	—	—	51	—	77	Desinfektion wirksam in 0 von 26 Fällen (0/100). Desodorierung mit 800 g Ammon. carbonic. und 20 g Ol. Lavand.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	6,5	-2	-0,3	66	100	100	Desinfektion wirksam in 0 von 26 Fällen (0/100). Desodorierung mit 800 g Ammon. carbonic. und 20 g Ol. Lavand. Nach 45 Minuten besteht undurchdringlicher Nebel. Die Fenster gefrieren nicht.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	5,0	-2	-1,0	76	100	100	Desinfektion wirksam in 0 von 26 Fällen (0/100). Flügges Apparat, innerhalb aufgestellt. Kein Feuerfangen der Formaldehyddämpfe notiert. Nach 45 Minuten besteht undurchdringlicher Nebel. Die Fenster gefrieren nicht!

Nr.	Datum 1900	Formalin- menge	Mittl. Temp	Wirksamkeit % <sub>o</sub>		
				Ruhende Luft	Bewegte Luft	
					Einseitig bewegt	Allseitig bewegt
14	10. Juli	400	—	—	—	94/100
15	11. »	400	—	—	50/100	—
16	12. »	400	—	—	69/100	—
17	13. »	400	—	75/100	—	—
18	16. »	400	—	94/100	—	—
19	17. »	400	—	—	—	100/100
20	18. »	0	26°	—	—	—
21	19. »	300	27°	81/100	—	—
22	20. »	200	28°	69/100	—	—
23	23. »	100	27°	56/100	—	—
24	24. »	50	27°	0/100	—	—
25	25. »	50	28°	—	—	0/100
26	26. »	50	29°	0/100	—	—

Nr.	Datum 1900	Formalin- menge	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %		
				Ruhende Luft	Bewegte Luft	
					Einseitig bewegt	Allseitig bewegt
27	27. Juli	50	30°	—	—	0/100
28	30. „	300	28°	—	—	100/100
29	31. „	200	26°	—	—	88/100
30	1. August	100	27°	—	—	0/100
31	2. „	200	25°	—	—	31/100
32	3. „	200	28°	75/100	—	—
33	4. „	200	28°	—	—	31/100
34	6. „	300	23°	61/100	—	—

Der Versuchsraum hatte strenge genommen nicht, wie oben angegeben, 110 cbm Inhalt, sondern nur 109 (Höhe 4,75 m, Breite 3,32 m, Tiefe 6,90 m).

**Tabelle II. Abteilung II.**  
**Möbliertes Zimmer von 110 cbm. Größtenteils Winterversuche.**

Nr.	Datum 1900	Formalin- Menge	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %		
				Ruhende Luft	Bewegte Luft	
					Einseitig bewegt	Allseitig bewegt
35	11. August	300	21°	20/100	—	—
36	13. „	300	21°	—	—	30/100
37	15. „	1000	21°	100/100	—	—
38	16. „	1000	22°	—	—	100/100
39	16. Oktober	500	14°	60/100	—	—
40	17. „	500	14°	—	—	90/100
41	18. „	500	13°	30/100	—	—
42	19. „	500	13°	18/100	—	—
43	20. „	500	13°	—	—	32/100
44	1. Novbr.	500	12°	9/100	—	—
45	3. „	500	11°	—	—	18/100
46	9. „	1000	11°	55/100	—	—
47	10. „	750	11°	—	—	91/100
48	13. „	500	10°	—	—	24/100
49	15. „	750	9°	23/100	—	—
50	16. „	750	10°	27/100	—	—
51	17. „	900	10°	—	—	95/100
52	19. „	900	10°	—	—	91/100
53	20. „	1000	10°	—	—	95/100
54	22. „	1000	10°	59/100	—	—
F 55	26. „	1000	9°	9/100	—	—
F 56	28. „	1000	9°	—	—	55/100

Nr.	Datum 1900	Formalin- menge	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %		
				Ruhende Luft	Bewegte Luft	
					Einseitig bewegt	Allseitig bewegt
F 57	29. Novbr.	1500	9°	41/100	—	—
F 58	30. „	1500	9°	—	—	86/100
F 59	1. Dezbr.	1500	8°	—	—	100/100
F 60	3. „	1000	8°	—	—	50/100
61	4. „	1000	9°	14/100	—	—
62	8. „	1000	8°	5/100	—	—
63	10. „	1000	8°	—	—	5/100
64	11. „	1000	30°	—	—	65/100
65	12. „	1000	30°	19/100	—	—
66	13. „	1000	12°	4/100	—	—
67	14. „	1000	10°	—	—	23/100
68	17. „	1000	20°	12/100	—	—
69	18. „	1000	19°	—	—	15/100
F 70	19. „	1000	18°	0/100	—	—
71	20. „	1000	20°	—	—	4/100
72	21. „	1000	15°	0/100	—	—
73	4. Januar 01	3000	—3°	0/100	—	—
F 74	7. „	3000	—3°	0/100	—	—

Die Versuche mit Flüggés Apparat sind durch ein vor die Nummer des betreffenden Versuchs gesetztes »F« bezeichnet (ebenso in allen nachstehenden Tabellen).

Tabelle III.

**Einfluss bewegter Luft auf die Wirksamkeit der Desinfektion.**

(Die Versuche geordnet nach steigenden Formalinmengen.)

**Abteilung I.**

**Einseitig bewegte Luft verglichen mit ruhender Luft. (Unmößliertes Zimmer von 110 cbm.)**

Nr.	Formalin- Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Einseitig bewegte Luft
21	300	19. Juni	27°	81/100	—
34	300	6. August	23°	—	61/100
13	400	9. Juli	—	50/100	} Mittel 73/100
17	400	13. „	—	75/100	
18	400	16. „	—	94/100	
15	400	11. „	—	—	50/100
16	400	12. „	—	—	69/100
7	1000	29. Juni	—	100/100	} Mittel 100/100
4	1500	26. „	—	100/100	
6	1000	28. „	—	—	100/100



## Zusammenfassung der Mittel.

Formalin-Mengen	Verglichene Nummern	Wirksamkeit %
300	34 gegen 21	Einseitig bewegte Luft : ruhender Luft =
400	12, 16 gegen 13, 17, 18	61 : 81 = 100 : 134
1000	6 gegen 7, 4	60 : 73 = 100 : 122 100 : 100 = 100 : 100

**Tabelle III. Abteilung II.**  
**Allseitig bewegte Luft verglichen mit ruhender Luft.**  
**a) Unmöbliertes Zimmer von 110 cbm.**

Nr.	Formalin-Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
24	50	24. Juni	27°	0/100	Mittel
26	50	26. „	29°	0/100	0/100
25	50	25. „	28°	—	0/100
27	50	27. „	30°	—	0/100
} I					
23	100	23. Juni	27°	56/100	—
30	100	1. August	27°	—	0/100
22	200	20. Juli	28°	69/100	Mittel
32	200	3. August	28°	75/100	72/100
29	200	31. Juli	26°	—	88/100
31	200	2. August	25°	—	31/100
33	200	4. „	28°	—	31/100
} II					
21	300	19. Juli	27°	81/100	—
28	300	30. „	28°	—	100/100
13	400	9. Juli	—	50/100	Mittel
17	400	13. „	—	75/100	73/100
18	400	16. „	—	94/100	—
10	400	4. „	—	—	100/100
14	400	10. „	—	—	94/100
19	400	17. „	—	—	100/100
} III					
8	500	2. Juli	—	33/100	Mittel
9	500	3. „	—	62/100	48/100
11	500	5. „	—	—	94/100
12	500	6. „	—	—	100/100
} Mittel					
7	1000	29. Juni	—	100/100	100/100
4	1500	26. „	—	100/100	—
5	750	27. „	—	—	100/100

Zusammenfassung der Mittel.

Formalin-Mengen	Verglichene Nummern	Wirksamkeit %
		Allseitig bewegte Luft : ruhender Luft =
50	25, 27 gegen 24, 26	0 : 0 = 100 : 100
100	30 gegen 23	0 : 56 = 0 : 100
200	29, 31, 33 gegen 22, 32	50 : 72 = 100 : 144
300	28 gegen 21	100 : 81 = 100 : 81
400	10, 14, 19 gegen 13, 17, 18	98 : 73 = 100 : 74
500	11, 12 gegen 8, 9	97 : 48 = 100 : 49
750 : 1250	5 gegen 4, 7	100 : 100 = 100 : 100

Tabelle III. Abteilung II.  
b) Möbliertes Zimmer von 110 cbm.

Nr.	Formalin-Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
35	300	11. August	21°	20/100	—
36	300	13. „	21°	—	30/100
39	500	16. Oktober	14°	60/100	—
41	500	18. „	13°	30/100	—
42	500	19. „	13°	18/100	—
44	500	1. Novbr.	12°	9/100	—
40	500	17. Oktober	14°	—	90/100
43	500	20. „	13°	—	32/100
45	500	3. Novbr.	11°	—	18/100
48	500	13. „	10°	—	24/100
46	1000	9. Novbr.	11°	55/100	—
54	1000	22. „	10°	59/100	—
F 55	1000	26. „	9°	9/100	—
61	1000	4. Dezbr.	9°	14/100	—
62	1000	8. „	8°	5/100	—
65	1000	12. „	30°	19/100	—
66	1000	13. „	12°	4/100	—
68	1000	17. „	20°	12/100	—
F 70	1000	19. „	18°	0/100	—
72	1000	21. „	15°	0/100	—
51	900	17. Novbr.	10°	—	95/100
52	900	19. „	10°	—	91/100
53	1000	20. „	10°	—	95/100
F 56	1000	28. „	9°	—	55/100
F 60	1000	3. Dezbr.	8°	—	50/100

1) Hierzu gehören auch die 5 nächsten umstehenden Versuche.

Nr.	Formalin-Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
63	1000	10. Dezbr.	8°	—	5/100
64	1000	11. „	30°	—	65/100
67	1000	14. „	10°	—	23/100
69	1000	18. „	19°	—	15/100
71	1000	20. „	20°	—	4/100
F 57	1500	29. Novbr.	9°	41/100	—
F 58	1500	30. „	9°	—	86/100
F 59	1500	1. Dezbr.	8°	—	100/100

Mittel <sup>1)</sup>  
50/100

Mittel  
93/100

## Zusammenfassung der Mittel.

Formalin-Mengen	Verglichene Nummern	Wirksamkeit %
300	36 gegen 35	Allseitig bewegte Luft : ruhender Luft = 30 : 20 = 100 : 67
500	40, 43, 45, 48 gegen 39, 41, 42, 44	41 : 29 = 100 : 71
1000	51, 52, 53, 56, 60, 63, 64, 67, 69, 71 geg. 46, 54, 55, 61, 62, 65, 66, 68, 70, 72	50 : 18 = 100 : 36
1500	58, 59 gegen 57	93 : 41 = 100 : 44

## Tabelle III. Abteilung III.

Allseitig bewegte Luft verglichen mit einseitig bewegter Luft.  
(Unmöbliertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Formalin-Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Einseitig bewegte Luft	Allseitig bewegte Luft
34	300	6. August	23°	61/100	—
28	300	30. Juli	28°	—	100/100
15	400	11. Juli	—	50/100	} Mittel
16	400	12. „	—	69/100	
10	400	4. „	—	—	} Mittel
14	400	10. „	—	—	
19	400	17. „	—	—	
6	1000	28. Juni	—	100/100	—
5	750	27. „	—	—	100/100

1) Diese 5 Versuche bilden mit den vorseitig letzt aufgeführten 5 Versuchen eine gemeinsame Gruppe mit dem Mittelwert 50/100.

Zusammenfassung der Mittel.

Formalin-Mengen	Verglichene Nummern	Wirksamkeit %
		Allseitig bewegte Luft :
300	28 gegen 34	einseitig bewegter =
400	10, 14, 19 gegen 15, 16	100 : 61 = 100 : 61
750 : 1000	5 gegen 6	98 : 60 = 100 : 61
		100 : 100 = 100 : 100

Tabelle III. Abteilung IV.

Vergleich von ruhender, einseitig und allseitig bewegter Luft.  
(Unmöbliertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Formalin-Mengen	Datum 1900	Wirksamkeit %			
			Ruhende Luft	Einseitig bewegte Luft	Allseitig bewegte Luft	
22	200	20. Juli	69/100	} Mittel	—	
32	200	3. August	75/100		72/100	—
29	200	31. Juli	—	—	88/100	
31	200	2. August	—	—	31/100	
33	200	4. August	—	—	31/100	
					} 50/100	
21	300	19. Juli	81/100	—	—	
34	300	6. August	—	61/100	—	
28	300	30. Juli	—	—	100/100	
13	400	9. Juli	50/100	} Mittel	—	
17	400	13. „	75/100		73/100	—
18	400	16. „	94/100		—	—
15	400	11. „	—	50/100	} Mittel	
16	400	12. „	—	69/100		60/100
10	400	4. „	—	—	100/100	
14	400	10. „	—	—	94/100	
19	400	17. „	—	—	100/100	
					} Mittel	
8	500	2. Juli	33/100	} Mittel	—	
9	500	3. „	62/100		48/100	—
11	500	5. „	—	—	94/100	
12	500	6. „	—	—	100/100	
					} 97/100	
7	1000	29. Juni	100/100	} Mittel	—	
4	1500	26. „	100/100		100/100	—
6	1000	28. „	—	100/100	—	
5	750	27. „	—	—	100/100	

Zusammenfassung der Mittel.

Formalin-Mengen	Verglichene Nummern	Wirksamkeit %
		Allseitig bewegte Luft : einseitig
300	28 : 34 : 21	bewegter : ruhender Luft =
400	100, 14, 19 : 15, 16 : 13, 17, 18	100 : 61 = 100 : 61 : 81
750 : 1000 : 1250	5 : 6 : 7,4	98 : 60 : 73 = 100 : 61 : 74
		100 : 100 : 100 = 100 : 100 : 100

Tabelle IV.

## Einfluss der Resistenz der Testobjekte auf die Desinfektionswirkung.

## Abteilung I.

Milzbrand-Seidenfäden von 1–2 Minuten Dampfresistenz (100°).  
(Müllertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Formalin-Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
46	1000	9. Novbr.	11°	55/100	—
54	1000	22. „	10°	59/100	—
F 55	1000	26. „	9°	9/100	—
61	1000	4. Dezbr.	9°	14/100	—
62	1000	8. „	8°	5/100	—
51	900	17. Novbr.	10°	—	95/100
52	900	19. „	10°	—	91/100
53	1000	20. „	10°	—	95/100
F 56	1000	28. „	9°	—	55/100
F 60	1000	3. Dezbr.	8°	—	50/100

77 : 28 = 100 : 36; genau so oben,

50 : 18 = 100 : 36 (Tab. III, Abt. II b).

Tabelle IV. Abteilung II.

Milzbrand-Seidenfäden von 3–4 und mehr Minuten Dampfresistenz (100°).  
(Müllertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Formalin-Menge	Datum 1900	Mittl. Temp.	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
65	1000	12. Dezbr.	30°	19/100	—
66	1000	13. „	12°	4/100	—
68	1000	17. „	20°	12/100	—
F 70	1000	19. „	18°	0/100	—
72	1000	21. „	15°	0/100	—
63	1000	10. Dezbr.	8°	—	5/100
64	1000	11. „	30°	—	65/100
67	1000	14. „	10°	—	23/100
69	1000	18. „	19°	—	15/100
71	1000	20. „	20°	—	4/100

Hierin verhalten sich

22 : 7 = 100 : 32; ähnlich ist oben,

50 : 18 = 100 : 36 (Tab. III, Abt. II b).

Vergleicht man die entsprechenden Versuche der beiden Abteilungen in ruhender und in bewegter Luft unter sich, Versuche, in denen jedenfalls die verschiedene Resistenz der Milzbrandsporen das gewichtigste, die Desinfektionswirkung beeinflussende Moment war, so kommt man zu folgenden Verhältniszahlen:

a) Wirksamkeit der Desinfektion in ruhender Luft.

Milzbrandsporen von 1—2, mit solchen von 3—4 und mehr Minuten Dampfesistenz verglichen:

$$28 : 7 = 100 : 24 = 4 : 1.$$

b) Wirksamkeit der Desinfektion in allseitig bewegter Luft.

Milzbrandsporen von 1—2, mit solchen von 3—4 und mehr Minuten Dampfesistenz verglichen:

$$77 : 22 = 100 : 29 = 3\frac{1}{2} : 1.$$

Tabelle V.

**Einfluss der Lufttemperatur auf die Wirksamkeit der Desinfektion.**

(Die Versuche geordnet nach steigenden Lufttemperaturen.)

**Abteilung I.**

**Milzbrandsporen von 1—2 Minuten Dampfesistenz (100°).**

(Müblertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Mittl. Temp.	Datum 1900	Formalin-Menge	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
62	8°	8. Dezbr.	1000	5/100	Mittel 28/100
F 55	9°	26. Novbr.	1000	9/100	
61	9°	4. Dezbr.	1000	14/100	
54	10°	22. Novbr.	1000	59/100	
46	11°	9. „	1000	55/100	
F 60	8°	3. Dezbr.	1000	—	50/100
F 56	9°	28. Novbr.	1000	—	55/100
52	10°	19. „	900	—	91/100
51	10°	17. „	900	—	95/100
53	10°	20. „	1000	—	95/100
44	12°	1. Novbr.	500	9/100	Mittel 29/100
42	13°	19. Oktober	500	18/100	
41	13°	18. „	500	30/100	
39	14°	16. „	500	60/100	
48	10°	13. Novbr.	500	—	24/100
45	11°	3. „	500	—	18/100
43	13°	20. Oktober	500	—	32/100
40	14°	17. „	500	—	90/100

Hierin verhalten sich (vgl. Tab. III, Abt. II b, u. Tab. IV, Abt. I)

77 : 28 = 100 : 36; ferner (vgl. Tab. III, Abt. II b)

41 : 29 = 100 : 71.

Tabelle V. Abteilung II.

Milzbrandsporen von 3–4 und mehr Minuten Dampfesistenz (100°).  
(Möbliertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Mittl. Temp.	Datum	Formalin-Menge	Wirksamkeit %	
				Ruhende Luft	Allseitig bewegte Luft
73	— 3°	4. Januar 01	3000	0/100	—
F 74 <sup>1)</sup>	— 3°	7. „ 01	3000	0/100	—
66	12°	13. Dezbr. 00	1000	4/100	—
72	15°	21. „ 00	1000	0/100	—
F 70	18°	19. „ 00	1000	0/100	—
68	20°	17. „ 00	1000	12/100	—
65	30°	12. „ 00	1000	19/100	—
63	8°	10. Dezbr. 00	1000	—	5/100
67	10°	14. „ 00	1000	—	23/100
69	19°	18. „ 00	1000	—	15/100
71	20°	20. „ 00	1000	—	4/100
64	30°	11. „ 00	1000	—	65/100

Hierin verhalten sich (vgl. Tab. IV, Abt. II)

$$22 : 7 = 100 : 32.$$

Tabelle VI.

Einfluß der Art des Testobjekts auf die Desinfektionswirkung.

Abteilung I.

Die Wirkung auf Milzbrandsporen im Vergleich zur Wirkung auf Typhus, Diphtherie, Staph.

(Möbliertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Ohne oder mit Wind?	Formalin-Menge	Testobjekte abgetötet				Bemerk.
			I. Milzbrand	II. Typhus	III. Diphth.	IV. Staph.	
35	O. W.	300	2 von 10 Obj. abgetötet	9 von 10 Obj. abgetötet	10 von 10 Obj. abgetötet	10 von 10 Obj. abgetötet	—
36	M. W.	300	2 von 10 Obj. abgetötet	10 von 10 Obj. abgetötet	10 von 10 Obj. abgetötet	10 von 10 Obj. abgetötet	1 Schmetterling bleibt leben

1) Vorgesetztes 'F' bedeutet, wie erwähnt, Versuch mit Flügg'es Apparat.

Tabelle VI. Abteilung II.

Die Wirkung auf Milzbrandsporen im Vergleich zur Wirkung auf Mäuse (Hausmäuse) und Insekten (Flöhe, Wanzen, Käfer, Fliegen, Motten, Schmetterlinge).

(Unmöbliertes Zimmer von 110 cbm.)

Nr.	Ohne oder mit Wind?	Formalin-Menge	Versuchsobjekte getötet		
			I. Milzbrand	II. Hausmäuse	III. Verschiedene Insekten
4	O. W.	1500	16 von 16 Obj. abgetötet	1 Maus bleibt leben	—
5	M. W.	750	16 von 16 Obj. abgetötet	1 Maus bleibt leben	—
6	M. W.	1000	16 von 16 Obj. abgetötet	1 Maus bleibt leben	1 Fliege bleibt leben; 1 Schmetterling bleibt leben
13	O. W.	400	8 von 16 Obj. abgetötet	—	5 von 11 Fliegen getötet; 1 Motte getötet
14	M. W.	400	15 von 16 Obj. abgetötet	—	12 von 17 Fliegen getötet; 0 von 4 Wanzen getötet
15	M. W.	400	8 von 16 Obj. abgetötet	—	1 von 2 Fliegen getötet; 0 von 4 Wanzen getötet
16	M. W.	400	11 von 16 Obj. abgetötet	—	8 von 8 Fliegen getötet; 0 von 7 Wanzen getötet
17	O. W.	400	12 von 16 Obj. abgetötet	—	0 von 7 Wanzen getötet
18	O. W.	400	15 von 16 Obj. abgetötet	—	0 von 7 Wanzen getötet; 0 von 2 Schmett. getötet
21	O. W.	300	13 von 16 Obj. abgetötet	—	1 Floh bleibt leben; 1 Käfer bleibt leben
31	M. W.	200	5 von 16 Obj. abgetötet	—	1 Floh getötet; 0 von 2 Schmett. getötet

Nach unseren Versuchen ist der Formaldehyd als Ungeziefer-Vertilgungsmittel von solch geringer und fragwürdiger Wirkung, daß er hierfür nicht empfohlen werden darf. Wir betonen diesen Umstand. Denn Springfeld hat inzwischen die, soweit ersichtlich, experimentell nicht gestützte Behauptung aufgestellt: „Vielleicht hilft die Thatsache, daß die Formaldehyd-Desinfektion auch das Ungeziefer angreift, der (Formaldehyd-)Desinfektion die Wege ebnet“ (Zeitschr. f. Amts- u. Gemeindevorsteher, 3. Jahrg. 1891, Nr. 6).



Tabelle VII.

**Temperatur und Feuchtigkeitsverhältnisse in den einzelnen Versuchen (Mittelwerte).**

**Abteilung I. Versuch Nr. 1—20.**

**Temperatur und Feuchtigkeit der Luft im Freien.**

Nr.	Datum 1900	Ohne oder mit Wind?	Verdampfung (Wasser und Formalin)	Temp.	Absol. Feucht. mg/L	Sätt- Defiz. mg/L	Rel. Feucht. %
1	19. Juni	O. W.	330 g Paraform (330 Pastillen).	18,0	7,7	7,6	50
2	20. „	O. W.	330 g Paraform (330 Pastillen).	20,0	9,5	7,7	55
3	22. „	O. W.	330 g Paraform (330 Pastillen).	19,5	9,2	7,5	55
4	26. „	O. W.	1500 Wasser + 1500 Formalin.	15,0	9,0	3,8	70
5	27. „	M. W.	1500 Wasser + 1500 Formalin.	14,0	10,8	1,2	90
6	28. „	M. W.	1000 Wasser + 1000 Formalin.	15,5	9,2	4,0	70
7	29. „	O. W.	1000 Wasser + 1000 Formalin.	17,0	8,9	5,9	60
8	2. Juli	O. W.	1500 Wasser + 500 Formalin.	19,5	10,9	5,8	65
9	3. „	O. W.	1500 Wasser + 500 Formalin.	22,5	15,0	5,0	75
10	4. „	M. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	16,0	9,8	3,8	72
11	5. „	M. W.	1500 Wasser + 500 Formalin.	15,0	7,0	5,8	55
12	6. „	M. W.	1500 Wasser + 500 Formalin.	19,0	10,5	5,7	65
13	9. „	O. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	12,5	9,4	1,6	85
14	10. „	M. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	14,5	7,4	5,0	60
15	11. „	M. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	17,5	7,4	7,4	50
16	12. „	M. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	19,5	7,5	9,2	45
17	13. „	O. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	21,5	9,4	9,4	50
18	16. „	O. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	27,0	12,8	12,8	50
19	17. „	M. W.	1500 Wasser + 400 Formalin.	24,5	13,3	8,9	60
20	18. „	M. W.	Keine Verdampfung. (Blinder Versuch.)	19,0	10,5	5,7	65

Tabelle VII. Abteilung II. Versuche Nr. 21—74.

Temperatur und Feuchtigkeit der Luft im Zimmer und im Freien.

Nr. u. Datum (1900)	Ohne oder mit Wind?	Verdampfung (Wasser und Formalin)	Temperatur		Absol. Feucht.		Satt.-Defiz.		Rel. Feucht.	
			Innen Aus-sen	Diff.	Innen Aus-sen	Diff.	Innen Aus-sen	Diff.	Innen Aus-sen	Diff.
Nr. 21, 19. Juli	O. W.	1500 Wasser + 300 Formalin	27,0	+ 4,0	17,9	+ 7,7	7,7	- 2,5	70	+ 20
Nr. 22, 20. Juli	O. W.	1500 Wasser + 200 Formalin	28,5	+ 1,0	19,5	+ 6,3	8,3	- 4,8	70	+ 20
Nr. 23, 23. Juli	O. W.	1500 Wasser + 100 Formalin	27,5	+ 8,5	19,7	+ 5,9	6,6	+ 4,2	75	- 10
Nr. 24, 24. Juli	O. W.	1500 Wasser + 50 Formalin	27,0	+ 7,5	18,7	+ 7,0	6,9	+ 1,9	73	+ 3
Nr. 25, 25. Juli	M. W.	1500 Wasser + 50 Formalin	28,0	+ 3,5	20,2	+ 5,7	6,8	- 1,0	75	+ 10
Nr. 26, 26. Juli	O. W.	1500 Wasser + 50 Formalin	29,0	+ 0	21,4	+ 5,7	7,1	- 5,7	75	+ 20
Nr. 27, 27. Juli	M. W.	1500 Wasser + 50 Formalin	30,0	+ 10,0	21,1	+ 9,9	12,0	+ 4,0	70	+ 5
Nr. 28, 30. Juli	M. W.	1500 Wasser + 300 Formalin	27,5	+ 5,5	18,4	+ 6,8	7,9	+ 0,2	70	+ 10
Nr. 29, 31. Juli	M. W.	1500 Wasser + 200 Formalin	26,5	+ 9,0	17,4	+ 6,3	7,5	+ 3,8	70	- 5
Nr. 30, 1. Aug.	M. W.	1500 Wasser + 100 Formalin	26,5	+ 8,0	17,4	+ 8,8	7,5	+ 0,4	70	+ 15
Nr. 31, 2. Aug.	M. W.	1500 Wasser + 200 Formalin	25,0	+ 7,5	16,5	+ 5,4	6,4	+ 2,7	72	- 3
Nr. 32, 3. Aug.	O. W.	1500 Wasser + 200 Formalin	28,0	+ 9,0	20,4	+ 10,7	6,6	+ 0,1	72	+ 12
Nr. 33, 4. Aug.	M. W.	1500 Wasser + 200 Formalin	28,5	+ 9,5	20,0	+ 8,7	7,8	+ 2,9	72	+ 2
Nr. 34, 6. Aug.	O. W.	1500 Wasser + 300 Formalin	23,0	+ 5,0	15,3	+ 6,9	5,1	- 1,8	75	+ 20
Nr. 35, 11. Aug.	O. W.	1500 Wasser + 300 Formalin	21,5	+ 7,5	15,0	+ 4,2	3,8	+ 2,6	80	- 10
Nr. 36, 13. Aug.	M. W.	1500 Wasser + 300 Formalin	21,5	+ 5,0	16,0	+ 5,5	2,8	- 0,7	85	+ 10
Nr. 37, 15. Aug.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	21,0	+ 4,0	17,3	+ 6,5	0,9	- 2,7	95	+ 20
Nr. 38, 16. Aug.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	22,0	- 0,5	18,3	+ 6,4	1,0	- 7,0	95	+ 35
Nr. 39, 16. Okt.	O. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	14,0	+ 6,0	10,8	+ 3,7	1,2	+ 0,0	90	+ 5
Nr. 40, 17. Okt.	M. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	14,0	+ 6,5	11,4	+ 5,4	0,6	- 1,4	95	+ 20
Nr. 41, 18. Okt.	O. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	13,0	+ 6,0	10,7	+ 3,7	0,6	- 0,2	95	+ 5

Nr. u. Datum (1900)	Ohne oder mit Wind?	Verdampfung (Wasser und Formalin)	Temperatur		Absol. Feucht.		Sätt.-Defiz.		Rel. Feucht.	
			Innen Aus- sen	Diff.	Innen Aus- sen	Diff.	Innen Aus- sen	Diff.	Innen Aus- sen	Diff.
			Grad	Grad	mg/L	mg/L	mg/L	mg/L	%	%
Nr. 42, 19. Okt.	O. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	13,0 6,0	+ 7,0	10,7 5,8	+ 4,9	0,6 1,5	- 0,9	95 80	+ 15
Nr. 43, 20. Okt.	M. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	12,5 4,5	+ 8,0	10,5 5,0	+ 5,5	0,5 1,6	- 1,1	95 75	+ 20
Nr. 44, 1. Nov.	O. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	12,0 7,5	+ 4,5	10,1 6,4	+ 3,7	0,5 1,6	- 1,1	95 80	+ 15
Nr. 45, 3. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	11,0 5,0	+ 6,0	8,5 4,8	+ 3,7	1,5 2,0	- 0,5	85 70	+ 15
Nr. 46, 9. Nov.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	11,0 7,0	+ 4,0	8,5 6,2	+ 2,3	1,5 1,6	- 0,1	85 80	+ 5
Nr. 47, 10. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 750 Formalin	11,0 8,5	+ 2,5	9,5 6,0	+ 3,5	0,5 2,5	- 2,0	95 70	+ 25
Nr. 48, 13. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 500 Formalin	10,0 1,5	+ 8,5	8,9 5,1	+ 3,8	0,5 0,3	+ 0,2	95 95	± 0
Nr. 49, 15. Nov.	O. W.	1500 Wasser + 750 Formalin	9,0 6,0	+ 3,0	8,4 6,9	+ 1,5	0,4 0,4	± 0,0	95 95	± 0
Nr. 50, 16. Nov.	O. W.	1500 Wasser + 750 Formalin	10,0 6,5	+ 3,5	9,4 6,4	+ 3,0	0,0 1,1	- 1,1	100 85	+ 15
Nr. 51, 17. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 900 Formalin	10,0 4,0	+ 6,0	8,9 6,1	+ 2,8	0,5 0,3	+ 0,2	95 95	± 0
Nr. 52, 19. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 900 Formalin	10,0 5,0	+ 5,0	9,4 6,1	+ 3,3	0,0 0,7	- 0,7	100 90	+ 10
Nr. 53, 20. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	10,0 5,0	+ 5,0	9,4 6,1	+ 3,3	0,0 0,7	- 0,7	100 90	+ 10
Nr. 54, 22. Nov.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	10,0 9,0	+ 1,0	9,4 7,5	+ 1,9	0,0 1,3	- 1,3	100 85	+ 15
Nr. 55, 26. Nov.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	9,0 5,5	+ 3,5	8,8 6,3	+ 2,5	0,0 0,7	- 0,7	100 90	+ 10
Nr. 56, 28. Nov.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	9,0 5,5	+ 3,5	8,8 5,6	+ 3,2	0,0 1,4	- 1,4	100 80	+ 20
Nr. 57, 29. Nov.	O. W.	2250 Wasser + 1500 Formalin	9,0 1,5	+ 7,5	8,8 4,9	+ 3,9	0,0 0,5	- 0,5	100 90	+ 10
Nr. 58, 30. Nov.	M. W.	2250 Wasser + 1500 Formalin	9,0 2,5	+ 6,5	8,8 5,2	+ 3,6	0,0 0,6	- 0,6	100 90	+ 10
Nr. 59, 1. Dez.	M. W.	2250 Wasser + 1500 Formalin	8,0 2,0	+ 6,0	8,3 5,0	+ 3,3	0,0 0,6	- 0,6	100 90	+ 10
Nr. 60, 3. Dez.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	8,0 - 1,0	+ 7,0	7,1 3,4	+ 3,7	1,2 1,1	+ 0,1	85 75	+ 10
Nr. 61, 4. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	9,0 + 3,0	+ 6,0	7,5 4,8	+ 2,7	1,3 1,2	+ 0,1	85 80	+ 5
Nr. 62, 8. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	8,0 - 0,5	+ 8,5	8,4 3,5	+ 4,9	0,4 1,2	- 0,8	95 75	+ 20
Nr. 63, 10. Dez.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	8,0 4,0	+ 4,0	7,9 6,1	+ 1,8	0,4 0,3	+ 0,1	95 95	± 0

Nr. u. Datum (1900)	Ohne oder mit Wind?	Verdampfung (Wasser und Formalin)	Temperatur		Absol. Feucht.		Sätt.-Defiz.		Rel. Feucht.	
			Innen Aus- sen	Diff.	Innen Aus- sen	Diff.	Innen Aus- sen	Diff.	Innen Aus- sen	Diff.
Nr. 64, 11. Dez.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	30,0 2,5	+ 27,5	13,5 5,2	+ 8,3	16,6 0,6	+ 16,0	45 90	- 45
Nr. 65, 12. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	30,0 5,5	+ 24,5	13,5 6,3	+ 7,2	16,6 0,7	+ 15,9	45 90	- 45
Nr. 66, 13. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	12,0 8,0	+ 4,0	10,1 7,1	+ 3,0	0,5 1,2	- 0,7	95 85	+ 10
Nr. 67, 14. Dez.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	10,0 7,0	+ 3,0	8,9 6,2	+ 2,7	0,5 1,6	- 1,1	95 80	+ 15
Nr. 68, 17. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	20,0 7,0	+ 13,0	17,2 6,6	+ 10,6	6,9 1,2	+ 5,7	60 85	- 15
Nr. 69, 18. Dez.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	19,0 5,0	+ 14,0	11,3 4,8	+ 6,5	4,9 2,0	+ 2,9	70 70	+ 0
Nr. 70, 19. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	18,0 1,5	+ 16,5	9,2 4,6	+ 4,6	6,1 0,8	+ 5,3	60 85	- 25
Nr. 71, 20. Dez.	M. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	20,0 3,5	+ 16,5	11,2 5,3	+ 5,9	6,0 0,9	+ 5,1	65 85	- 20
Nr. 72, 21. Dez.	O. W.	1500 Wasser + 1000 Formalin	15,0 5,0	+ 10,0	8,3 5,3	+ 3,0	4,5 1,7	+ 2,8	65 75	- 10
Nr. 73, 4. Jan.	O. W.	1500 Wasser + 3000 Formalin	- 3,0 - 12	+ 9,0	3,9 1,3	+ 2,6	0,0 0,6	- 0,6	100 70	+ 30
Nr. 74, 7. Jan.	O. W.	1500 Wasser + 3000 Formalin	- 3,0 - 10	+ 7,0	3,9 2,0	+ 1,9	0,0 0,3	- 0,3	100 85	+ 15

Tabelle VIII.

**Witterung (Windstärke und Himmelsbedeckung)  
während der einzelnen Versuche.**

(Nach Beobachtungen von Professor Börnstein auf der landwirtschaftlichen  
Hochschule, NW., Invalldenstr. 42.)

Nr.	Datum (1900)	Wind- stärke 0 bis 12	Be- deckung 0 bis 10*)	Nr.	Datum (1900)	Wind- stärke 0 bis 12	Be- deckung 0 bis 10*)
1	19. Juni	1 <sup>1)</sup> bis 2 <sup>2)</sup>	0 <sup>1)</sup> bis 4 <sup>2)</sup>	6	28. Juni	1 bis 1	10 bis 7
2	20. „	1 „ 3	5 „ 8	7	29. „	1 „ 1	8 „ 7
3	22. „	1 „ 4	9 „ 10	8	2. Juli	1 „ 1	7 „ 10
4	26. „	1 „ 1	10 „ 9	9	3. „	1 „ 2	6 „ 9
5	27. „	1 „ 1	10 „ 10	10	4. „	1 „ 1	10 „ 10

\*) Himmelsbedeckung von 0 ganz heiter, bis 10 ganz bedeckt.

1) Zu Beginn des Versuches. — 2) Am Schluss des Versuches.

Nr.	Datum (1900)	Wind- stärke 0 bis 12	Be- deckung 0 bis 10*)	Nr.	Datum (1900)	Wind- stärke 0 bis 12	Be- deckung 0 bis 10*)
11	5 Juli	1 <sup>1)</sup> bis 1 <sup>2)</sup>	2 <sup>1)</sup> bis 7 <sup>2)</sup>	43	20. Okt.	1 bis 1	2 bis 8
12	6. „	1 „ 1	10 „ 10	44	1. Nov.	3 „ 3	10 „ 5
13	9. „	2 „ 1	10 „ 10	45	3. „	2 „ 2	3 „ 4
14	10. „	1 „ 4	6 „ 4	46	9. „	2 „ 4	10 „ 4
15	11. „	1 „ 1	3 „ 3	47	10. „	1 „ 3	10 „ 10
16	12. „	1 „ 1	0 „ 1	48	13. „	2 „ 2	10 „ 10
17	13. „	1 „ 1	0 „ 0	49	15. „	1 „ 1	10 „ 10
18	16. „	1 „ 1	0 „ 6	50	16. „	1 „ 1	10 „ 10
19	17. „	0 „ 2	8 „ 9	51	17. „	1 „ 3	10 „ 10
20	18. „	1 „ 1	10 „ 6	52	19. „	1 „ 2	10 „ 10
21	19. „	1 „ 1	0 „ 0	53	20. „	1 „ 2	10 „ 10
22	20. „	1 „ 1	2 „ 0	54	22. „	1 „ 2	10 „ 10
23	23. „	1 „ 1	10 „ 10	55	26. „	1 „ 1	10 „ 10
24	24. „	1 „ 1	7 „ 8	56	28. „	1 „ 1	6 „ 7
25	25. „	1 „ 1	3 „ 4	57	29. „	1 „ 1	10 „ 8
26	26. „	1 „ 2	0 „ 4	58	30. „	1 „ 2	0 „ 10
27	27. „	1 „ 1	10 „ 4	59	1. Dez.	1 „ 1	10 „ 10
28	30. „	1 „ 2	10 „ 8	60	3. „	1 „ 1	9 „ 7
29	31. „	1 „ 2	10 „ 7	61	4. „	4 „ 2	10 „ 10
30	1. Aug.	1 „ 1	6 „ 7	62	8. „	1 „ 2	0 „ 2
31	2. „	1 „ 1	10 „ 10	63	10. „	1 „ 1	10 „ 10
32	3. „	2 „ 2	7 „ 6	64	11. „	1 „ 2	10 „ 10
33	4. „	1 „ 4	7 „ 10	65	12. „	2 „ 2	10 „ 10
34	6. „	1 „ 4	9 „ 5	66	13. „	1 „ 2	10 „ 9
35	11. „	1 „ 2	10 „ 10	67	14. „	2 „ 3	11 „ 10
36	13. „	1 „ 1	0 „ 10	68	17. „	2 „ 3	10 „ 10
37	15. „	1 „ 1	6 „ 9	69	18. „	1 „ 2	0 „ 4
38	16. Aug.	1 „ 4	0 „ 5	70	19. „	1 „ 2	7 „ 8
39	16. Okt.	5 „ 4	10 „ 10	71	20. „	1 „ 6	8 „ 6
40	17. „	2 „ 3	2 „ 4	72	21. „	3 „ 2	4 „ 10
41	18. „	1 „ 2	10 „ 10	73	4. Jan.	1 „ 1	6 „ 3
42	19. „	1 „ 3	10 „ 8	74	7. „	4 „ 3	10 „ 10

\*) Himmelsbedeckung von 0 ganz heiter, bis 10 ganz bedeckt.  
1) Zu Beginn des Versuchs. — 2) Am Schluss des Versuchs.

# Über den Einfluss der Lufttemperatur auf die Desinfektionswirkung des Formaldehyds.

Von

Dr. **Eugen Mayer** und Dr. **Heinrich Wolpert**

Stabsarzt.  
früher Assistent am Institut.

Privatdozent.  
Oberassistent am Institut.

(Aus dem hygienischen Institut der Universität Berlin.)

Zu den Bedingungen, welche bei praktischen Versuchen die häufigsten und größten Schwankungen zeigen, gehört gewiss der Temperaturgrad der zu desinficierenden Wohnräume. Die natürlichen Schwankungen der Lufttemperatur sind im Laufe des Jahres grofse, und man hat es bald mit geheizten, bald mit ungeheizten Räumen zu thun.

Den günstigen Einfluss der Wärme auf die Wirkung auch der gasförmigen Desinfektionsmittel hat zuerst, schon vor 20 Jahren, Robert Koch erkannt. Speziell hat er diesen Umstand auch für Karboldämpfe und Schwefelkohlenstoffdämpfe betont und hieran anknüpfend die wichtige, in gegenwärtiger Zeit wieder aktuell gewordene Bemerkung gemacht<sup>1)</sup>: »Immerhin ist es wahrscheinlich, dafs sich manche unter gewöhnlichen Verhältnissen unzulängliche Desinfektionsmittel durch Kombination mit einer gesteigerten Temperatur zu einer ausreichenden Wirksamkeit bringen lassen; möglicherweise sind auch solche Substanzen, denen bei 20° C. jede desinficierende Wirkung fehlt, wie das Beispiel vom

1) Koch, Mitteil. a. d. Kais. Ges.-Amt, 1881, Bd. 1.

Schwefelkohlenstoff lehrt, bei etwas höherer Temperatur als vortreffliche Desinfektionsmittel zu gebrauchen. Es eröffnet sich in dieser Richtung ein sehr lohnendes Feld. . . . .

Speziell für den Formaldehyd hat schon vor sieben Jahren Pottévin<sup>1)</sup> und zwei Jahre später auch Trillat<sup>2)</sup> nachgewiesen, daß durch Temperaturerhöhung eine beträchtliche Verstärkung der baktericiden Kraft des Formaldehydgases eintritt. Allerdings hat Trillat<sup>3)</sup> wie auch später Abba und Rondelli<sup>4)</sup> den gleichzeitigen Einfluss der Luftfeuchtigkeit nicht richtig erkannt.

Daß Temperaturschwankungen, wenn sie zu Feuchtigkeitsschwankungen führen, von Einfluss sind, haben wir oben erörtert; es bleibt aber noch zu erwägen, ob nicht ceteris paribus der Temperaturgrad eines Zimmers doch auch einen für praktische Verhältnisse bemerkbaren Einfluss zeigt. Die Angabe von Trillat, von Abba und Rondelli (1898), welche eine günstige Wirkung sehr hoher Temperaturen sahen, kann zweifellos für die vorliegende Frage um so weniger in Betracht kommen, als bei diesen Experimenten die Luftfeuchtigkeit nicht in richtiger Weise berücksichtigt worden ist, und diese Autoren sogar der Ansicht waren, daß die Wirkung der Desinfektion mit dem Grade der Lufttrockenheit steige. Weiter liegt das Hauptinteresse nicht darin, daß die Stubentemperatur gelegentlich sich über die Norm

1) Pottévin, 1894, Recherches sur le pouvoir antiseptique de l'aldéhyde formique, in Ann. de l'Inst. Pasteur, p. 807: »Les expériences, que je viens de rapporter, prouvent que l'élévation de la température augmente considérablement le pouvoir bactéricide de l'aldéhyde formique. . . . Les germes humides sont plus rapidement atteints que les germes secs. . . . Dès que la température dépasse 35°, les vapeurs du formol, même sèches, sont douées d'une énergie, qui les rend précieuses pour la pratique de la désinfection«.

2) Essais de désinfection par les vapeurs de formaldéhyde. Par MM. G. Roux et A. Trillat. Ann. de l'Inst. Pasteur, 1896, p. 294.

3) Trillat, Propriétés antiseptiques des vapeurs de formol (ou aldéhyde formique), in Compt. rend. 1894, T. 119, p. 564: »La présence de l'eau rallentit (verlangsamt!) l'action antiseptique du formol proportionnellement au degré de l'humidité«.

4) Abba und Rondelli, Das Formaldehyd und die öffentliche Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg., 1898, Bd. 27, S. 49.

erhebt, als vielmehr in der Richtung der nach dem Nullpunkt zu abfallenden Temperaturen. Nach dieser Richtung geben auch die Versuche von Fairbanks<sup>1)</sup> keinen Aufschluss. Derselbe teilt a. a. O. lediglich zwei Versuche mit, die beide durch Vergasung von 2 g Formaldehyd pro Kubikmeter Luftraum, ohne Wasserverdampfung, mit Scherings »Aeskulap« ausgeführt wurden. Der erste Versuch, bei 22° C. (welche Temperatur im Freien?), wurde auf 12 Stunden und der zweite, bei 20° C. (wieviel im Freien?) auf 8 Stunden normiert. In beiden Versuchen waren die »auf einem Tisch« exponierten Testbakterien (Diphtherie u. s. w.) abgetötet worden. In einer früheren Arbeit hatte Fairbanks, ohne auf die Temperatur zu sehen, analoge Versuche in einem andern Zimmer vorgenommen, die er 24 und mehr (nicht weniger!) Stunden lang ausdehnte. Angenommen, Fairbanks habe durch die beiden Heizversuche die Schlüsse der früheren Beobachter erweitert. Dann blieb immer noch zu untersuchen, ob bei einer beliebigen winterlichen Aufsentemperatur die Selbstlüftung des Raumes, wenn irgendwie, z. B. durch die gewöhnlichen Windöfen auf 20—22° geheizt wird, so geringfügig ist, dass der Verlust an Formaldehyd nicht in Betracht kommt, oder aber: ob die durch starke Temperaturerhöhung gesteigerte Desinfektionswirkung den Materialverlust aus einer damit Hand in Hand gehenden beträchtlichen Selbstlüftung überkompensiert. Mit andern Worten: Ist die Desinfektion in dem auf 20—22° geheizten Zimmer bei beliebigen Aufsentemperaturen gleich erfolgreich? Diese Frage können nur Versuche entscheiden. Wir haben solche Versuche angestellt, da unseres Erachtens die Fairbanksschen Versuche nichts weiter beweisen, als dass bei 20—22° eine Desinfektionsdauer von 8—12 Stunden unter bestimmten Voraussetzungen buereicht.

Aus unseren Versuchen Nr. 73 und 74 (s. Generaltabelle, Abt. VI, sowie Tabelle V, Abt. II) ist zunächst ersichtlich, dass bei sehr tiefen Lufttemperaturen die Desinfektionswirkung so

---

1) Fairbanks, Centralbl. f. Bakteriologie u. Parasitenk., 1898, Bd. 23, Nr. 16. Zwei Versuche in einem durch Centralheizung (wohl Niederdruck-Dampfheizung) im Winter erwärmten Zimmer.



gründlich ausbleiben kann, dass selbst eine ins Ungemessene gehende Steigerung der anzuwendenden Formalinmengen kaum einen Erfolg versprechen dürfte. In diesen Versuchen betrug die mittlere Raumtemperatur nur  $3^{\circ}$  unter Null. Wir verdampften in dem 110 cbm großen Raum jedesmal 3 l Formalin, d. i. 3 bis 6 Mal soviel als in den meisten andern Versuchen, und erhielten gleichwohl nach Ablauf der von uns stets als Versuchsdauer gewählten  $3\frac{1}{2}$  Stunden auch nicht bei einer einzigen der ausgelegten 26 Testproben (Milzbrandsporen-Seidenfäden) eine Abtötung; nicht einmal eine Verzögerung des Wachstums war zu bemerken. Allerdings handelte es sich in diesen Versuchen, wie aber schon von Nr. 63 an, um ein sehr resistentes Sporenmateriale, das 3—4 Minuten und länger dem strömenden Dampf von  $100^{\circ}$  Widerstand leistete.

Am sichersten muss der Einfluss der Temperatur auf die Desinfektionswirkung aus solchen Versuchen ergründbar sein, bei welchen im übrigen alle Verhältnisse möglichst gleichartig waren und besonders auch die Testobjekte womöglich vom gleichen Vorrat entnommen waren. Dieses ist der Fall in Abt. I und II von Tabelle V, worin die aufgeführten Versuche sämtlich zwischen Nr. 35—62 (Abt. I) bzw. 63—74 (Abt. II) liegen, teilweise freilich unter der Einwirkung eines künstlichen Innenwindes stehen, was jedoch ohne Belang ist, wenn, wie daselbst geschehen, nur Versuche in ruhender Luft für sich und ebenso in bewegter Luft für sich zusammengestellt werden. Die letzteren Versuche sind dann ebenfalls unter sich auf den Einfluss des Windes vergleichbar. Unter diesen Voraussetzungen soll Tabelle V einer näheren Betrachtung unterworfen werden und es ergibt sich dabei zunächst für gewöhnliche, ruhende Zimmerluft im wesentlichen folgendes:

Um  $10^{\circ}$  herum, bis gegen  $15^{\circ}$  aufwärts (und höher, wie aus Abt. II hervorgeht), ist ein Temperaturplus von

1) Im ganzen wurde viermal ein neuer Vorrat von Fäden zubereitet: Für Versuch 1—16, 17—34, 35—62 (alle diese mit ca. 1—2 Minuten Dampfresistenz), und für Versuch 63—74 (diese zufällig mit einer wesentlich größeren, mindestens 3—4 Minuten betragenden Dampfresistenz).

jedem Grad von erkennbarem Nutzen; jeder Grad mehr bedeutet eine Verstärkung der Desinfektionswirkung. Zum Beispiel:

Wurden 1000 Formalin verdampft, so betrug die Wirksamkeit der Desinfektion auf Milzbrandsproren-Seidenfäden in Prozenten:

Ruhende Luft, 1000 Formalin.<sup>1)</sup>

$$\text{Mittel } 9^{\circ} \left\{ \begin{array}{l} 8^{\circ} = 5/100 \\ 9^{\circ} = 9/100 \\ 9^{\circ} = 14/100 \\ 10^{\circ} = 59/100 \\ 11^{\circ} = 55/100 \end{array} \right\} \text{Mittel } 28/100 \text{ Wirksamkeit.}$$

Die Wirkung war also zwar durchweg eine unzureichende, absolut genommen, aber unverkennbar prägt sich doch der Einfluss der Temperatur in dem allmählichen Anstieg von 5/100 auf 55/100 aus. Und genau das Gleiche gilt für die Verdampfung von 500 Formalin, also der halben Menge gegen vor; die Gesetzmäßigkeit der Wirkung findet hier womöglich einen noch besseren Ausdruck:

Ruhende Luft, 500 Formalin.<sup>1)</sup>

$$\text{Mittel } 13^{\circ} \left\{ \begin{array}{l} 12^{\circ} = 9/100 \\ 13^{\circ} = 18/100 \\ 13^{\circ} = 30/100 \\ 14^{\circ} = 60/100 \end{array} \right\} \text{Mittel } 29/100 \text{ Wirksamkeit.}$$

In den Versuchen für ruhende Luft hatte also durchschnittlich eine Erhöhung der Lufttemperatur von 9° auf 13° die Wirkung bereits auf das Doppelte gesteigert; wenigstens war der Desinfektionserfolg bei 13° mit 500 Formalin der gleiche wie bei 9° mit 1000 Formalin, und eine künstliche Erhöhung der Temperatur um 4° stellt daher in solchen Fällen als Äquivalent eine Ersparnis von 50% an Formalin in Aussicht.

<sup>1)</sup> Raumgröße 110 cbm, Desinfektionsdauer 3½ Stunden.

Konform ergab sich des ferneren der Temperatureinfluss in bewegter Luft auf Milzbrandsporen-Seidenfäden:

Bewegte Luft, **1000** Formalin.<sup>1)</sup>

$$\text{Mittel } 10^0 \left\{ \begin{array}{l} 8^0 = 50/100 \\ 9^0 = 55/100 \\ 10^0 = 91/100 \\ 10^0 = 95/100 \\ 10^0 = 95/100 \end{array} \right\} \text{Mittel } 77/100 \text{ Wirksamkeit.}$$

Bewegte Luft, **500** Formalin.<sup>1)</sup>

$$\text{Mittel } 12^0 \left\{ \begin{array}{l} 10^0 = 24/100 \\ 11^0 = 18/100 \\ 13^0 = 32/100 \\ 14^0 = 90/100 \end{array} \right\} \text{Mittel } 41/100 \text{ Wirksamkeit.}$$

Ferner zeigt sich, dass auch bei sog. »forciertem« Heizen (30° gegen 20°, vgl. Nr. 65 und 68, 64 und 71) die Desinfektionswirkung ganz erheblich zunahm, obwohl zweifellos infolge der gesteigerten natürlichen Ventilation nicht unbedeutliche Mengen von Formaldehyd unwirksam wurden. Hohe Lufttemperatur kann bei der Formalindesinfektion eine so bedeutende Wirkung entfalten, dass sogar auch der Nachteil einer trockenen Luft überkompensiert wird. Es genügen z. B. in Versuch Nr. 64, bei einer mittleren Lufttemperatur von 30°, schon 45% r. F. bei Verwendung von 1000 ccm Formalin zu einer vollkommenen Desinfektionswirkung auf 17 von 22 Testobjekten, während im unmittelbar vorausgegangenen Versuch (Nr. 63) ceteris paribus bei etwa 10°, ungeachtet einer Luftfeuchtigkeit von mindestens 90%, nur eines von 22 Objekten eine Abtötung erlitten hatte, eine Erscheinung, die sich genau in gleicher Weise auch im nächstfolgenden Versuch bei ungefähr 10° (Nr. 66) wiederholte. Um 0° herum vollends blieb die Desinfektionswirkung ausnahmslos aus, wie oben erwähnt (Versuche Nr. 73 und 74), wengleich die relative Feuchtigkeit 100% betrug und sogar 3000 ccm Formalin verdampft wurden.

<sup>1)</sup> Raumgröße 110 cbm, Desinfektionsdauer 3½ Stunden.

Die Lufttemperatur spielt also unter Umständen eine gröfsere Rolle bei der Formalindesinfektion als die Luftfeuchtigkeit. Auch bei 30° mittlerer Lufttemperatur blieb aber die Wirkung aus, wo die Luftfeuchtigkeit, wie im nächsten Umkreis des heifsen Ofens gar zu gering war (Platz 28—31 in Versuch Nr. 68, 65, 71, 64), obwohl an diesen Stellen die Temperatur der festen Objekte unter dem Einflufs der Strahlung weit über 30° betrug; denn diese Stellen fühlten sich heifs an. Wir empfehlen daher, das Zimmer schon am Tage vor der auszuführenden Desinfektion möglichst stark durchzuwärmen und unmittelbar vor Beginn der Desinfektion den Ofen nicht nochmals zu beschicken, immerhin aber bis dahin das Feuer, wenn thunlich, nicht ganz erlöschen zu lassen.

Durch das starke Heizen wird zwar die Temperaturdifferenz gegenüber dem Freien erhöht und es tritt ein Verlust an Formaldehyd ein; zweifellos wirkt daher eine spontane hohe Lufttemperatur, wie sie im Hochsommer gegeben ist, günstiger als eine künstliche Temperatursteigerung im Winter auf die Desinfektion ein. Ohne Versuche angestellt zu haben, könnte man sogar glauben, dafs die natürliche Ventilation des stark geheizten Zimmers durch den Materialverlust mehr schade als durch die Temperaturerhöhung nütze. Flüggé<sup>1)</sup> schreibt wohl aus diesem Grunde in seiner Instruktion vor: »Dem Meldenden ist mitzuteilen, dafs das Zimmer bis zum Eintreffen der Desinfektionskolonne nicht geheizt werden darf.« Auch Peerenboom<sup>2)</sup> hat theoretische Bedenken gegen eine Heizung des Zimmers, einmal weil dadurch die Ventilation erhöht werde, somit ein Materialverlust eintrete, sodann, weil bei höherer Temperatur, wie das schon im ungeheizten hochtemperierten Zimmer der Fall sein könne, zu viel Formaldehyd in der Luft zurückbleibe, ohne mit den Objekten in Berührung zu kommen; auch er sagt daher: »Die Zimmer bleiben am besten ungeheizt.« Unsere direkten

1) S. 19 a. a. O.

2) Peerenboom, Zum Verhalten des Formaldehyds im geschlossenen Raum und zu seiner Desinfektionswirkung. Hygienische Rundschau, 1898, Nr. 16, S. 775.

Versuche haben ergeben, dass zwar die Zimmer zweckmäßiger vorgeheizt als erst während des Desinfektionsaktes angeheizt werden sollen; immerhin haben wir aber den Einfluss der Wärme als einen so eminent förderlichen Faktor erkannt, dass wir bei Desinfektionsausführungen zur Winterszeit in solchen Fällen, wo das Vorheizen versäumt wurde, unter keinen Umständen auf ein Heizen während des Desinfektionsaktes verzichten möchten. In der Desinfektionspraxis werden Fälle, in denen die Sanitätskolonne aus Versehen, Indolenz oder Sparsamkeit nicht vorgeheizte Räume vorfinden wird, auch wenn an den Meldenden das gegenteilige Verlangen gestellt werde, etwas ganz Alltägliches sein.

Wir haben schon eingangs erwähnt, dass es eine alte Erfahrungsthatssache ist, dass viele Desinfektionsmittel mit zunehmender Temperatur eine zunehmende Wirkung entfalten.

Für diesen Vorgang hat man bis jetzt eine experimentell begründete Theorie nicht geben können.

Unseres Erachtens kommen hierbei drei Möglichkeiten in Betracht.

Entweder hat die Temperatur einen Einfluss, indem hier, wie so häufig bei chemischen Vorgängen, die desinficierende Substanz durch die Wärmebewegung aktiv gemacht wird, so dass also auch der Formaldehyd mit steigender Temperatur leichter in jene Reaktion mit dem Bakterienmaterial eintritt, den wir als Vorgang der Tötung auffassen müssen; oder die Substanz der Bakterien erleidet selbst, obwohl sich letztere in lufttrockenem Zustand und bei latentem Leben befinden, solche Änderungen, welche sie geeigneter machen, mit dem Formaldehyd in Reaktion zu treten; oder endlich, was am wahrscheinlichsten ist, es treten sowohl bei dem Formaldehyd wie bei dem Bakterienprotoplasma mit steigender Temperatur die Bedingungen zu besserer gegenseitiger Reaktion ein.

In welchem Mafse dann die relative Feuchtigkeit der Luft an diesen Vorgängen beteiligt ist, lässt sich vorerst nur im allgemeinen angeben. Wenn auch bei jeder Temperatur ein gewisser Feuchtigkeitsgrad den Grenzwert der Desinfektionswirkung

darstellt, so braucht doch dessen absolute Gröfse nicht bei allen Temperaturen die gleiche zu sein. Eine Kondensation von Wasserdampf zu tropfenförmigem Wasser ist jedoch schädlich, einmal, weil hierdurch der Luft und somit auch den andern Objekten des Zimmers zu viel Formaldehyd entzogen wird zu gunsten einer beschränkten Stelle, und sodann gleichwohl die Concentration der durch die folgende Absorption des Formaldehyds sich bildenden Formalinlösung für eine wirksame Desinfektion dieser beschränkten Stelle noch nicht auszureichen braucht.

Wir müssen aber noch auf eine andere Rückwirkung der Temperatur hinweisen, die ziemlich sicher ebenfalls an den Versuchsergebnissen beteiligt ist. Durch eine niedrige Lufttemperatur scheint nämlich eine frühzeitige Bildung von Paraldehyd befördert zu werden. Wir beobachteten, wenigstens bei den tiefgradigen Versuchen, die auffällige Thatsache, dafs sich dicke Nebel bildeten, dafs nach Abschluß der Versuche der Formalingeruch ein minimaler war und dafs sich auf sämtlichen Gegenständen kleinste grauweiße Pünktchen vorfanden. Die dicken Nebel waren offenbar durch Paraform bedingt, und die weifsen Pünktchen sind hierauf zurückzuführen; die wirkliche Formaldehydabsorption durch den Wasserdampf war infolgedessen so gering, dafs der auftretende schwache Formalingeruch nicht einmal am Betreten des Raumes hinderte, was bei den hochgradigen Versuchen ausgeschlossen war. Bei den Versuchen unter  $0^{\circ}$  bemerkten wir ferner, dafs die gefrorenen Fensterscheiben auftauten bzw. überhaupt nicht zufroren, gleichwohl aber von Kondensflüssigkeit beschlagen waren. Das war darauf zurückzuführen, dafs auch das Eis wie flüssiges Wasser den Formaldehyd absorbiert und die entstehende Formalinlösung einen niedrigeren Gefrierpunkt als das Wasser hat. Von der Richtigkeit dieser Annahme überzeugten wir uns auch noch durch folgenden Versuch: wir stellten zwei Glasgefäße, in welche etwas Wasser eingefüllt wurde, in das eine dazu ein Schälchen mit etwas Formalinlösung, bei tief unter dem Gefrierpunkt des Wassers liegenden Außentemperaturen ins Freie; während in dem Wassergefäß sich auf der ganzen Innenfläche Kondenseis (Eisblumen) bildete, beschlugen sich

wohl auch die Wandungen des andern Gefäßes, aber zu einem Gefrieren dieser Kondensflüssigkeit kam es nicht. — Der Eine von uns, welcher die vorliegenden Untersuchungen angeregt hatte (W.), wird diese Fragen noch weiterhin experimentell verfolgen und behält sich vor, über die Mengen des bei verschiedener Temperatur in der Luft vorhandenen Formaldehyds und Paraldehyds zu gelegener Jahreszeit besondere Versuche anzustellen.

Es dürfte daher ratsam sein, die Wohnungsdesinfektion mittels Formaldehyds bei möglichst hoher, eventuell künstlich gesteigerter Raumtemperatur vorzunehmen und nicht ungemessene große Wassermengen bis zur Kondensation an den Wänden und Gegenständen zu verdampfen, sondern nur so viel, daß der Feuchtigkeitsgehalt der Luft von dem Sättigungspunkt noch erheblich entfernt bleibt (nicht wesentlich weniger als 40 und nicht über 80% r. F. bei etwa 30°, bei niedrigeren Temperaturen am besten gegen 80% r. F.). Hierdurch wird erreicht, daß keine Kondensation eintritt und folglich weder Möbel, Bronzegegenstände u. dergl. beschädigt werden, noch durch Übergang des Formaldehyds in Lösung eine Minderung der Desinfektionswirkung zu befürchten ist.

In besonderen Fällen kann es vorkommen, daß im Winter entweder eine bestehende Heizeinrichtung dem Desinfektionszweck nicht genügt oder der zu desinfizierende Raum, etwa ein Schlafzimmer, überhaupt keine Heizeinrichtung besitzt. Ersteres kann beispielsweise der Fall sein in großen Kasernenstuben oder in Barackenräumen auf Übungsplätzen, die ja mitunter, gerade bei Epidemien, auch in der kälteren Jahreszeit belegt werden müssen, und wo die vorhandenen Öfen bei weitem nicht ausreichen können, um wenigstens alle Teile des Raumes auf die gewünschte hohe Temperatur (mindestens 20°) zu bringen. In solchen Fällen werden Koakskörbe oder Holzkohlenbecken oder -Pfannen sehr gute Dienste leisten, da man dieselben in beliebiger Anzahl und über den Raum verteilt aufstellen kann. Was wir oben über die gewöhnliche Ofenheizung gesagt haben, gilt auch hier, am vorteilhaftesten wird der Raum nicht während der Desinfektionsausführung geheizt, sondern schon vorher. Es mag noch bemerkt

werden, daß die Größe der Wärmeentwicklung, die sich mittels Kohlenbecken erreichen läßt, wie neuere Forschungen ergeben haben<sup>1)</sup>, bisher ebenso sehr unterschätzt wurde als man geneigt war, die Gefahr einer hierdurch bedingten Kohlenoxydvergiftung zu überschätzen; Krell fand, daß bei sachgemäßer Behandlung der Kohlenbecken, wie sie in Rußland auch vielfach üblich sei, kein Kohlenoxyd auftrat oder doch nur in so geringen Spuren, die quantitativ nicht faßbar waren.

---

1) Otto Krell, Antike Heizungen. München, Oldenbourg, 1901.



## Studien zur relativen Photometrie.

Vom

Dozenten Dr. **Stanislav Růžicka**,

Assistenten am Institut.

(Aus dem hygienischen Institute des Prof. Dr. G. Kabrhel in Prag.)

Zur Bestimmung der Verteilung des Lichtes in einem beleuchteten Raume ist aufer der ziemlich mühsamen und in vielen Fällen wegen Lichtschwankungen praktisch kaum durchführbaren Methode der Feststellung der absoluten Belichtungsintensität einer Anzahl von Plätzen des betreffenden Raumes mittels eines exakten Photometers (z. B. des Weberschen Milchglasphotometers) nur für das Tageslicht noch die Methode der Raumwinkelmessung (nach Weber) vorhanden.

Bei der Benutzung des Photometers zum obigen Zwecke ergibt sich nämlich die Schwierigkeit, dafs die für alle Plätze gleichzeitige Ablesung nur dann möglich wäre, wenn für jeden Platz ein besonderer Photometer und ein mit seiner Handhabung vertrauter Beobachter vorhanden wäre. Sonst kann — wenn man nur mit einem Photometer arbeitet — während des Überganges von einem Platze zum anderen eine Lichtschwankung eintreten, so dafs dann das resultierende Verhältnis verschoben ist. Je gröfser die Lichtschwankungen sind, desto fehlerhafter ist dann das Resultat. Dieser Fall tritt besonders beim Taglicht in hohem Mafse ein, aber auch von der künstlichen Beleuchtung gilt — wenn auch in geringerem Mafse — dasselbe (Gasdruckschwankungen, Schwankungen des elektrischen Stromes).

Der Methode der Raumwinkelmessung aber haftet der Mangel an, daß sie als Lichtquelle für die Beleuchtung der Plätze eines Raumes nur die direkt von der leuchtenden Himmelsfläche auf dieselben treffenden Strahlen berücksichtigt, das von gegenüberliegenden Häusern, Wandflächen, der Zimmerdecke und von mannigfaltigen anderen Gegenständen reflektierte Licht dagegen unberücksichtigt läßt. Ganz abgesehen von der nicht geringen Schwierigkeit ihrer Ausführung, besonders bei mehrfenstrigen Räumen.

Der Cohnsche Lichtprüfer orientiert nur darüber, ob der betreffende Platz »vorzüglich« oder »gut« oder »schlecht« ist (beruht auf Herabsetzung der Lesbarkeit beigefügter Zahlentabellen durch Vorschaltung von [3 oder 2 oder 1] Rauchgläsern vor das Auge).

Außer diesen physikalischen Methoden ist es schon seit langem von einer großen Reihe von Forschern angestrebt worden, die chemischen Wirkungen der Lichtstrahlen als einen Maßstab für die Lichtintensität zu benutzen.

Die ersten waren Bunsen und Roscoe, welche das Chlorknallgasphotometer schon vor einem halben Jahrhunderte zu diesem Zwecke konstruierten. Da aber die Manipulation mit Gasen zu diesem Zwecke sehr umständlich ist, gingen diese Forscher bald zu einer festen Chlorverbindung über, welche ebenfalls durch Lichtstrahlen zerlegt wird, nämlich Chlorsilber in Form eines damit imprägnierten »lichtempfindlichen« Papiers.

Der zweite Grundstein zur Ausbildung dieser chemischen Lichtmessungsmethoden war das innerhalb weiter Grenzen gültige — wieder von Bunsen und Roscoe festgestellte — Gesetz, daß gleichen Produkten aus Beleuchtungsdauer ( $t_1$ ,  $t_2$ ) und chemischer Lichtintensität ( $J_1$ ,  $J_2$ ) gleiche Schwärzungen des lichtempfindlichen Papiers entsprechen:

$$J_1 t_1 = J_2 t_2$$

(bei gleicher Schwärzung des lichtempfindlichen Papiers!)

Zur praktischen Ausführung von Lichtmessungen auf Grund dieser Prinzipien haben sich nun die beiden Autoren erstens

einen »Normalton«, resp. »Normalschwärze« (feines inniges Gemenge von 1000 Gewichtsteilen reinen Zinkoxyds und einem Gewichtsteil reiner Rufskohle) und zweitens ein Normalpapier (Chlorsilberpapier)<sup>1)</sup> hergestellt. Als Maßeinheit wählten sie jene Lichtstärke, welche am Normalpapier innerhalb einer Sekunde den Normalton hervorbringt.

Weiterhin konstruierte Bunsen zum Zwecke der Exposition des Normalpapiers, dem zu bestimmenden Lichte ein »Pendelphotometer«, welcher Apparat einen Streifen des Normalpapiers binnen kurzer genau meßbarer Zeit derart zu exponieren erlaubt, daß verschiedene Teile verschieden lange aber bestimmte Zeit exponiert werden, wodurch eine abfallende Schwärzung auf demselben entsteht. Mittels des Teiles, auf welchem der Normalton entstanden ist, wird nun auf Grund der betreffenden Expositionszeit die Lichtintensität berechnet. — Die Ausführung der Methode ist recht schwierig und umständlich, sie wurde deshalb von Roscoe selbst später noch mehrfach abgeändert und vereinfacht, so daß der Pendelapparat nicht mehr zur Bestimmung der Expositionszeit der einzelnen Teile des Normalpapierstreifens — welche Bestimmung besonders schwierig war —, sondern nur zur Herstellung eines Normalpapierstreifens von abfallender Schwärze<sup>2)</sup> diente. Seine Calibrierung geschah aber empirisch: Roscoe liefs auf mehrere Normalpapierstückchen durch dieselbe Zeit bestimmte verschiedene Lichtintensitäten einwirken und suchte dann auf dem Papierstreifen mit abfallender Schwärze die entsprechenden Schwärzegrade auf, wodurch eine Skala erhalten wurde, welche eventuell durch Interpolation auch auf weitere Lichtintensitätsgrade schliesen liefs. Nach der oben angeführten

1) Tränkung des Papiers mit 3 proz. Kochsalzlösung, Trocknen, 5 Minuten im Finstern auf 12 proz. Silbernitratlösung schwimmen lassen, Trocknen im Finstern.

2) Bedeutend einfacher läfst sich ein solcher Papierstreifen mit abfallender Schwärze herstellen durch derartige Exposition eines Streifens gegenüber einer künstlichen Lichtquelle in der Dunkelkammer, daß das eine Ende des Streifens mehr vom Lichte entfernt ist als das andere, welches dem Lichte nächsten Teil des Streifens bildet (siehe weiter meine Methode der Skalenherstellung).

Gleichung  $J_1 t_1 = J_2 t_2$  können nun mit Hilfe dieses kalibrierten Streifens Bestimmungen unbekannter Lichtintensitäten vorgenommen werden.

Bedeutend vereinfacht wurde die Methode weiterhin von Stelling, welcher sich ebenfalls einen Normalpapierstreifen mit abfallender Schwärze mittels des Pendelphotometers herstellte, aber zum Zwecke der Graduierung kleine Streifen derselben Lichtintensität unter Variierung des anderen Faktors — der Expositionsdauer — exponierte.

In neuerer Zeit ist es Wiesner<sup>1)</sup> gelungen, eine noch größere Vereinfachung zu erzielen. Er bedient sich eines etwa  $8 \times 10$  cm großen Brettchens, welches mit schwarzem undurchsichtigem Papier überzogen ist, aus welchem Überzug aber längs einer ganzen Seite des Brettchens — etwa 1 cm vom Rande entfernt — ein 4—6 mm breiter Streifen ausgeschnitten ist. Von der Seite können unter das schwarze Papier Papierstreifen derart eingeschoben werden, daß sie im erwähnten Ausschnitt frei zu Tage liegen. Zum Zwecke der Lichtintensitätsbestimmung wird nun in den Ausschnitt der oben beschriebene Normalton als Vergleichston und ein zweiter Streifen unveränderten Normalpapiers eingeführt, so daß die beiden Streifen genau nebeneinander liegen und ihre Töne leicht verglichen werden können. Dann wird das Ganze dem zu messenden Lichte so lange exponiert, als das Normalpapier sich zum Normalton schwärzt. Setzen wir die dazu nötige Zeit als  $t$  an, so ist die Intensität des zu messenden Lichtes  $\frac{1}{t}$ .

Bei zu großen Lichtintensitäten würde natürlich  $t$  gar zu klein ausfallen, wodurch große Ablesungsfehler unvermeidlich werden würden. Deshalb hat Wiesner eine indirekte Bestimmung ausgebildet: Es wird zuerst bestimmt, in welcher Zeit eine beliebige schwache Lichtintensität 1. den Normalton und 2. einen

1) Denkschriften der mathematisch-naturwissenschaftlichen Klasse der Kaiserl. Akademie der Wissenschaften in Wien, Bd. LXIV, 1896. Separatdruck: Untersuchungen über das photochemische Klima von Wien, Kairo und Buitenzorg (Java).

dunkleren Ton, welcher durch das zu messende Licht in einer ziemlich langen, also gut ablesbaren Zeit am Normalpapier hervorgerufen wird, hervorbringt. Aus dieser Beziehung ist dann die fragliche Lichtintensität leicht zu berechnen. Zweitens hat Wiesner zu Messungen großer Lichtintensitäten auch seine einfachere direkte Methode brauchbar gemacht, indem er Mehrfachnormaltöne mittels beständiger Aquarellfarben herstellte und sie kalibrierte.

Alle diese erwähnten chemischen Lichtmessungsmethoden beziehen sich aber nicht auf den leuchtenden Teil der Lichtstrahlen, da dieser auf die empfindliche Silberverbindung nur sehr schwach einwirkt; die maximale Wirkung liegt in dem blauvioletteten Teile des Spektrums, und es können diese Methoden also korrekt nur auf diese sog. »chemischen« Strahlen angewendet werden.

Nur dann wären diese Methoden zur Messung des eigentlichen »Lichtes« brauchbar, wenn 1. das Verhältnis zwischen den »chemischen« und leuchtenden Strahlen in allen Lichtarten dasselbe wäre oder 2. wenn wir eine empfindliche Substanz hätten, welche auf die verschiedenen Teile des Spektrums ebenso reagieren würde wie die Netzhaut unseres Auges, welche das Maximum der Empfindlichkeit im gelben Teile des Spektrums besitzt.

Die erste Bedingung trifft bei weitem nicht zu: Die Zusammensetzung des Lichtes ist in dieser Beziehung sehr verschieden bei verschiedenen Lichtquellen.

Allerdings kann sie bei einer bestimmten Lichtart ziemlich konstant sein, wobei dann eine Lichtmessung der betreffenden Lichtart nach Kalibrierung des empfindlichen Papiers auf diese Lichtart auch in Bezug auf die leuchtenden Strahlen möglich wäre.

Diesen Weg hat Crzellitzer<sup>1)</sup> in Bezug auf das Auerlicht eingeschlagen und sich zu diesem Zwecke ein im wesentlichen dem Vogelschen Aktinometer entsprechendes Instrumentchen konstruiert, bei welchem Stückchen des empfindlichen Papiers

---

1) Archiv f. Hygiene, XXXVIII, 317 (1900).

1. direkt, 2. mit einer Lage Seidenpapier bedeckt, 3. mit zwei Lagen Seidenpapier bedeckt, 4. mit drei Lagen Seidenpapier bedeckt u. s. w. 45 Minuten exponiert werden. Ist selbst auf dem ganz unbedeckten Teile keine Reaktion zu erkennen, so bedeutet das bei dem von Crzellitzer benutzten Papier weniger als 13 Meterkerzen, Reaktion auf dem unbedeckten und eine schwächere auf dem mit einer Lage Seidenpapier bedeckten Teile bedeutet mindestens 24 Meterkerzen u. s. w.

Die im Deutschen Reiche patentierte Methode von Baurat Wingen basiert darauf, daß die auf den zu untersuchenden Plätzen exponierten Papierstückchen mit einem solchen verglichen werden, auf welches eine Lichtintensität von 50 Meterkerzen durch dieselbe Zeit eingewirkt hat: die »blässeren Plätze« gelten als ungenügend beleuchtet. — Jedenfalls müßte bei dieser Methode das 50 Meterkerzenpapier immer mittels derselben Lichtart hergestellt werden, was beim Taglicht praktisch kaum möglich sein dürfte<sup>1)</sup>, bei anderen Lichtarten aber außerdem ein nicht geringes Instrumentarium (darunter ein exaktes Photometer) und nicht geringe Arbeit erfordern würde. Die Forderung von wenigstens 50 Meterkerzen dürfte als entschieden zu hoch ge-griffen bezeichnet werden müssen. Ganz ähnliche Wege haben übrigens zur hygienischen Taxierung der Beleuchtung einzelner Plätze z. B. eines Schullokalen auch Andere vor Wingen einzuschlagen versucht (z. B. Wolpert in Berlin), und das Grundprinzip — Kopierpapierstückchen auf verschiedenen Plätzen zu exponieren und aus der Verdunkelung auf die Belichtungsintensität zu schließen, — welches unbegreiflicherweise im Patentanspruch enthalten ist, dürfte als allgemein bekannt bezeichnet werden.

1) In der Anleitung zum Gebrauch des Instrumentchens heißt es, das beigefügte Normaltonvergleichspapier sei bei 50 Meterkerzen Taglicht bei hellem Tag, 11—12 Uhr, wechselnder Bewölkung (April), hergestellt worden. Wie das möglich wäre, durch eine ganze Stunde und zwar noch bei wechselnder Bewölkung am Expositionsplatze ständig genau 50 Meterkerzen (und zwar noch derselben Art Taglicht) zu haben, ist mir unbegreiflich. Es werden darüber auch leider keine Angaben gemacht. (Das Instrumentchen ist bei F. Tiessen, Breslau I, Schmiedebrücke 30 erhältlich.)

Im Weiteren werde ich übrigens bei Auseinandersetzung meiner Versuche Gelegenheit haben zu erwähnen, daß möglicherweise auch in einem und demselben Raume, welcher von einer (primären) Lichtquelle beleuchtet wird, das Licht nicht überall in Bezug auf das Verhältnis der chemischen zu den leuchtenden Strahlen genügend gleich zusammengesetzt ist.

Die zweite Bedingung ist durch das Andresensche Papier wenn nicht erfüllt, so sicher wenigstens der Erfüllung bedeutend nähergebracht worden<sup>1)</sup>.

Andresen ist es nämlich gelungen, das Bromsilberpapier mittels des Rhodamins *B* derart zu sensibilisieren, daß es außer dem alten Empfindlichkeitsmaximum in Violett noch ein starkes zweites im Gelben besitzt. Um nun nur die leuchtenden Strahlen auf das Papier einwirken zu lassen, filtriert Andresen den violetten Teil durch Auflegen einer mit Auramin gefärbten Glasplatte<sup>2)</sup> auf sein empfindliches Papier ab.

Dadurch, daß das Papier außer dem für uns brauchbaren Empfindlichkeitsmaximum auch noch das alte hat, wird die Handhabung des Papiers für die Praxis allerdings — wie mir Andresen selbst mitgeteilt hat — bedeutend erschwert.

Mir ist es nun gelungen, das Papier so herzustellen, daß es ohne Vorschaltung eines blauviolette Strahlen absorbierenden Filters ganz an und für sich schon nur das eine Maximum im Gelben besitzt.

Ich erzielte dies dadurch, daß ich dem Andresenschen Papier einfach das Filter einverleibt habe.

Die Herstellung ist einfach und dürfte nach dem Urteil eines Fachmannes kaum höher als diejenige der gewöhnlichen Kopierpapiere kommen:

Das photographische Rohpapier wird 5 Minuten lang in einer Auflösung von 61 g Bromkalium in 1000 g Wasser gebadet und vertikal aufgehängt und an der Luft getrocknet. Dann bei

---

1) Photographische Korrespondenz, 1898. (Zur Aktinometrie des Sonnenlichtes.)

2) Eigentlich ist nur eine auf der Glasplatte befindliche feine Gelatineschicht gefärbt; siehe weiter unten.

rubinrotem Lichte in der Dunkelkammer mit einer 12 proz. Silbernitratlösung während 2 Minuten behandelt und sogleich viermal je 2 Minuten in immer erneuertem Wasser ausgewässert und dann 5 Minuten in einer Lösung aus

200 ccm Wasser,

6 g Natriumnitrit,

5 ccm einer alkoholischen Lösung von Rhodamin *B* 1 : 200 gebadet und, ohne auszuwässern im Dunkeln wieder vertikal aufgehängt, getrocknet.

Bisher ist es das Andresensche Papier, welches zwei Empfindlichkeitsmaxima hat: erstens das alte im Violett und dann ein zweites im Gelb.

Ich füge nun dem Papier unmittelbar das blauviolette, Strahlen absorbierende Filter an, indem ich die empfindliche Fläche mit einer Schicht von Collodium oder Celloidin überziehe, in welchem vorher Auramin aufgelöst worden ist.

Fernerhin will ich versuchen, für besondere Zwecke Papier von höherer Empfindlichkeit und starken Kontrasten durch stärkere (z. B. doppelte) Beladung mit Bromsilber herzustellen, indem ich nach der Auswässerung das Papier im Dunkeln trocknen und dann von neuem mit Bromkali<sup>1)</sup> und Silbernitrat behandeln will, worauf dann die ganze Prozedur auf die beschriebene Art weiter fortgesetzt wird.

Mein Papier ist auf der empfindlichen Fläche leuchtend orange gelb und wird durch Lichteinwirkung bräunlich bis schwarzbraun; bei stärkerer Beladung mit Bromsilber werden wohl endlich fast ganz schwarze Töne noch hinzukommen.

Außer den technischen Vorteilen meines Papiers vor dem Andresenschen — welche in Einfachheit der Handhabung (infolge des Wegfalls eines besonderen Lichtfilters) und Billigkeit<sup>2)</sup>

1) Diesesmal natürlich schon auch im Dunkeln.

2) Andresen stellt das Auraminfilter folgender Art her (nach mündlicher Mitteilung): Ungebrauchte Bromsilber-Gelatineplatten werden in der Dunkelkammer ausfixiert, gründlich ausgewässert, getrocknet. Dann 10 Minuten unter fortwährender Bewegung der Schale in wässriger Auraminlösung 1 : 60 gebadet und hierauf während 1 Minute in viel Wasser abgespült, dann getrocknet.



(aus demselben Grunde) bestehen —, sind zwei sachliche hervorzuheben:

Die Lichtabsorption durch die Glasplatte des Andresenschen Auraminfilters kommt in Wegfall, so daß das Licht weniger geschwächt (nur durch die äußerst feine Collodiumschicht) zur Wirkung gelangt, wodurch also die Methode empfindlicher wird, was besonders bei schwächeren Lichtintensitäten sehr notwendig ist.

Zweitens ist der Kontrast der Töne (leuchtend orange-gelb, braun, schwarzbraun) meines Papiers nach Urteil unter Anderen des Herrn Dr. Andresen<sup>1)</sup> selbst schärfer als bei seinem Papier (bläulichrot, violett, rötlichgrau-dunkelblau), was für die Ablesung natürlich von Vorteil ist.

Nun aber ist noch ein weiterer Umstand zu erwähnen. Unsere Netzhaut hat, wie schon erwähnt, ihr Empfindlichkeitsmaximum im gelben Teile des Spektrums, und vom Gelben klingt nach beiden Seiten die Empfindlichkeit ab (unsere Netzhaut empfindet einerseits das Orange, Rot, andererseits das Grün, Blau, Violett, aber die ultraroten und die ultravioletten Strahlen nicht mehr). Es ließe sich sicher eine Kurve konstruieren, welche dieses Abklingen graphisch darstellen würde. Es fragt sich nun, ob auch für das Andresensche und das meinige Papier die Empfindlichkeitskurve für das »Gelbmaximum« genau dieselbe wäre, denn nur dann wäre dieses Papier ein ganz genau adäquates Maß für die Empfindungen der Netzhaut.

A priori kann man sagen, daß es ein besonders günstiger Zufall wäre, wenn dies zutreffen würde. Eine genaue Beantwortung der Frage wird aber sehr viel experimentelle Arbeit erfordern, welche ich noch nicht Gelegenheit hatte auszuführen.

Trifft dies nicht zu, so haben wir in diesem Papier zwar sicher ein bei Weitem unvergleichlich besseres Maß für Licht-

---

1) Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. Andresen auch an dieser Stelle meinen wärmsten Dank auszusprechen für die außerordentliche Bereitwilligkeit, mit welcher er mir sein Laboratorium in der photographischen Abteilung der Aktiengesellschaft für Anilinfabrikation in Berlin, dessen Leiter er ist, zur Verfügung stellte. Derselbe Dank meinerseits gebührt der Fabrikdirektion.

bestimmungen als im violett empfindlichen, aber ein ganz genaues doch noch nicht.

Es ergibt sich somit aus dem ganzen bisher Mitgeteilten, das wir eigentlich keine genügend korrekte und doch praktisch brauchbare Methode zur Bestimmung der Lichtverteilung ausgearbeitet haben, und doch wäre eine solche leicht ausführbare Methode sehr erwünscht, da noch sehr viele Fragen der Hygiene der Beleuchtung geschlossener Räume ihrer Lösung — welche eben nur an der Hand von Lichtverteilungsbestimmungen möglich ist — harren. Zum Beispiel die Frage des Einflusses der Anordnung und Ausführung der Lichtöffnungen (Fenster), der Strafsenbreite und Häuserhöhe, der Art des Wandanstriches, der Tageszeiten auf die Lichtverteilung im Raume.

Um nun auch mit einem nicht ganz adäquaten empfindlichen Papier Bestimmungen der Lichtverteilung vornehmen zu können, habe ich einen Weg eingeschlagen, welchen ich im folgenden beschreiben will.

Ich bin nämlich auf den Gedanken gekommen, eine Art relativer Lichtmessung mit Hilfe des lichtempfindlichen Papiers auszuarbeiten, mit deren Hilfe es möglich wäre, die Belichtungsintensitäten aller gewählten Plätze eines Raumes im Verhältnis zu einem beliebig gewählten von ihnen — z. B. zu dem dunkelsten, zu dem lichtesten, oder zur Lichtintensität vor dem Fenster im Freien — für einen und denselben Zeitabschnitt zu bestimmen.

Dadurch eliminiert man nämlich — wie ich anfangs der Anschauung war, vollständig — die Verschiedenartigkeit (in Bezug auf das Verhältnis der chemischen<sup>1)</sup> und der optischen Strahlen) der je verglichenen zwei Lichtintensitäten. Man hat kurz gesagt **in jedem Falle** — wie ich meinte — **das exakt adäquate Vergleichsobjekt, Licht desselben Ursprungs.**

---

1) Bei meinem Papier ist natürlich das chemische Maximum im Gelben, bei den gewöhnlichen Papieren im Violetten, beim Andrese'schen Papier ist fast das ganze Spektrum »chemisch wirkend«.

(Die Art der Erueirung des Verhältnisses der beiden je verglichenen gleichartigen Lichtintensitäten aus den beiden exponierten Papierstückchen wird weiter unten geschildert werden.)

(Genauere Auseinandersetzung der Brauchbarkeit dieser meiner relativen Photometrie zu hygienischen Zwecken will ich am Ende dieser Arbeit anfügen.)

Allerdings hat sich mir aber das gewöhnliche photographische Kopierpapier zu genauen Messungen auch mit dieser Methode als ungeeignet erwiesen, und ich bin zur Überzeugung gekommen, dafs bei der weiteren Ausarbeitung dieser Methode ein Papier anzuwenden ist, welches auf denselben Teil des Spektrums empfindlich wie die menschliche Netzhaut, möglichst »netzhautäquivalent« im vorher besprochenen Sinne ist. Da es nun gelungen ist, solches oder wenigstens dem sehr nahes Papier herzustellen, dürfte diese Methode auch zu genauen Messungen anwendbar werden.

Mit dem gewöhnlichen Celloidinpapier habe ich zuweilen recht genaue, in anderen Fällen aber ziemlich abweichende Werte (sogar um 20 bis 30 %) bekommen.

Ich will nun im folgenden meine mit dem gewöhnlichen Celloidinpapier Pensée gemachten Erfahrungen kurz beschreiben, da ich wegen mehrmonatlicher Abwesenheit die Experimente unterbrechen mußte.

Nachher will ich diese Studien mit meinem netzhautartig empfindlichen Kopierpapier fortsetzen.

Das Prinzip der Methode beruht darauf, dafs, wenn ein Stück photographisches Kopierpapier einer Beleuchtungskraft 1, ein zweites Stück desselben Papiers einer Beleuchtungskraft desselben Lichtes, aber von der Intensität 2 während desselben Zeitabschnitts ausgesetzt wird, die beiden Papiere je einen bestimmten dunkleren Ton bekommen. Das Verhältnis der Dunkelheit beider Papiere entspricht in einer bestimmten Art dem Verhältnis der Beleuchtungsintensitäten.

Die Beziehung dieser beiden Verhältnisse ist aber keineswegs so einfach wie sie erwartet werden könnte: Es entspricht nämlich einer doppelten Beleuchtungsintensität nicht eine doppelte Dunkel-

heit (an der Lichtabsorption durch die dunkel gewordene Substanz unter Ausschluss der Absorption durch das Papier selbst gemessen), sondern eine geringere; es entsprach z. B. nach meinen Messungen einer vierfachen Beleuchtungsintensität eine nur 2,2fache Dunkelheit.

Da also eine einfache mathematische Beziehung zwischen der Beleuchtungskraft und der durch dieselbe hervorgerufenen Verdunkelung des Papiers nicht besteht, so mußte ich mir einen empirischen Maßstab dieser Beziehung verschaffen.

Dies wurde dadurch erreicht, daß ein Stück photographisches Kopierpapier z. B. in 12 gleiche kleine Stücke zerschnitten wurde (je  $2 \times 4,5$  cm), von welchen jedes längs der kürzeren Seiten mittels gummierten Papierstreifchens auf ein in der Mikroskopie gebräuchliches Objektträgerglas aufgeklebt (die empfindliche Seite vom Glase abgewendet). Diese, mit dem Kopierpapier armierten Objektträger wurden dann in einer innen mattschwarz angestrichenen Holzkiste mittels in den Boden derselben in entsprechenden Entfernungen eingestochener Stecknadeln so aufgestellt, daß sie von einer Lichtquelle, z. B. 15, 17, 20, 22, 25, 28, 30, 32, 34, 37, 40, 43 cm entfernt waren und die Lichtstrahlen senkrecht auf ihre dem Lichte zugewendete empfindliche Fläche auffielen.

Die auf die Richtung der Lichtstrahlen genau senkrechte Einstellung der Papierblättchen ist leicht dadurch zu erreichen, daß man diejenige Lage des betreffenden Objektträgers aufsucht, bei welcher das Kopierpapier dem durch die Flamme der Lichtquelle dasselbe betrachtenden Auge glänzend erscheint, ein Beweis, daß die auffallenden Lichtstrahlen auf demselben Wege, auf welchem sie zum Papier gekommen sind, wieder reflektiert werden, was eben nur bei senkrechter Einfallrichtung geschieht.

Alle diese Arbeiten — höchstens die genaue senkrechte Einstellung der Papierblättchen auf die Strahlrichtung kann bei schwachem Licht eine Ausnahme bilden — werden in der Dunkelkammer bei rotem Licht vorgenommen, um eine vorzeitige Lichtwirkung auf das Papier zu vermeiden.

Hierauf läßt man das Licht auf die Papiere so lange einwirken, bis das demselben nächste Papier intensiv braun erscheint;

die anderen sind begrifflicherweise — da die Intensität des Lichtes im quadratischen Verhältnisse der Entfernung abnimmt — je weiter vom Lichte desto blasser. Diese Einwirkung wird zum Beispiel bei Benutzung des gewöhnlichen Celloidinpapiers und einer gewöhnlichen Gasschnittflamme in einigen 12 Stunden erreicht. — Die eventuellen Schwankungen des Lichtes, mögen sie auch sehr groß sein, haben auf die Richtigkeit des Resultates keinen Einfluß, da sie für alle Papiere in derselben Weise zustande kommen; das Entscheidende dabei ist nur das Verhältnis der Entfernungen von der Lichtquelle.

Auf diese einfache Art bekommt man eine Skala, deren jede Stufe mit der die Entfernung des betreffenden Papierstückes vom Lichte (resp. Lichtzentrum) in Centimetern<sup>1)</sup> möglichst genau bezeichnenden Zahl versehen wird.

Wollen wir nun mittels dieser Skala das Verhältnis der Beleuchtungsintensität zweier Plätze bestimmen, welche von einer und derselben Lichtart beleuchtet werden, so hat man auf diesen

1) Man verfährt am besten so, daß man die Entfernungen der einzelnen Papierstücke im voraus nur ungefähr bestimmt wählt und erst nach genauer Einstellung (senkrecht auf die Richtung der Lichtstrahlen) mittels des Centimetermaßes sie genau ermittelt. Bei der Gasschnittflamme und Acetylenflamme empfiehlt sich folgendes einfaches Verfahren zur genauen Bestimmung der einzelnen Entfernungen: Es wird ein längerer dünner Glasstab mit dem einen Ende bis knapp an das betreffende Papierstückchen so genähert, daß der Glasstab gleichzeitig ungefähr die Mitte der leuchtenden Flammenfläche passiert. In dieser Position wird das Glasstäbchen einige Augenblicke gehalten, so daß die Flamme auf demselben Ruß absetzt. Die Entfernung des Rußringes vom Ende ist dann die gesuchte Distanz, welche dann mittels des Centimetermaßes abgelesen wird. Am meisten zu empfehlen ist aber, sich auf ein wagerechtes, ebenes Brettchen, welches am Rande einen halbkreisförmigen Ausschnitt von etwa 1 cm Durchmesser besitzt, in welchen die (am besten kurz kegelförmige) Flamme (das Ende des Rohres des leuchtenden Bunsenbrenners) immer eingestellt wird, im Bogen eine Anzahl von der Lichtquelle (dem Ausschnitt) verschieden entfernter vierkantiger Holzpflockchen — mit einer Fläche genau senkrecht auf den betreffenden vom Ausschnitt ausgehenden Radius — aufzukleben. Jedes Pflockchen wird mit zwei Drahtreifehen — einem nahe dem oberen, einem nahe dem unteren Ende des Pflockchens — versehen, unter welche bei Anfertigung der Skala das Kopierpapierstückchen eingeschoben wird. Das Brettchen wird samt den Pflockchen mattschwarz gestrichen und die Entfernung jedes Pflockchens vom Mittelpunkte des Ausschnittes ein für allemal festgestellt.

Plätzen je einen kleinen Streifen desselben Kopierpapiers, aus welchem die Skala hergestellt ist, so lange gleichzeitig zu exponieren, bis eine ziemlich intensive Bräunung des stärker belichteten und eine nicht zu blasser Verfärbung des schwächer belichteten Papiers erfolgt ist. Diese Töne müssen innerhalb der Tonintensitäten der Skala bleiben; gut ist es, sich eine dunklere (längere Exposition) und eine zweite hellere Skala (kürzere Exposition) zu bereiten. Es ist aber leicht begreiflich, daß die gar zu dunklen (schwarzbraunen), sowie auch die gar zu blassen (rosa) Töne zu vermeiden sind, da dann die Unterschiede weniger scharf erkannt werden können.

Hat man nun die beiden zu vergleichenden Papierstücke in den passenden Intensitäten, so verfährt man nun folgender Art weiter: Die Papierstücke werden, ihrer Bräunung entsprechend, in die Skala eingereiht und die auf dieselben entfallenden Zahlen notiert.

Es hat sich mir am besten das folgende Verfahren bei der Einreihung in die Skala bewährt: Die einzelnen Papierstückchen der Skala werden mit ihren Enden in entsprechend angeordnete Schlitze eines festeren Papierblattes eingesteckt, so daß die Enden an der Hinterseite des Papiers hervorragen, der mittlere Hauptteil aber auf der Vorderseite zu Tage liegt. Über jedem Papierstückchen wird die Zahl aufgeschrieben, welche seine Entfernung in Centimetern vom Lichte bei der Anfertigung der Skala ausdrückt. — Der einzureihende Papierstreifen wird zuerst grob durch flüchtige Vergleichung mit den einzelnen Skalastufen eingereiht und dann folgender Art fein eingestellt: er wird auf einen der ihm nahestehenden Skalapapiere aufgelegt, so daß das — bedeutend größere — Skalapapier rund herum unter demselben hervorragt. Hat der verglichene Papierstreifen genau denselben Ton wie das Skalapapier, so verfließt er mit dem Tone des letzteren, so daß er für das Auge von dem Skalapapier nicht unterscheidbar ist. Sonst bildet er in dem Felde des Skalapapiers einen mehr oder weniger helleren oder dunkleren Fleck, in welchem Falle man dann dieselbe Vergleichung mit dem benachbarten dunkleren resp. helleren »Skalagrade« vornimmt, bis man entweder findet, daß das Papierstückchen dem

Tone nach mit einem Skalagrade genau übereinstimmt, oder daß sein Ton zwischen zwei Skalagraden liegt. Zur scharfen Erkennung des richtigen Verhältnisses ist es nötig, die beiden aufeinander liegenden Papiere dabei durch eine aufgedrückte Glas- tafel zu betrachten, wodurch eine genauere Abschätzung ermög- licht wird, da die beiden Papiere nur dann genau aneinander aufgedrückt und die eventuellen Unebenheiten der verglichenen Papierstücke, welche Täuschungen hervorrufen könnten, behoben werden können. Am einfachsten bedient man sich dazu eines reinen Objektträgerglases auf dessen einem Ende man ein Stück- chen Glasstab oder Glasröhre senkrecht auf die Fläche des Ob- jektträgers mittels dicken Canadabalsams aufkittet, wodurch die Glasplatte eine gute Handhabe bekommt, so daß man an den Skalapapieren nicht (beim Heben u. s. w. der Glasplatte) mit den Fingern herumgreifen muß.

Aus naheliegenden Gründen müssen natürlich alle Manipu- lationen mit den Skalen und den exponierten, zu vergleichenden Papierstreifen in dem chemisch unwirksamen roten Lichte — in der Dunkelkammer oder nachts — vorgenommen werden, um eine nachträgliche Lichtwirkung auszuschließen. Es empfiehlt sich nicht, die Papiere zu vergolden und zu fixieren, um die erreichten Intensitäten zu fixieren, lichtfest zu machen. Es wäre zwar weit einfacher, wenn man bei beliebigem Lichte zu arbeiten vermöchte, aber es gehen bei der Fixierung feinere Nuancen bekanntlich verloren, und es könnten so bei den mannigfaltigen chemischen Eingriffen, welche dabei vor sich gehen, Verschie- bungen der ursprünglichen Tonverhältnisse eintreten.

Ich bin aber damit beschäftigt, die Herstellung lichtfester Skalen auszuarbeiten, mit welchen man dann die Ablesungen im schwachen gewöhnlichen Lichte vornehmen könnte.

Hat man nun die beiden Papierstreifen genau in die Skala eingestellt, so erfolgt dann die Berechnung:

Sagen wir, daß wir die Zahlen 23, 39 bekommen haben. In diesem Falle kann man annehmen, daß das auf den dunkleren Platz auffallende Licht im Vergleich mit dem auf den helleren Platz auffallenden in demselben Verhältnis (stärker zerstreut, also)

schwächer war, wie es bei der Herstellung der Skala das auf den 39 cm von der Lichtquelle entfernten Kopierpapierstreifen auffallende Licht im Verhältnis zu dem auf den blofs 23 cm entfernten Kopierpapierstreifen auffallenden Lichte war.

Diese Annahme dürfte ziemlich klar erscheinen und läfst sich auch aus dem oben erwähnten Bunsen-Roscoeschen Gesetze  $J_1 t_1 = J_2 t_2$  herleiten. Ihre Richtigkeit kann aber auch leicht durch das Experiment bewiesen werden. In diesem Experimente können wir die schon oben erwähnten zwei Skalen — die hellere und die dunklere — sehr gut benutzen.

Wählen wir aus der helleren Skala zwei Papiere, deren Töne noch innerhalb des Bereiches der dunkleren Skala liegen, z. B. dasjenige, welches 15 cm und ein anderes, welches 26 cm weit von der Lichtquelle exponiert war, und reihen sie in die dunklere Skala ein, so finden wir, dafs sie hier mit den Entfernungen 23 und 40 übereinstimmen. Fragen wir nun, welches Verhältnis der Beleuchtungsintensitäten diesen Zahlen entspricht, so finden wir, dafs es<sup>1)</sup> im ersten Falle das Verhältnis

$$26^2 : 15^2 = 676 : 225 = 3,0 : 1,$$

im zweiten Falle

$$40^2 : 23^2 = 1600 : 529 = 3,0 : 1 \text{ ist.}$$

Ein anderes Beispiel:

Die Papiere 15, 22 der helleren Skala stimmen mit den Entfernungen 23, 34 der dunkleren Skala überein; wir bekommen also die Verhältnisse

$$22^2 : 15^2 = 484 : 225 = 2,2 : 1$$

$$34^2 : 23^2 = 1156 : 529 = 2,2 : 1 \text{ u. s. w.}$$

Was besagen uns diese Zahlen weiter? Um dies zu verstehen, müssen wir uns vergegenwärtigen, wie die beiden Skalen — die hellere und die dunklere — entstanden sind. Beide sind durch Exposition einer Serie von Kopierpapierstückchen der Einwirkung desselben Lichtes in denselben steigenden Entfernungen entstanden, aber der Unterschied lag in der verschiedenen Länge

---

1) Nach dem Gesetze, dafs die Beleuchtungsintensität mit dem Quadrate der Entfernung von der Lichtquelle umgekehrt proportional ist.



der Expositionszeit. Infolgedessen blieb es bei der kürzer exponierten Skala bei lichterem Tönen, während die länger exponierte aus dunkleren Tönen besteht, und es entsprechen somit die Töne zweier in verschiedenen Entfernungen exponierten Papiere der helleren Skala, den Tönen der Entfernung vom Lichte nach entsprechenden Papierstückchen der dunkleren Skala der Dunkelheit nach nicht, sondern die ersteren sind heller. Wir müssen also ihnen gleichgetonte in der dunkleren Skala in größeren Entfernungen vom Lichte suchen: Und dabei finden wir, was allerdings bei reifer Überlegung schon a priori zu erwarten war, daß sie solchen Entfernungen in der dunkleren Skala entsprechen, deren Quadrate den zweiten Potenzen der ersteren proportional sind.

Mit anderen Worten gesagt: Wirken auf photographisches Kopierpapier zwei verschieden abgestufte Intensitäten desselben Lichtes eine bestimmte Zeit ein, und im zweiten Falle zwei schwächere, aber zu einander in demselben Verhältnis stehende Intensitäten desselben Lichtes, so stellt sich im zweiten Falle nach einiger (längerer als im ersten Falle) Zeit genau dieselbe Verdunkelung der Kopierpapierstückchen ein. Und wenn wir das Gesagte umkehren, so sind wir zur Grundidee meiner Methode gelangt: Bringen zwei Intensitäten desselben Lichtes auf dem Kopierpapier in einer beliebigen Zeit bei gleichzeitiger Einwirkung dieselbe Verdunkelung hervor, wie zwei andere in **bekanntem** Verhältnis stehende Intensitäten desselben Lichtes im Verlaufe einer beliebigen anderen Zeit, so ist das Verhältnis der ersteren demjenigen der letzteren gleich, und da wir das letztere kennen, also auch bekannt.

Um nun dieses Faktum methodisch zur Messung der Verhältnisse von unbekanntem Beleuchtungsintensitäten benutzen zu können, brauchen wir uns nur eine Sammlung von Stückchen desselben Kopierpapiers herzustellen, welche verschiedenen zu einander in bekanntem Verhältnisse stehenden Intensitäten desselben Lichtes alle dieselbe Zeit exponiert waren. Die Abstufung der auf einzelne Papierstückchen einwirkenden Lichtintensitäten geschieht

einfach durch Exposition der Papierstücke in verschiedenen, aber genau festgestellten Entfernungen von der Lichtquelle (wobei natürlich auch der Einfallswinkel bei allen derselbe sein muß, am einfachsten 90°; siehe die Methode der Herstellung der Skala).

Nachdem wir somit die gemachte Annahme (Seite 246, letzter Absatz) als richtig erwiesen haben, gehen wir nunmehr zur Fortsetzung der Berechnung, über welche wir unterbrochen haben.

Da wir gefunden haben, daß die exponierten Papierstreifen mit den Zahlen 23 und 39 der Skala übereinstimmen, so können wir unmittelbar nach dem eben Dargelegten sagen, daß die auf die exponierten Papierstreifen einwirkenden Lichtintensitäten in demselben Verhältnis zu einander gestanden sind wie die Lichtintensitäten, welche bei der Herstellung der Skala auf die 23 und 39 cm vom Lichte entfernten Skalapapiere auffielen. Und dieses Verhältnis war somit, dem Gesetze von der der Entfernung von der Lichtquelle umgekehrt proportionalen Abnahme der Lichtintensität gemäß:

$$39^2 : 23^2 = 1521 : 529 = 2,9 : 1$$

oder einfachere Berechnungsweise:

$$39^2 : 23^2 = \left(\frac{39}{23}\right)^2 : 1^2 = 1,7^2 : 1 = 2,9 ; 1.$$

Bezüglich der Herstellung der Skala ist noch ein wichtiger Umstand zu erwähnen.

Es bietet sich nämlich die Frage, ob und inwieweit es nötig ist, für Untersuchungen mit verschiedenen Lichtarten die nötige Skala immer mittels desselben Lichtes herzustellen, welches eben studiert wird.

Diese Frage erscheint deshalb berechtigt, weil es z. B. a priori nicht auszuschließen ist, daß die auf die empfindliche Substanz des Kopierpapiers einwirkenden Strahlen bei verschiedenen Lichtarten in folgender für unsere Frage wichtigen Art voneinander abweichen könnten: Es könnten nämlich diese wirksamen Strahlen bei der einen Lichtart durch die gebräunte Substanz des Kopierpapiers stärker, bei der anderen schwächer absorbiert werden, was in dem ersteren Falle ein schneller, im zweiten ein langsamer

fortschreitendes Dunkelwerden bedingen würde. Infolgedessen wäre die Skala der einen Lichtart zur Messung der anderen im Allgemeinen nicht verwendbar.

Man könnte zwar darauf im Allgemeinen antworten: es kann also einfach immer die Skala mittels des eben zu untersuchenden Lichtes hergestellt werden. Aber diese Frage ist — abgesehen von dem theoretischen Interesse — auch in der Beziehung von praktischer Wichtigkeit, daß es nicht bei allen Lichtarten gleich leicht und einfach ist, die Skala herzustellen. Besonders bei der Anfertigung der Sonnenlichtskala besteht in der Hinsicht Schwierigkeit — im Vergleich zu der großen Einfachheit bei den künstlichen Lichtquellen — daß die Sonnenstrahlen — die direkten — praktisch parallel sind, also unter unseren irdischen Verhältnissen das Gesetz von der Abnahme der Lichtintensität mit der Entfernung von der Lichtquelle uns in diesem Falle nichts hilft. Hier muß ein leuchtender Punkt, von welchem divergierende Sonnenstrahlen ausgehen, erst geschaffen werden, was durch Sammlung der Strahlen durch eine Kollektivlinse zu bewirken ist, deren Brennpunkt dann den leuchtenden Punkt darstellt. In den Strahlenkegel hinter dem Brennpunkt werden dann die Kopierpapierstückchen senkrecht auf die Richtung der auffallenden Strahlen in bestimmten Entfernungen vom Brennpunkte aufgestellt. Ziemlich einfach läßt sich ein Apparat zu diesem Zwecke aus einer Schachtel, in deren eine Wand man den Tubus eines Mikroskopokulars mit der unteren Linse einläßt, herstellen. Auf dem Boden der Schachtel zeichnet man sich die seitliche Projektion des von der Linse gebildeten Strahlenkegels auf und steckt die Kopierpapierstreifen in ausgespannte Doppelfäden, in welche ihre beiden Enden eingeklemmt werden, in entsprechenden Lagen fest. Der Apparat wird dann den direkten Sonnenstrahlen (nicht dem diffusen Tageslicht) so exponiert, daß die Richtung der Sonnenstrahlen derjenigen der optischen Achse der Linse eine parallele ist. Außerdem wird durch kurzes Öffnen des Apparates von der Seite zeitweise kontrolliert, ob die Papierstreifen von dem Strahlenkegel richtig getroffen werden. Eine zweite Schwierigkeit bei der Anfertigung der Sonnenlichtskala

besteht darin, daß sich die Richtung der Strahlen wegen der Bewegung der Sonne am Himmelsgewölbe langsam verändert, bei genauer Arbeit müßte der oben beschriebene Apparat zur Anfertigung der Sonnenskala an einer Vorrichtung befestigt werden, welche der Veränderung der Richtung der Sonnenstrahlen genau folgen würde (Heliostatt). Bei Benutzung eines empfindlichen Kopierpapiertes und ungedämpftem Licht kommt diese Schwierigkeit allerdings nur sehr wenig in Betracht, da eine Exposition von einer Minute oder sogar von Bruchteilen derselben bei starker Insolation (im Sommer) hinreichen kann. Bei längerer notwendiger Expositionszeit kann man sich auch dadurch helfen, daß man in kurzen Intervallen mittels eigener Hand den Apparat je nach der veränderten Richtung der Sonnenstrahlen verstellt.

Es zeigte sich nun bei meinem daraufhin gerichteten Untersuchungen, daß in der That in der erwähnten Richtung fühlbare Unterschiede zwischen den einzelnen mittels verschiedener Lichtarten hergestellten Skalen bestehen: so z. B. zwischen der Gaslicht- und Auergaslichtskala. Es entsprachen Entfernungen der beiden Skalen einander wie folgt:

Auerlichtskala	Gaslichtskala
21	16
22,5	17
26	20
27,5	21
31	23,5
33	24,5
35,5	26
37,5	27,5
41	30
42,5	31.

Greifen wir daraus einige Verhältnisse heraus: .

Auerlichtskala	entsprechendes Verhältnis der Gaslichtskala
$21^2 : 33^2 = 441 : 1089 = 1 : 2,5$	$16^2 : 24,5^2 = 256 : 600 = 1 : 2,4$
$26^2 : 41^2 = 676 : 1681 = 1 : 2,5$	$20^2 : 30^2 = 400 : 900 = 1 : 2,3$
$21^2 : 41^2 = 441 : 1681 = 1 : 3,8$	$16^2 : 30^2 = 256 : 900 = 1 : 3,5$

u. s. w.

Die identischen Belichtungsverhältnisse dieser beiden Skalen entsprechen also einander nicht genau, sondern beim Auerlicht sind die Quotienten etwas größer.

(Dadurch will ich allerdings nicht sagen, daß diese Beziehung zwischen diesen zwei Lichtarten in derselben Art in jedem Falle besteht. Im Gegenteil, ich habe gesehen, daß sogar die veränderte Form der Flamme — Schmetterlingflamme, einfache kegelförmige leuchtende Gasflamme — den Charakter der Skala beeinflusst (wahrscheinlich wegen veränderter Verbrennungsverhältnisse — Ähnliches gilt auch für andere Lichtarten).

Ebenso zeigte die Sonnenlichtskala bedeutende Abweichung von der Kohlengaslichtskala:

Es wurden drei Kopierpapierstreifen in den Entfernungen 24, 36,4, 48,0 vom Brennpunkte der Linse in dem oben beschriebenen Apparate dem direkten Sonnenlicht exponiert.

Die Belichtungsintensitäten der einzelnen Papierstreifen waren somit nach dem mehrmals citierten Gesetze in folgenden Verhältnissen:

$$\begin{aligned} \text{Platz III : Pl. II} &= 36,4^2 : 48,0^2 = 9,1^2 : 12,0^2 = 82,8 : 144 = 1 : 1,74 \\ \text{» II : » I} &= 24^2 : 36,4^2 = 6^2 : 9,1^2 = 360 : 828 = 1 : 2,30 \\ \text{» III : » I} &= 24^2 : 48^2 = 1^2 : 2^2 = 1 : 4,00 \end{aligned}$$

In die Kohlengaslichtskala eingereiht, ergaben die Papierstreifen folgende Werte:

$$I = 20,5, \quad II = 30, \quad III = 39,5.$$

Daraus bekommen wir nachfolgende Verhältnisse:

$$\begin{aligned} \text{III : II} &= 30^2 : 39,5^2 = 90 : 156 = 1 : 1,73 \\ \text{II : I} &= 20,5^2 : 30^2 = 42 : 90 = 1 : 2,14 \\ \text{III : II} &= 20,5^2 : 39,5^2 = 42 : 156 = 1 : 3,71. \end{aligned}$$

Der Vergleich mit den oberen Verhältniszahlen zeigt, daß auch die Sonnenskalagrade in ähnlicher Weise von den Gaslichtskalagraden abwichen, wie diejenigen der Auerlichtskala: Die Quotienten sind größer.

Eine auffallend genaue Übereinstimmung zeigten die mittels des (Kohlen-)Gaslichtes und des Acetylenlichtes hergestellten Skalen

Acetylenlichtskala	Gaslichtskala
60	60
50	50
40	40
30	30
20	21.

(Hier stimmen auch die absoluten Zahlen zufällig überein — da zufällig die Töne gleich intensiv geworden sind — es ist somit nicht mehr nötig, noch die Verhältnisse besonders zu berechnen: sie sind kurz für beide identisch, bis auf die kleine Abweichung 21).

Im allgemeinen ist es also nötig, um genau arbeiten zu können, zur Arbeit mit einer bestimmten Lichtart sich die Skalen eigens mittels desselben Lichtes — und selbstverständlich auf demselben Kopierpapier, welches auch für die weiteren Versuche verwendet wird, herzustellen, oder sich eine Skala in Bezug auf die einzelnen zu untersuchenden Lichtarten — für jede Lichtart besonders zu graduieren. Denn der Farbencharakter der Skalen ist bei allen vier von mir untersuchten Lichtarten (gewöhnl. Kohlengaslicht eines Schnittbrenners, Kohlengasauerlicht, Acetylenlicht, Sonnenlicht), wenigstens in dem roten, chemisch unwirksamen Lichte, in welchem eben die Einreihung in die Skalen erfolgt, absolut identisch; es bestehen nur Unterschiede in Bezug auf die Intensität der Verdunkelung.

Aus dem bisher Angeführten folgt, daß diese Methode einen sehr einfachen und guten Behelf zur Messung der Lichtverteilung in einem Raume bieten würde, welcher überall von einem Lichte derselben Zusammensetzung und nur verschiedener Intensität beleuchtet wäre. Nun hat es sich aber gezeigt, wie schon oben erwähnt, daß die mit dem gewöhnlichen Kopierpapier erhaltenen Resultate nicht — wenigstens nicht immer — mit den Ergebnissen der Untersuchung mit dem Weberschen Milchglasphotometer stimmen.

Die Ursache kann darin liegen, daß eben an die verschiedenen Plätze Licht verschiedener Zusammensetzung auffällt, welche Verschiedenheit durch die Reflexion und Absorption verschiedener Teile des Spektrums an verschiedenfarbigen Flächen herbeigeführt werden kann.

Eine andere Möglichkeit wäre außerdem eine nicht genügende Gleichmäßigkeit (in Qualität oder Dicke) der empfindlichen Schichte des photographischen Kopierpapiers.

Durch weitere Studien will ich diese Sachen klazulegen versuchen. Nur um die Methodik etwas zu veranschaulichen, will ich hier einige mit dem gewöhnlichen, blauviolett empfindlichen Kopierpapier ausgeführte vergleichende Bestimmungen — mittels meiner Methode und mittels des Weberschen Milchglasphotometers — anführen, bei welchen die mittels beider Methoden erhaltenen Resultate stimmten:

1. Ich habe eine Feststellung der Verhältnisse der Lichtverteilung einer Acetylenlampe 1. mit dem Weberschen Photometer und 2. mittels meiner Methode vorgenommen: Die Acetylenlampe wurde in der Dunkelkammer ( $2 \times 2,5 \times 5$  m) auf einem Tisch bei der Wand aufgestellt. Auf dem Tisch wurden drei quadratische Stücke desselben weißen Papiers (1 dm, 2 dm, 3 dm von der Lampe entfernt) gelegt und in der Mitte jeden Papierstückes ein kleiner Kopierpapier-treifen placiert und mit je einer aus demselben Stücke geschnittenen Glasplatte bedeckt, um es platt zu drücken. Gleich daneben wurde das Webersche Photometer (auf seinem hellgelb gestrichenen Holzkasten montiert) mit seinen glänzenden Metallteilen und verschiedene andere Sachen (auf einer Seite eine rote Schachtel) aufgestellt, um möglichst viele Reflexionen des Lichtes zu bewirken.<sup>1)</sup> Außerdem war in unmittelbarer Nähe die gelbbraun gestrichene Fensterlade, eine weiß gestrichene Wand und übrigens alle Wände und Gegenstände waren in der Kammer wegen ihrer geringen Aus-

1) Das Webersche Photometer wurde gleich anfangs schon ganz in der zur photometrischen Messung nötigen Lage aufgestellt, um dann bei der Ausführung der photometrischen Bestimmung nicht neue, vorher nicht vorhandene Reflexionsverhältnisse einzuführen.

dehnung nicht weit vom Tische, so daß da so viele und mannigfaltige Reflexionsgelegenheiten vorhanden waren, wie sie in der Praxis nur selten in reicherm Maße vorkommen dürften.

Nachdem die Kopierpapiere genügend gebräunt waren, wurde nach meiner Methode die Bestimmung des Verhältnisses der Belichtungsintensitäten der drei Kopierpapiere ausgeführt. Es ergab sich das Verhältnis

$$\text{Kopierpapier I : Kop. II} = 2,4 : 1$$

$$\text{Kop. II : Kop. III} = 2,3 : 1$$

$$\text{Kop. I : Kop. III} = 5,3 : 1.$$

Hiernach wurde die Beleuchtungsintensität in der Mitte jener quadratischen Papierstücke, wo die Kopierpapierstreifen gelegen waren, mittels des Weberschen Photometers bestimmt. Es ergaben sich für

$$\text{Platz I } 146 \text{ Meterkerzen}$$

$$\text{> II } 65 \text{ >}$$

$$\text{> III } 28 \text{ >}$$

woraus sich folgende Verhältnisse ergeben:

$$\text{Platz I : Platz II} = 2,3 : 1$$

$$\text{Platz II : Platz III} = 2,3 : 1$$

$$\text{Platz I : Platz III} = 5,2 : 1.$$

2. Ein zweites Beispiel, mit gewöhnlicher Gaslichtbeleuchtung:

In einem kleineren Laboratorium ( $7 \times 5 \times 5$  m) wurden am 17. Dezember 1901 um  $5\frac{1}{2}$  Uhr abends nach eingetretener Finsternis fünf Gasflammen (Schnittbrenner) angezündet, die Vorhänge in den zwei Fenstern herabgelassen und an einem in der Mitte des Raumes stehenden Tische auf dieselbe Art wie bei dem vorigen Versuche vier Kopierpapierstückchen auf vier verschiedenen Plätzen (I, II, III, IV) während der ganzen Nacht exponiert. Knapp vor Anfang der Exposition wurden die Belichtungsintensitäten der vier Plätze mittels des Weberschen Milchglasphotometers festgestellt und daraus die Proportionen der Belichtungsintensitäten berechnet. Am 18. früh wurden dann nach beendigter Exposition die Belichtungsintensitätsverhältnisse nach meiner Methode an der Hand der exponierten Papierstückchen berechnet.



Die Bestimmung mittels des Weberschen Photometers ergab folgende Resultate:

Belichtungsintensitäten der einzelnen Plätze in Meterkerzen:

$$\begin{array}{l} \left\{ \begin{array}{l} \text{I} = 9,3 \\ \text{II} = 13,3 \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{III} = 13,3 \\ \text{IV} = 8,0 \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{I} = 9,0 \\ \text{IV} = 7,9 \end{array} \right. \\ \left\{ \begin{array}{l} \text{II} = 13,3 \\ \text{III} = 13,3 \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{I} = 9,3 \\ \text{III} = 12,5 \end{array} \right. \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{II} = 12,1 \\ \text{IV} = 7,7 \end{array} \right. \end{array}$$

(Es muß hier bemerkt werden, daß es zu solchen Zwecken nicht genügt, einfach die Belichtungsintensitäten der betreffenden Plätze hintereinander festzustellen und die erhaltenen Zahlen dann in Proportionen zusammenzustellen, da dabei zwischen der Bestimmung I und IV eine bedeutend längere Zeit verfließt als zwischen I und II, und infolgedessen bei den immer vorhandenen, für das Photometer ganz deutlich fühlbaren Lichtschwankungen im ersten Falle eine Möglichkeit größerer Fehler, als im zweiten Falle vorhanden ist. Um genauer vorzugehen, muß man für alle Paarcombinationen der zu vergleichenden Plätze die Bestimmungen eigens vornehmen, wie es die eben angeführte Tafel zeigt. Sie zeigt zugleich, daß diese Vorsichtsmaßregel ganz berechtigt ist: Obwohl alle diese zwölf Bestimmungen binnen etwa einer Viertelstunde ausgeführt worden sind, zeigen sich doch nicht unbedeutende Schwankungen:

I zeigt die Werte	9,3	9,3	9,0
II » » »	13,3	13,3	12,1
III » » »	13,3	13,3	12,5
IV » » »	8,0	7,9	7,7.)

Stellen wir aus diesen Zahlen jetzt die Proportionen zusammen, so erhalten wir folgende Werte:

$$\begin{array}{l} \text{I} : \text{II} = 9,3 : 13,3 = 1 : 1,43 \\ \text{II} : \text{III} = 13,3 : 13,3 = 1 : 1,00 \\ \text{III} : \text{IV} = 13,3 : 8,0 = 1 : 0,60 \\ \text{I} : \text{III} = 9,3 : 12,5 = 1 : 1,34 \\ \text{I} : \text{IV} = 9,0 : 7,9 = 1 : 0,88 \\ \text{II} : \text{IV} = 12,1 : 7,7 = 1 : 0,64 \end{array}$$

Die Bestimmung mittels meiner Methode ergab nun Folgendes:

$$\begin{aligned} I &= 37 \text{ cm (Skalagrad)} \\ II &= 31 \text{ „ „} \\ III &= 31 \text{ „ „} \\ IV &= 40 \text{ „ „} \end{aligned}$$

Daraus bekommen wir die Proportionen:

$$\begin{aligned} I : II &= 31^2 : 37^2 = 961 : 1369 = 1 : 1,43 \\ II : III &= 31^2 : 31^2 = 961 : 961 = 1 : 1,00 \\ III : IV &= 40^2 : 31^2 = 1600 : 961 = 1 : 0,60 \\ I : III &= 31^2 : 37^2 = 961 : 1369 = 1 : 1,43 \\ I : IV &= 40^2 : 37^2 = 1600 : 1369 = 1 : 0,86 \\ II : IV &= 40^2 : 31^2 = 1600 : 961 = 1 : 0,60. \end{aligned}$$

3. Ein drittes Experiment habe ich mit dem Auerlicht gemacht: In der kleinen Dunkelkammer ( $2 \times 2,5 \times 5$  m), welche von zwei Auergaslampen hell beleuchtet war, wurden an einem Tische 3 Kopierpapierstreifen auf die vorher beschriebene Art exponiert und außerdem die Belichtungsintensität der drei Expositionsplätze mittels des Weberschen Milchglasphotometers festgestellt (alles genau so ausgeführt wie bei dem vorigen Versuche mit gewöhnlicher Gasbeleuchtung).

Die Bestimmung mittels des Weberschen Photometers ergab folgende Resultate:

Belichtungsintensitäten der einzelnen Plätze in Meterkerzen

$$\left\{ \begin{array}{l} I = 74 \\ II = 43 \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} II = 43 \\ III = 23 \end{array} \right. \left\{ \begin{array}{l} I = 62 \\ III = 22. \end{array} \right.$$

Daraus resultieren folgende Verhältnisse:

$$\begin{aligned} I : II &= 74 : 43 = 1 : 0,58 \\ II : III &= 43 : 23 = 1 : 0,53 \\ I : III &= 62 : 22 = 1 : 0,35. \end{aligned}$$

Die Bestimmung mittels meiner Methode ergab nun Folgendes:

$$\begin{aligned} I : II &= 810 : 484 = 1 : 0,59 \\ II : III &= 1480 : 810 = 1 : 0,55 \\ I : III &= 1480 : 484 = 1 : 0,33. \end{aligned}$$

4. Ferner sei hier ein viertes Experiment mit dem Tageslicht angeführt.

An einem sehr stark nebligen Tage (20. Dezember 1901,  $+2^{\circ}$  C.) wurden an drei Plätzen im Laboratorium Kopierpapierstreifen wie bei den vorigen Experimenten von  $9\frac{1}{2}$  bis  $11\frac{3}{4}$  Uhr exponiert. Um 11 Uhr wurde die Belichtungsintensität der Plätze mittels des Weberschen Milchglasphotometers festgestellt.

Dann wurden die Verhältnisse der Belichtungsintensitäten einerseits nach der Weberschen, andererseits nach meiner (an der Hand der exponierten Kopierpapierstreifen) Methode berechnet:

	Webersche Methode	meine Methode
Platz III : II	1 : 1,40	1 : 1,40
» II : I	1 : 1,86	1 : 1,84
» III : I	1 : 2,59	1 : 2,58

5. An einem mittelklaren Tage (20. Januar 1902) — gegen Mittag erschien zeitweise auch direktes Sonnenlicht — wurden von 7 Uhr 45 Minuten früh an zwei Plätzen eines Laboratoriums jede halbe Stunde bis 12 Uhr 20 Minuten die Belichtungsintensitäten mittels des Weberschen Milchglasphotometers bestimmt und außerdem das rote Licht des II. Platzes ununterbrochen im Photometer beobachtet und die Schwankungen notiert. Die berechneten Werte (für die durch die halbstündigen Intervalle voneinander getrennten Momente) wurden in ein Diagramm eingetragen (Beobachtungszeit als Abscisse, Belichtungsintensität als Ordinate) und durch die Punkte Kurven<sup>1)</sup> geführt, deren Verlauf noch zwischen den einzelnen genau festgestellten Punkten nach den für das rote Licht des II. Platzes ununterbrochen abgelesenen Werten dirigiert wurde.

Hierauf wurde erstens die Fläche berechnet, welche zwischen der I. Kurve und der Abscissenlinie und zweitens die Fläche, welche zwischen der II. Kurve und der Abscissenlinie eingeschlossen war. Das Verhältnis der beiden Flächen bedeutet gleichzeitig das Verhältnis der Belichtungsintensitäten der beiden

1) Selbstverständlich zwei Kurven, die eine für den I. Platz, die andere für den II. Platz.

Plätze während der Versuchsdauer (7 Uhr 45 Minuten bis 12 Uhr 20 Minuten). Es ergab sich

$$2773 : 1425 = 1,95 : 1.$$

Gleichzeitig wurde nun das Verhältnis der Belichtungsintensitäten dieser zwei Plätze nach meiner Methode für dieselbe Zeitperiode bestimmt. Es ergab sich

Platz I	22
„ II	32,5;

also das Verhältnis der Belichtungsintensitäten:

$$\text{Platz I} : \text{Platz II} = 32,5^2 : 22^2 = 1056 : 484 = 2,18 : 1.$$

Es zeigte sich also zwischen den Resultaten meiner Methode und der Ermittlung mittels des Photometers eine Differenz, welche einige, 10—15% ausmacht.

Ein Teil dieser Differenz kommt sicher auf Rechnung der eben besprochenen Ungenauigkeiten der Messung mit dem gewöhnlichen Kopierpapier; es kann hier aber auch die ungenügend genaue Verfolgung der Lichtschwankungen mittels des Photometers Schuld tragen. Es ist — kurz gesagt — mit beiden Methoden eine Ungenauigkeit bei solchen Bestimmungen verbunden, und es ist mir nicht möglich abzuschätzen, bei welchem Verfahren sie gröfser ist. Nur der sichere Unterschied besteht da, dafs die nur einigermaßen genaue Berechnung mittels des Photometers — besonders für mehrere Plätze — physisch in der Praxis kaum ausführbar, mittels meiner Methode aber mit sehr geringer Arbeit verbunden ist.<sup>1)</sup>

Die Anwendung eines auf die leuchtenden Strahlen netzhautadäquat empfindlichen Kopierpapiers<sup>2)</sup> anstatt des gewöhnlichen wird diese Ungenauigkeit meiner Methode beseitigen.

---

1) Zur Ablesung der photometrischen Werte war bei dem eben beschriebenen Versuche der ganze Vormittag und zur Berechnung dann der ganze Nachmittag intensiver Beschäftigung nötig; die Bestimmung mittels meiner Methode — auch die Herstellung der Skala, welche den gröfseren Teil der Arbeit bildet, und für weitere Untersuchungen bleibt, eingerechnet — erheischte höchstens 2—3 Stunden Arbeit (die Bestimmung selbst aber — Exponieren der Papierstücke, Einreihen in die Skala und Berechnung — höchstens  $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$  Stunde).

2) Genaueres siehe auch noch weiter unten.

Was die Anwendung der eben beschriebenen Methode anbelangt, so würde sie bei Verwendung eines »netzhaudadäquat empfindlichen Kopierpapiers« eine ganz genaue Methode zur Bestimmung der Lichtverteilung auf einzelne Arbeitsplätze in Schulzimmern, Zeichensälen u. s. w. sein, wobei sie aufser der bedeutenden Zeit- und Arbeitersparnis noch den recht bedeutenden sachlichen Vorteil bieten würde, dafs der schädigende Einflufs der zeitlichen Intensitätsschwankungen des Lichtes ausgeschlossen wird, da die Verhältniszahlen alle für genau dieselbe Periode gewonnen werden, und dafs sie ferner unmittelbar Durchschnittswerte für beliebige Zeitperioden bieten.

Die das Taglicht betreffenden Fragen (Einflufs der Fensteranordnung u. s. w., der Strafsenbreite, Stockwerkshöhe, der Höhe gegenüberliegender Häuser, des Wandanstrichs, der Stellung der Sonne u. s. w. auf die Lichtverteilung) könnten aufserdem mittels dieser Methode auch ganz genau an Zimmer, Häusermodellen studiert werden.

Dafs mittels des genau netzhaudadäquat empfindlichen Papiers Skalen hergestellt werden können, welche absoluten Lichtintensitäten entsprechen und mit denselben absolute Lichtintensitäten gemessen werden können, ist klar. Es wären dann auf den fraglichen Plätzen Stückchen des Kopierpapiers solange zu exponieren, wie es die Skalapapiere wären.

Der Umstand, dafs die gewonnenen Verhältniszahlen immer für einen längeren Zeitintervall gelten — da das Licht in den meisten Fällen wenigstens einige Minuten einwirken mufs, um genügende Reaktion des Kopierpapiers hervorzurufen — und nicht für einen Augenblick, also immer Durchschnittswerte bedeuten, dürfte keinen Mangel dieser Methode bedingen, da solche Durchschnittswerte für Stunden, Tage für die Hygiene wichtiger sind, als momentane Werte.

Durch Anwendung besonders empfindlicher Papiere kann man übrigens die nötige Expositionszeit bedeutend abkürzen.

Photographische Platten haben sich mir zu diesem Zwecke nicht bewährt, da man kein Mittel hat, die Entwicklung der Platte so zu regulieren, dafs das Verhältnis der Töne richtig fixiert wird.

Bei Anwendung des netzhautartig empfindlichen Papiers wird die Methode auch zur Feststellung des Verhältnisses der (z. B. durchschnittlichen täglichen) Belichtungsintensitäten verschiedener Punkte der Erdoberfläche gute Dienste leisten. Zu diesem Zwecke würde es hinreichen, Stückchen desselben Kopierpapiers z. B. den ganzen Tag über auf den zu untersuchenden Punkten der Erdoberfläche zu exponieren (wobei das Licht auf eine einfache, allen Belichtungsintensitäten Rechnung tragende Art abgedämpft würde) und die denselben entsprechenden Verhältniszahlen nach einer Skala zu berechnen. Ebenso könnten natürlich mittels dieser Methode die auf einzelne aufeinander folgende Zeitperioden (z. B. Tage) am selben Punkte der Erdoberfläche entfallenden Belichtungsintensitäten verglichen werden.<sup>1)</sup>

Will man das durchschnittliche Belichtungsverhältnis zweier Plätze für eine längere Zeitperiode bestimmen, so empfiehlt es sich, die Kopierpapierstreifen durch eine einfache Vorrichtung bei stufenweise abgedämpftem Lichte zu exponieren, da bei einer gewissen Intensität des Lichtes am stärker belichteten Platze schon vor Beendigung der Exposition die maximale Bräunung eintreten könnte, so daß die Töne der beiden Papiere nicht das richtige Verhältnis angeben würden. Die Abdämpfungsvorrichtung besteht aus einem Streifen so zusammengelegten Pauspapiers, daß ein Teil eine einfache, ein zweiter eine zweifache, ein dritter z. B. eine vierfache, ein vierter eine sechsfache, ein fünfter eine zehnfache u. s. w. Schicht des Pauspapiers darstellt. Dieses auf die beschriebene Art zusammengelegte Pauspapierstück wird auf das Kopierpapierstückchen so aufgedrückt, daß an einem Ende des Kopierpapierstreifens ein Stück desselben unbedeckt bleibt, der folgende Teil ist mit einer Schicht des Pauspapiers bedeckt, der dritte mit zwei Schichten u. s. w. Auf die einzelnen Teile der Abdämpfungsvorrichtung schreibt man vorher dick die Zahl, welche die Anzahl der den betreffenden

---

1) H. v. Schrötter gibt in der Monatschrift für Gesundheitspflege, 1902, S. 94, auch Anregung zu Messungen von Lichtintensitäten zu meteorologischen Zwecken mittels empfindlichen Papiers. Mit den violett empfindlichen Papieren wird da aber nichts Genaueres zu erreichen sein.

Teil bildenden Pauspapierschichten ausdrückt, so daß das einwirkende Licht auf den betreffenden Teil des Kopierpapierstreifens die Anzahl der auf demselben befindlichen Pauspapierschichten selbst aufschreibt. Ist nun das »ungedämpfte« Kopierpapierstück gar zu stark gebräunt, so ist wenigstens einer von den abgedämpften Teilen des Kopierpapierstreifens auf beiden verglichenen Plätzen mäfsig gebräunt, und es können z. B. die mit 1 bezeichneten Teile beider Kopierpapierstücke (von den beiden Plätzen) zum Vergleich verwendet werden; wenn diese noch zu dunkel sind, so übergeht man zu 2 u. s. w. Immer müssen aber natürlich gleich abgedämpfte Stücke verglichen werden.

Daß eine gleiche Abdämpfung an beiden Plätzen an der Richtigkeit der Berechnung und ihres Resultates nicht viel ändert, ist schon zwar a priori zu erwarten. Ich habe mich aber auch davon durch Experimente mit Kohlengasflamme und Taglicht überzeugt: Nimmt man zur Berechnung des Belichtungsverhältnisses Kopierpapierteile, welche gar nicht »abgedämpft« waren, so ist das Resultat dasselbe, wie wenn man durch 1, 2, 4, 6 u. s. w. Schichten Pauspapiere »abgedämpfte« Teile dazu benutzt. Nur bei Vergleich bedeutend abweichender Lichtarten wären bedeutendere Abweichungen zu erwarten.

Betreffs der Bedeutung der oben erörterten relativ photometrischen Untersuchungen, ihrer Vorteile und Nachteile, will ich Folgendes hervorheben.

Ich wurde bei der Ausarbeitung meiner relativ photometrischen Methode von der Idee geleitet, die Verschiedenartigkeit der Vergleichseinheit und des zu messenden Lichtes in Bezug auf die Zusammensetzung aus verschiedenen Arten von Lichtstrahlen auszuschalten.

Ich stellte mir vor, daß in einem Raume, welcher von derselben Lichtquelle oder von mehreren Lichtquellen derselben Art beleuchtet wird, überall die gleiche Qualität des Lichtes im oben erwähnten Sinne herrscht, und daß somit auch dem ganz unadäquaten, violett empfindlichen, gewöhnlichen Kopierpapier ein Intensitätsverhältnis zweier Plätze genau gleich wie der Netzhaut »erscheinen« wird.

Es scheint nun, wie schon oben erwähnt wurde, dafs die obige Vorstellung nicht dem wahren Sachverhalt entspricht, wobei dann ein Lichtreagens je weniger adäquat desto grössere Abweichungen bedingen mufs.

Immerhin wird aber der Vergleich mit einem von derselben Lichtquelle sein Licht beziehenden Platze — relative Photometrie — im Allgemeinen wohl kleinere Fehler bedingen als ein Vergleich mit einer im Allgemeinen differenten Lichtart, wie er bei der absoluten Photometrie mittels empfindlicher Papiere in der Praxis kaum zu umgehen ist.

Je näher natürlich das verwendete Papier der genau netzhautadäquaten Empfindlichkeit ist, desto vollkommener wird die bei der relativen Photometrie zustande kommende teilweise Ausschaltung des durch die verschiedenartige Zusammensetzung der beiden verglichenen Lichtintensitäten bedingten Fehlers.

Eine zweite Idee, welche mich zur relativen Photometrie geführt hat, war die, dafs die hygienische Beurteilung der Taglichtbeleuchtung von Wohn-, Schul-, Arbeitsräumen in der Praxis wegen der sehr grossen Schwankungen der Intensität des Taglichtes überaus grosse Schwierigkeiten macht, und, selbst bei Vorhandensein einer praktisch brauchbaren Methode, zur Bestimmung der absoluten Lichtverteilung machen würde.

Wenn man die Bestimmung heute vornimmt, so bekommt man ganz andere Werte als morgen u. s. w. Auch der Rat, sich an düstere Tage zu halten, ist sehr wenig fruchtbringend, da können noch sehr grosse Unterschiede vorkommen, denn ein Tag kann sehr düster, der andere weniger düster sein. Ausserdem ist es nicht immer sehr leicht möglich, vielleicht mehrere Wochen oder sogar Monate, einen passenden Tag abzuwarten.

Es wäre unbedingt erwünscht, hier einen festeren Mafsstab zu bekommen.

Ich baue nun auf folgenden Gedankengang:

Die Belichtungsintensität jedes Platzes wird durch zwei Faktoren bedingt: 1. Durch die Intensität der Lichtquelle und 2. durch die räumlichen Verhältnisse des Platzes selbst, welche in Bezug auf das Licht die verschiedenen Lichtabblendungs- und



Reflexionsgegenstände (Mauern, Fensterrahmen, Möbel u. s. w.) darstellen.

Es ist nicht undenkbar, — mir erscheint es sogar wahrscheinlich —, dafs bei diffusem Licht im Freien (bei gleichmäfsig bedecktem Himmel) die ein für allemal gegebenen Abblendungs- und Reflexionsverhältnisse es bedingen, dafs von der Intensität des Lichtes im Freien immer derselbe bestimmte Teil auf den betreffenden Platz auffällt, so dafs möglicherweise bei diffusem Licht im Freien<sup>1)</sup> die Belichtung eines jeden Platzes durch einen Bruch charakterisiert werden kann, welcher anzeigt, der wievielte Teil der im Freien herrschenden Lichtintensität auf den betreffenden Platz auffällt. Bei dieser Methode würde man, wie ich glaube, — Experimente müssen dies natürlich entscheiden — von dem Grade der Düsterheit des Tages unabhängig werden.

Eine weitere Frage ist aber: Was haben wir für die hygienische Beurteilung gewonnen, wenn wir z. B. wissen, dafs auf diesen Platz unter oben beschriebenen Bedingungen  $\frac{1}{10}$  von der Lichtintensität im Freien auffällt. Wir müssen ja danach streben, zu erfahren wieviel Meterkerzen absoluter Lichtintensität der Platz unter den ungünstigsten in Betracht kommenden Verhältnissen erhält.

Die relative Angabe soll nun eben das Mittel dazu sein.

Es ist nämlich leicht, ein für allemal zu ermitteln, wieviel Meterkerzen etwa unter den ungünstigsten in Betracht kommenden Verhältnissen in dem betreffenden Lande u. s. w. das Taglicht im Freien hat, und auf diese Zahl müssen dann die oben besprochenen relativen Angaben bezogen werden, um die maafsgebende absolute Zahl heraus zu bekommen.

Oder wir können die Sache auch ein wenig verkehren, was an einem bestimmten Beispiel am besten gezeigt werden kann:

Nehmen wir die absolute Mindestforderung für einen Arbeitsplatz (Schreiben, Lesen) 20 Meterkerzen Gesamtintensität an und

1) Um die Fälle, wo direktes Sonnenlicht herrscht, brauchen wir uns bei der hygienischen Beurteilung nicht so viel zu kümmern, die sind die günstigsten.

fernerhin die ermittelte geringste noch in Betracht kommende<sup>1)</sup> Intensität des Lichtes im Freien als 300 Meterkerzen, so ergibt sich die Formel: ein Platz muß bei diffusem Licht im Freien wenigstens  $\frac{1}{15}$  der Intensität des Lichtes im Freien besitzen.

Aber wenn sich auch meine relative Lichtmessung an sich selbst als für die Praxis unbrauchbar oder unnötig erweisen sollte, so dürfte sie doch als Mittel zur Ermittlung der absoluten Werte sehr gute Dienste leisten.

Denn — wie schon erwähnt wurde — haben wir bisher eigentlich gar kein für die Praxis genügend geeignetes Mittel, um an vielen Plätzen gleichzeitig Lichtbestimmungen vorzunehmen.

Auch das Andresensche Papier dürfte dazu mit vollständiger Genauigkeit nicht sicher geeignet sein, da man z. B. bei Untersuchung von 50 Plätzen auch 50 genau gleich gearbeitete blauviolett ultraviolette Licht absorbierende Filter haben müßte, und außerdem ist das Papier auch bei Vorschaltung des Filters nicht genau netzhautadäquat empfindlich, da es das blauviolette Ende des Spektrums nicht »sieht«, welches für die Netzhaut sichtbar ist. Dieser letzte Grund gilt ebenso natürlich auch für mein Papier.

Durch Kombination aber einer Bestimmung der relativen Lichtverteilung in einem Raume mittels meines Papiers, mit einer Bestimmung des absoluten Wertes mittels eines Photometers an einem Platze (natürlich als Mittel aus mehreren Ablesungen während der ganzen Expositionszeit) kann man dann die absoluten, der ganzen Expositionszeit entsprechenden Durchschnittswerte für alle Plätze durch einfache Berechnung herausbekommen.

Aber selbst dann, wenn sich die relative Lichtbestimmung aus dem Grunde theoretisch als unnötig erweisen sollte, daß mein Papier als praktisch genügend netzhautadäquat empfindlich

---

1) Nämlich in der Arbeitszeit (in welcher bei Taglicht gearbeitet wird) vorkommende geringste Intensität; seltene Ausnahmen besonders großer Dunkelheit, wie bei Gewittern u. s. w., können da natürlich nicht in Betracht kommen.

sich bewähren würde oder in diesem Sinne noch verbessert werden würde<sup>1)</sup>, so glaube ich, daß bei genaueren Messungen in der Praxis doch immer der oben erwähnten Kombination der relativen Lichtbestimmung mit einer absoluten an einem Platze der Vorzug gegeben werden dürfte.

Denn bei der absoluten Lichtmessung mittels empfindlicher Papiere wird es wohl sehr viel auf die sehr feine und genaue Arbeit bei der Herstellung des Papiers ankommen; eine geringe Abweichung kann schon in Bezug auf Lichtempfindlichkeit, also in Bezug auf die photometrische Wertigkeit der Verdunkelung des Papiers nicht unbedeutende Unterschiede und folglich Fehler bedingen. Man müßte eigentlich bei jeder genaueren Messung jeden Bogen des Papiers erst aichen, respektive sich von der Genauigkeit der Fabriksaichung überzeugen.<sup>2)</sup>

Dieser Umstand wird wieder bei der relativen Photometrie in sehr bedeutendem Maße unschädlich gemacht, da man auf alle verglichenen Plätze Stückchen desselben Bogens Papier legt, und wenn da eine Abweichung im oben erwähnten Sinne vorhanden ist, so kommt sie an allen verglichenen Plätzen in demselben Maße in Betracht. Und die Skala ist wieder auch mittels Stückchen eines Bogens gleichartigen Papiers hergestellt. Die relativen Werte dürften also auch bei solchen Abweichungen dem Richtigen im allgemeinen immer näher als die absoluten sein.

1) Der Weg dazu ist theoretisch ganz klar und sicher gegeben: das Filter so herzustellen, daß es noch das blauviolette Ende — welches allerdings aber nur einen ganz geringen Anteil an der Leuchtkraft der üblichen Lichtarten hat — »sehe«. Eventuell auch noch durch andere Sensibilisation die Form der Empfindlichkeitskurve des Papiers für verschiedene Lichtstrahlarten derjenigen der Netzhaut näher zu bringen. Es ist allerdings aber nicht unmöglich, daß sich diese minutiös feinen Korrekturen praktisch als unnötig erweisen könnten.

2) Außerdem kann sich die Lichtempfindlichkeit des Papiers im Verlaufe der Zeit nach seiner Herstellung ändern. Betreffs meines Papiers, welches erst Ende Mai 1902 hergestellt worden ist, verfüge ich über keine genügende Erfahrung. Das Papier von Andersen aber, welches dem meinigen zu grunde liegt, ist Jahre lang unverändert haltbar.

# Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen, nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben.

Von

Dr. med. et phil. **Teïsi Matzuschita**  
aus Nippon.

(Aus dem botanischen Institut der Universität Halle a/S.)

(Mit Tafel I und II.)

## Einleitung.

Die gewöhnliche Vermehrung der Bakterien besteht in der Zweiteilung der Zellen und der darauf folgenden Spaltung. Außerdem ist vielen Spaltpilzen, vornehmlich den Stäbchenbakterien, auch eine Fortpflanzung durch Sporenbildung eigen.

Die Sporen sind morphologisch bestimmte charakterisierte Dauerzustände, die von Perty<sup>1)</sup> zuerst gesehen, von Pasteur<sup>2)</sup> und Billroth<sup>3)</sup> in ihrer Bedeutung gewürdigt und von F. Cohn<sup>4)</sup> in ihren Haupteigenschaften beschrieben worden sind. Cohn schreibt über die Sporenbildung beim *Bacillus subtilis*: »In ihrem homogenen Inhalt treten stark lichtbrechende Körperchen auf; aus jedem dieser Körperchen entsteht eine oblonge oder kurz cylindrische, starke, lichtbrechende, dunkel kontourierte Spore; in den Fäden findet man daher die Sporen in einfachen Reihen geordnet. Die Sporen sind jedoch fähig, in frischen Nährlösungen zur vegetativen Wuchsform wieder auszukümen.«

1) Perty, Zur Kenntnis kleinster Lebensformen, 1852, S. 181.

2) Pasteur, S. Huetppe, Formen der Bakterien, 1886, S. 113.

3) Billroth, Vegetationsformen von *Kokkobacteria Septica*, Berlin 1874.

4) Cohn, Beitrag zur Biologie der Pflanzen, Bd. II, S. 263. 1876

Die Bildung der Sporen erfolgt immer endogen, d. h. im Leibe der Bakterienzelle, aber in verschiedener Weise: der gewöhnliche Modus ist der, daß an einem Punkte des Stäbchens ein glänzendes Körnchen auftritt, das sich allmählich vergrößert und schliesslich zur Größe der Spore heranwächst. Oder es treten mehrere Körnchen auf, die zuletzt zu der Sporenanlage verschmelzen oder endlich bildet sich in der Zelle ein Körper, der die Größe der künftigen Spore hat, aber zuerst blaß ist und erst allmählich den Glanz derselben erreicht.

Nach der Ausbildung der Spore hört gewöhnlich die Mutterzelle zu leben auf; sie ist nur noch ein leerer Schlauch, der zerfällt und die Spore frei läßt. Kam die Sporenbildung an der Oberfläche von Flüssigkeiten in einer Haut zu stande, so sinken die Sporen als weißes Pulver zu Boden (Brefeld<sup>1</sup>). Klein<sup>2</sup>) hat dagegen beobachtet, daß die Mutterzelle nach Bildung der fertigen Spore noch eine Zeitlang ihre Lebenskraft behält.

Durch sehr beträchtliche Widerstandsfähigkeit gegen Schädlichkeiten (Hitze, Trockenheit, Chemikalien) ausgezeichnet, stellen die Sporen so eine Dauerform dar, welche der Erhaltung der Art dient.

Die Bedingungen, unter denen die Sporen entstehen, sind bisher nur bei einigen aëroben Bakterien von verschiedenen Forschern untersucht worden.

In der folgenden Arbeit handelt es sich um die endogene Sporenbildung der Bakterien, besonders der Anaëroben.

Mein eigentliches Thema wird in folgenden Abschnitten behandelt:

- I. Die Methode der Untersuchung.
- II. Das Wachstum einiger Anaëroben auf Schrägagar und Plattenkultur.
- III. Die entscheidende Veranlassung der Sporenbildung.
- IV. Die allgemeinen Bedingungen der Sporenbildung.
- V. Zusammenfassung.

---

1) Brefeld, *Bacillus subtilis*, Untersuchungen über Schimmelpilze, IV, 1881.

2) Klein, *Centralblatt f. Bakteriologie etc.*, Bd. VII, S. 440.

## I. Die Methode der Untersuchung.

Ich gliedere den Inhalt des Abschnittes in folgende Kapitel:

- A. Die Züchtung der Anaëroben.
- B. Die Bestimmung der Sauerstoffmenge.
- C. Der Nachweis der Sporen.
- D. Die Zubereitung der Nährböden.

### A. Die Züchtung der Anaëroben.

Pasteur gebührt das Verdienst, die anaëroben Mikroorganismen entdeckt zu haben. Im Jahre 1861 machte er bekannt, daß bei der Milchfermentation die Buttersäure durch Einwirkung des Butterferments entstehe, eines lebenden Wesens, das sich bewege und sich auf die gleiche Weise wie die Vibrionen fortpflanze. Die Eigenschaften, ohne freien Sauerstoff leben zu können und als Ferment zu wirken, zeichnen nach Pasteur den *Vibrio* der Buttersäuregärung vor allen anderen niederen Wesen des Pflanzen- und Tierreiches aus. Die anaëroben Mikroorganismen sind darin den aëroben ganz ähnlich, daß sie der gleichen Elemente für den Aufbau ihrer Zellen bedürfen; aber sie unterscheiden sich von ihnen dadurch, daß sie im allgemeinen nicht des freien Sauerstoffes für ihr Leben bedürfen; soweit er für die Ernährung notwendig ist, beziehen sie ihn aus sauerstoffhaltigen Verbindungen.

Bei seinen Kulturen anaërober Mikroorganismen in flüssigen Nährböden, aus denen er mit Hilfe einer Quecksilberpumpe die Luft entfernte, konnte er die verschiedenen Species weder isolieren, noch ihren Charakter studieren.

Reine Kulturen von Anaëroben konnte man erst erzielen, nachdem Koch in die bakteriologische Technik Kulturmethoden mit Hilfe solider und durchsichtiger Nährböden eingeführt hatte. Liborius<sup>1)</sup> war der Erste, welcher beim Studium der Anaëroben die von Koch eingeführten Kulturmethoden angewendet hat. Er schreibt: »Die Isolierung erfolgte durch Züchtung in festen

1) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. Zeitschrift für Hygiene, Bd. I, S. 115.

Nährsubstraten, die in hohe und breite Schälchen eingegossen waren, und durch nachfolgende Zerlegung der massiven Klötze von Nährgelatine oder Nähragar, oder durch Kultivierung in niedrigen, aber in mit Wasserstoff erfüllten Apparaten aufbewahrten Schälchen.

Obgleich später Gruber<sup>1)</sup>, Fraenkel<sup>2)</sup>, Lüderitz<sup>3)</sup> etc. über die anaeroben Mikroorganismen Arbeiten veröffentlicht haben, ist ein weiterer Fortschritt erst durch die Arbeiten Kitasatos<sup>4)</sup>, welcher den Tetanusbacillus und Rauschbrandbacillus rein kultiviert hat, zu verzeichnen.

Viele Methoden sind für die Untersuchung der Anaeroben erdacht worden, aber die bisher angestellten Kulturversuche erstreckten sich meist auf die Herstellung von Gelatine-, Agar-, Bouillonhöhenschicht- und Plattenkulturen, und so konnten lange Zeit auf Kartoffeln oder schrägem Agar Kulturversuche nicht gemacht werden.

Nachdem Penzo<sup>5)</sup> zuerst den Bacillus des malignen Ödems auf schräg erstarrtem Agar in Wasserstoffatmosphäre gezüchtet hatte, beobachtete W. Voteller<sup>6)</sup> das Wachstum des Bacillus des malignen Ödems, des Rauschbrandbacillus, des Bacillus Tetanus und Bacillus pseudotetanus Tavel auf schräg erstarrtem Agar und schloß daraus, daß die Kultur der pathogenen obligaten Anaeroben auf Schrägagar absolut sicher nur in vollständig sauerstofffreiem Medium gelingt.

1) Gruber, Eine Methode der Kultur anaerobischer Bakterien, nebst Bemerkungen zur Morphologie der Buttersäuregärung. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. I, S. 367.

2) Fraenkel, Über die Kultur anaerober Mikroorganismen. Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. III, S. 735—763.

3) Lüderitz, Zur Kenntnis der anaeroben Bakterien. Zeitschrift für Hygiene, Bd. V, S. 141.

4) Kitasato, Über den Tetanusbacillus. Zeitschrift für Hygiene, Bd. VII, S. 223.

5) Penzo, Beitrag zum Studium der biologischen Verhältnisse der Bacillen des malignen Ödems. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. X, S. 822.

6) Voteller, Über die Differentialdiagnose der pathogenen Anaeroben durch die Kultur auf Schrägagar und durch ihre Geißeln. Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXVII, S. 480.

Für die Anaërobenkultur wurden im Laufe der Zeit zahlreiche, mehr oder weniger komplizierte Verfahren bekannt gegeben, die mit geringen Ausnahmen alle auf der Herstellung eines sauerstofffreien Mediums beruhen, was man durch die verschiedenartigsten Manipulationen zu erreichen gesucht hat und zwar:

1. Durch Hemmung des Luftzutrittes.
2. Durch Zusatz von reduzierenden Substanzen zu den Nährböden.
3. Durch Absorption des Sauerstoffes durch alkalische Pyrogallolösung.
4. Durch Auspumpen der Luft.
5. Durch Verdrängen der Luft durch Gase.
6. Durch Mischkultur mit Aëroben (Anwesenheit von Luft).

#### 1. Hemmung des Luftzutrittes.

Diese Methode beruht darauf, den Zutritt des Luftsauerstoffes zum Nährboden auszuschließen oder wenigstens in hohem Grade zu erschweren. Dieser Zweck läßt sich auf die folgenden Weisen erreichen:

##### a) Durch die sog. Höhenschichtung.

Die Höhenschichtkultur des Agars wurde von Hesse<sup>1)</sup> eingeführt und von Liborius<sup>2)</sup> später noch vervollkommenet. Diese Kulturmethode ist wohl die heutzutage am meisten gebräuchliche und einfachste und wird mit gutem Erfolg angewandt.

Außerdem wandte man Bouillonhöhenschichtkultur (von Kitt<sup>3)</sup>), Kartoffelstichkultur (von Gaffky<sup>4)</sup>) und Eierkultur (von Hueppe) an, um Anaëroben zu züchten.

1) Hesse, Über Züchtung der Bacillen des malignen Ödems. Deutsche Med. Wochenschrift, Bd. XI, Nr. 14, S. 214, 1885.

2) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. I, S. 115.

3) Kitt, Die Züchtung des Rauschbrandbacillus bei Luftzutritt. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XVII, S. 168.

4) Gaffky, Mitteilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamt, Bd. I.



b) Durch Aufsichtung von Substanzen, die Sauerstoff schwer durchlassen.

Schon 1861 verfiel Pasteur darauf, den Kulturboden mit einer Ölschicht zu bedecken, und diese Methode wurde später von Liborius u. a. angewandt. Später benutzten verschiedene Forscher zum Bedecken der Agarhöhenschichtkultur statt der Ölschicht noch eine weitere Schicht von Gelatine oder Agar (Jensen und Sand<sup>1)</sup> oder Paraffin (Babes und Puscarin<sup>2)</sup>, Kasparecke<sup>3)</sup> u. a.)

Die Anwendung von Glimmerplättchen für Gelatineplatten wurde von Koch 1884 vorgeschlagen, allein Liborius wies nach, dafs dies bei obligaten anaëroben Bakterien wenig oder gar nicht vorteilhaft sei. Statt der Glimmerplättchen verwandte später Sanfelice<sup>4)</sup> sterilisierte Glasplatten, Liborius<sup>5)</sup> eine 1,5 cm tiefe Extraschicht von Agar. Letzterer erreichte auf diese Weise die Züchtung von Bacillen des malignen Ödems, was ihm vorher bei Benutzung von Wasserstoff nicht gelungen war.

Die Rollkulturmethode wurde zur Erlangung von Kolonien anaërober Bakterien von Esmarch empfohlen. Zu diesem Zwecke werden Gelatine oder Agar eingimpft und die Verdünnung wie gewöhnlich bewerkstelligt. Der Nährboden wird dann auf der Innenseite der Röhre in einer dünnen Schicht zum Erstarren gebracht, und nach Erkaltung wird die Röhre mit flüssiger Gelatine oder Agar gefüllt.

Roux<sup>6)</sup> verwandte ausgezogene Glasröhren, welche mit Gelatine gefüllt wurden. Nach der Impfung werden sie an den Enden zugeschmolzen.

1) Jensen und Sand, Über malignes Ödem beim Pferde. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. I, S. 265.

2) Babes und Puscarin, Versuche über Tetanus. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. VIII, S. 74.

3) Kasparecke, Ein einfacher Luftabschluss flüssiger Nährböden beim Kultivieren anaërober Bakterien. Centralbl. f. Bakteriologie, Bd. XX, S. 536.

4) Sanfelice, Untersuchungen über anaërobe Mikroorganismen. Zeitschrift für Hygiene, Bd. XIV, S. 339.

5) Liborius, Beiträge zur Frage von dem Wachstum der anaëroben Bakterien in festen Substraten. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. V S. 713.

6) Roux, Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. II, S. 327.

## 2. Zusatz von reduzierenden Substanzen zum Nährboden.

Liborius <sup>1)</sup> entdeckte den fördernden Einfluss des Zuckers auf das Wachstum der Anaëroben. Auch Smith <sup>2)</sup> und Babes und Puscarin <sup>3)</sup> wiesen nach, daß ein Zuckerzusatz zum Nährboden von Vorteil, in manchen Fällen sogar unbedingt notwendig ist. Novy <sup>4)</sup> und Braatz <sup>5)</sup> sahen im Thermostaten in flüssiger 10proz. Gelatine und 2proz. Traubenzucker die Anaëroben in tiefer und mittlerer Schicht stets und in 2proz. Gelatinebouillon mit gleichem Traubenzuckerzusatz wenigstens den Bacillus des malignen Ödems und den Rauschbrandbacillus meist wachsen.

Nach Kitasato und Weyl <sup>6)</sup> ist es die reduzierende Wirkung des Zuckers, welche die Anaëroben befähigt, sich zu vermehren, obwohl beide Autoren in einer Anmerkung zugeben, daß der Zucker vielleicht auch als Nährsubstanz dienen kann. Von ersterem Gesichtspunkte ausgehend, prüften sie das Wachstum der Anaëroben bei Zusatz von reduzierenden Substanzen zum Nährboden und fanden, daß gewisse Substanzen, wie salzsaures Hydroxylamin, salzsaures Phenylhydrazin u. s. w. entwicklungshemmend einwirken, andere dagegen, wie Resorcin, Hydrochinon, Pyrogallol, aneisensaures Natron, indigo-schwefelsaures Natron u. s. w. wachstumsfördernd.

Nakagawa schreibt in seinen »Vorlesungen über das Studium der Infektionskrankheiten« (Japanisch: Densenbyo kenkyu kōgi) Bd. I, daß bei gewöhnlichen Nährböden die Zugabe von 1—2% Traubenzucker, 4—5% Glycerin, 0,1% Pyrogallussäure, 0,1% Hydrochinon und 0,1% Eikonogen sehr begün-

1) Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. Zeitschrift für Hygiene etc., Bd. I, S. 115.

2) Smith, Über die Bedeutung des Zuckers in Kulturmedien bei Bakterien. Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. 18, S. 1.

3) Babes und Puscarin, s. o.

4) Novy, Die Kultur anaërober Bakterien. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. 14, S. 597.

5) Braatz, Einiges über die Anaërobiöse. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. XVII, S. 737.

6) Kitasato und Weyl, Zur Kenntnis der Anaëroben. Zeitschrift für Hygiene, Bd. VIII, S. 41.

stigend auf das Wachstum der Anaëroben, besonders des *Tetanus-bacillus* gewirkt haben soll.

Ferner fand Novy<sup>1)</sup> einen Zusatz von Lackmus, wie er zuerst von Buchner<sup>2)</sup> empfohlen wurde, zum Nährboden für Anaëroben als geeignet.

### 3. Absorption des Sauerstoffes durch alkalisches Pyrogallol.

Alle auf diesem Prinzip basierten Verfahren gehen von der Thatsache aus, daß eine alkalische Pyrogallollösung begierig Sauerstoff aus der Luft aufnimmt. Diese Methode wurde zum ersten Male von Nencki<sup>3)</sup> zum Beweise der Existenz anaërober Organismen verwendet. Eine praktische Anwendung wurde jedoch erst von Buchner gemacht. Er brachte die Kulturröhre in eine gröfsere, oben mit einem Kautschukpfropfen verschlossene Glasröhre, auf deren Boden sich eine gröfsere Menge alkalischer Pyrogallollösung befand zur Absorption des vorhandenen Sauerstoffes. Auf ähnliche Weise wenden Liborius<sup>4)</sup>, Babes und Puscariu, Novy<sup>5)</sup>, Zettnow<sup>6)</sup>, Lubinski<sup>7)</sup> u. a. ebenfalls die Buchnersche Methode an.

Niciforoff<sup>8)</sup> und Braatz<sup>9)</sup> nutzten diese Eigenschaft des Pyrogallols für die Kultur der Anaëroben im hängenden Tropfen aus.

1) Novy, Die Kultur anaërober Bakterien. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. XIV, S. 581.

2) Buchner, Eine neue Methode zur Kultur anaërober Bakterien. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. IV, S. 149.

3) Nencki, Die Anaërobiosefrage. Archiv für gesamte Physiologie, Bd. XXXIII, S. 1.

4) Liborius, Centralblatt f. Bakteriologie etc., Bd. V, S. 713.

5) Novy, Die Plattenkultur anaërober Bakterien. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XVI, S. 566.

6) Zettnow, Ein Apparat zur Kultur anaërober Bacillen. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XV, S. 538.

7) Lubinski, Zur Methodik der Kultur anaërober Bakterien. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XVI, S. 20.

8) Niciforoff, Ein Beitrag zu den Kulturmethoden der Anaëroben. Zeitschrift f. Hygiene, Bd. VIII, S. 489.

9) Braatz, Eine neue Vorrichtung zur Kultur von Anaëroben in hängenden Tropfen. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. VIII, S. 520.

Zur Gewinnung von Plattenkulturen konstruierten Trambusti<sup>1)</sup> und Arens<sup>2)</sup> einen besonderen Apparat, indem sie den Boden eines Exsiccators mit Quarzsand und Pyrogallussäure bestreuten und sodann 10 proz. Kalilauge daraufgossen.

#### 4. Auspumpen der Luft.

Seit Pasteur, Joubert und Chamberland das Prinzip der Vacuumkultur angewandt hatten, empfahl Gruber<sup>3)</sup> folgendes Verfahren. Man verwendet große Reagenzgläser mit verengten Hälsen. Nach der Impfung wird die Röhre mit einer Luftpumpe oder einem Aspirator verbunden und schliesslich in der Flamme eines Bunsenbrenners oder einer Gebläslampe zugeschmolzen. Sodann breitet man die Gelatine nach Esmarch aus.

Tizzoni, Cattani und Baquis<sup>4)</sup> nehmen die Züchtung von Tetanusbacillus auf Gelatine-, Agar- und Blutserumplattenkulturen unter einer Glocke im Vacuum vor.

Penzo<sup>5)</sup> benutzt bei der Kultur des Bacillus oedematis maligni ausser dem Vacuum noch Wasserstoff. Das Vacuum wird überhaupt häufig neben Wasserstoff und auch neben Pyrogallol angewendet.

#### 5. Verdrängen der Luft durch Gase.

Trotzdem einige Forscher zur Verdrängung der Luft aus dem Kulturgefäß Kohlensäure, Leuchtgas (von Würtz und Foureur) u. a. empfohlen haben, wird bei sämtlichen heute gebräuchlichen Methoden als Verdrängungsmittel Wasserstoff angewendet. Den ersten Versuch, sich der gewöhnlichen Röhrenkultur zu nähern,

1) Trambusti, Über einen Apparat zur Kultur der anaëroben Mikroorganismen auf festem durchsichtigen Nährmittel. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XI, S. 623.

2) Arens, Eine Methode zur Plattenkultur von Anaëroben. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XV., S. 15.

3) Gruber, Eine Methode zur Kultur anaërober Bakterien, nebst Bemerkungen zur Morphologie der Buttersäuregärung. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. I, S. 367.

4) Tizzoni, Cattani und Baquis, Bakteriologische Untersuchungen über den Tetanus. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. VIII, S. 49.

5) Penzo, Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. X, S. 822.

machte Hauser <sup>1)</sup>, indem er Reagenzgläser mit zwei seitlichen Ansatzröhren benutzte, durch welche er das Gas dem flüssigen Nährboden zuleitete, und dann die Röhren abschmolz. Diese Röhren wurden von Liborius <sup>2)</sup> verbessert.

Fraenkel <sup>3)</sup> verwendete gewöhnliche, ziemlich weite Reagenzgläser und verschloß sie mit einem doppelt perforierten Kautschukpfropfen, durch welche zwei rechtwinklig gebogene Glasröhren führen. Eine dieser Röhren geht bis auf den Boden des Tubus, die andere nur bis unter den Pfropfen. Nachdem durch den noch flüssigen Nährboden Wasserstoff durchgeleitet ist, schmilzt man die Zuleitungsröhren ab und paraffiniert den Kautschukpfropfen.

Ogata <sup>4)</sup> verwendete ein mit Nährgelatine oder Nähragar gefülltes, mit einem Wattepfropf verschlossenes sterilisiertes Reagenzrohr, das am Halse dicht unter dem Wattepfropf durch eine Gebläslampenflamme enger und länger ausgezogen ist als das Rohr von Liborius. Durch den Baumwollpfropf wird eine sterile Kapillarröhre bis zum Boden des Reagenzröhrchens eingefügt und durch diese dann das Gas durch den flüssigen Nährboden geleitet, hierauf wird das Reagenzrohr zugeschmolzen.

Kitasato verwandte bei seinem Studium des Tetanusbacillus für Plattenzwecke einen Apparat, welcher flaschenförmig und mit dem ziemlich weiten Halse nach oben gekehrt ist. Auf der oberen Fläche, nahe dem weiteren Ende, befindet sich eine enge Glasröhre, welche zur Verbindung mit der nächsten Schale dient. Diese Schalen werden sterilisiert, dann gießt man die zuvor eingepfimte Gelatine bzw. Agar ein und läßt dieselben am Boden in der gleichen Weise wie in einem Petrischälchen fest werden. Sodann werden sie verbunden und es wird Wasserstoff hindurchgeleitet. Nach Verdrängung der gesamten Luft werden die Enden

1) Hauser, Über Fäulnisbakterien. Leipzig 1885.

2) Liborius, Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. V, S. 713.

3) Fraenkel, Über die Kultur anaërober Mikroorganismen. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. III, S. 763.

4) Ogata, Einfache Bakterienkultur mit verschiedenen Gasen. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XI, S. 621.

jeder Flasche sicher verklammert, mit Paraffin versiegelt und die Flaschen zur Entwicklung weggesezt.

Außerdem verwendete Sternberg, Roux, Brieger, Fuchs<sup>1)</sup>, Roth<sup>2)</sup>, Blücher<sup>3)</sup>, Hesse<sup>4)</sup>, Botkin<sup>5)</sup>, van Senus<sup>6)</sup>, Kamen<sup>7)</sup>, Novy<sup>8)</sup>, Votteler<sup>9)</sup>, Migula<sup>10)</sup> u. a. verschiedene Apparate für Plattenkultur und Röhrenkultur. Der von Botkin empfohlene Apparat, welcher heutzutage am meisten gebräuchlich ist, besteht aus einer Glasglocke und einer Glasschale, welche mit flüssigem Paraffinöl aus gefüllt wird, durch das die beim Einleiten von Wasserstoff verdrängte Luft entweicht.

Der wegen der Unhandlichkeit des Botkinschen Apparates von mir<sup>11)</sup> empfohlene Apparat besteht aus einer auf einer Glasplatte stehenden Glasglocke, auf der sich oben ein Ansatzrohr mit Hahn befindet. Die Glasplatte ruht auf einem Dreifuß und hat in ihrer Mitte die Abströmungsöffnung, an welche ein durch einen Hahn verschließbares Glasrohr angesetzt ist. Um die Entweichung des aufgenommenen Wasserstoffes zu verhindern, werden

1) Fuchs, Ein anaërober Eiterungserreger. Centralblatt f. Bakteriologie, Bd. VIII, S. 11.

2) Roth, Über ein einfaches Verfahren der Anaërobenzüchtung. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. VIII, S. 223.

3) Blücher, Eine Methode zur Plattenkultur anaërober Bakterien, Centralblatt für Bakteriologie, etc., Bd. IX, S. 292.

4) Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung anaërober Bakterien. Zeitschrift für Hygiene, Bd. XI, S. 237; Züchtung der Anaëroben bei Luftabschlufs. Baumgartens Jahresberichte, Bd. VII, S. 594.

5) Botkin, Über neuen Bacillus butyricus. Zeitschrift für Hygiene, Bd. 11, S. 421.

6) van Senus, Zur Kenntnis der Kultur anaërober Bakterien. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XII, S. 144.

7) Kamen, Eine einfache Kulturschale für Anaëroben. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. 12, S. 296.

8) Novy, Die Kultur anaërober Bakterien. Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. XIV, S. 591.

9) Votteler, Über die Differentialdiagnose der pathogenen Anaëroben etc., Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXVII, S. 490.

10) Migula, Über einen neuen Apparat zur Plattenkultur von Anaëroben. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XIX, S. 894.

11) Matzuschita, Untersuchungen über die Mikroorganismen des menschlichen Kotes. Archiv für Hygiene, Bd. 41, Heft 3.

Glockenrand und beide Hähne vor dem Gebrauche mit Mischwachs beschmiert und Glocke und Glasplatte in möglichst enge Berührung gebracht.

Nikiforoff<sup>1)</sup> bediente sich des Dampfes von destilliertem Wasser, um die Luft aus den Röhren, welche an einer Seite geschlossen, an der anderen offen waren, zu vertreiben. Nachdem dies geschehen, füllte er sie mit Gelatine und schloß sie über der Flamme. Um die Impfung mit den Anaëroben vorzunehmen, bricht er ein Ende der Röhre ab und schließt sie nach der Impfung wieder.

#### 6. Mischkultur mit Aëroben (Anwesenheit von Luft).

Als notwendige Lebensbedingung für streng anaërobe Bakterien galt bis in die letzte Zeit allgemein die völlige Abwesenheit von Sauerstoff, und das Wachstum von Anaëroben in Gemeinschaft mit Aëroben wurde auch bei ungehindertem Zutritt der atmosphärischen Luft schon von Pasteur so erklärt, daß durch die Aëroben der Sauerstoff in der betreffenden Nährflüssigkeit bis auf das letzte Atom aufgezehrt und damit für die Anaëroben in der That ein von Sauerstoff freies Medium geschaffen würde.

Penzo<sup>2)</sup> zeigte bei der Züchtung von Bacillen des malignen Ödems, daß dieselben bei gleichzeitiger Impfung mit dem *Bacillus prodigiosus* und *Proteus vulgaris*, auch bei Anwesenheit von Sauerstoff wuchsen. Auf demselben Prinzip des Sauerstoffverbrauches durch einen Aëroben beruht der Versuch von Roux<sup>3)</sup> mit *Bacillus subtilis*.

Ähnlich dem Versuche von Penzo ist der von Kedrowski<sup>4)</sup>. Seine Versuche, welche diese Behauptung erweisen sollten, waren im wesentlichen folgende. In gewöhnlicher Bouillon und 1 $\frac{1}{2}$  proz.

1) Nikiforoff, Ein Beitrag zu den Kulturmethoden der Anaëroben. Zeitschrift für Hygiene, Bd. VIII, S. 489.

2) Penzo, Beitrag zum Studium der biologischen Verhältnisse des *Bacillus* des malignen Ödems. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. X, S. 824.

3) Roux, Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. II, S. 327.

4) Kedrowski, Über die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien auch bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. Zeitschrift für Hygiene etc., Bd. XX, S. 358.

Zuckerbouillon bei Zutritt von Sauerstoff impfte er gleichzeitig aërobe (*Bacillus prodigiosus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Sarcina flava*, *Sarcina aurantiaca*, *Mikrococcus agilis*, weisse Hefe etc.) und anaërobe (das von ihm selbst isolierte *Clostridium butyricum* und den *Tetanusbacillus*) Bakterien. Nach bestimmter Zeit hatten sich gleichzeitig beide Bakterien entwickelt. Auf schräg erstarrtem Agar bei Zutritt von Sauerstoff impfte er ebenfalls gleichzeitig aërobe (*Bacillus prodigiosus* etc.) und anaërobe Bakterien und legte die Röhrchen dann im Brütschrank horizontal, so daß die Agarrohrfläche mehr oder weniger mit dem Kondensationswasser bedeckt war. Nach 24—48 Stunden hatten sich an den feuchten Stellen gleichzeitig die Aëroben und Anaëroben entwickelt, während an den trockensten nur die Aëroben zum Wachstum gelangt waren. Kedrowsky schließt daraus, daß allen aëroben Bakterien die Eigenschaft zukommt, durch ihre Gegenwart das Wachstum der Anaëroben auch bei Gegenwart von Sauerstoff zu ermöglichen. Selbst beim Durchleiten von Sauerstoff durch solche Mischkulturen wurde das Wachstum nicht gehemmt. Im Gegensatz zur Lehre Pasteurs erklärt er das Wachstum der Anaëroben bei ungehindertem Luftzutritt, das sich in Mischkulturen mit aëroben Bakterien beobachten läßt, nicht in der Weise, daß die Aufzehrung des Sauerstoffes durch die Aëroben in Bakterienmischungen den Anaëroben die Existenz ermöglichte, sondern daß von den Aëroben »Fermente« d. h. noch unbekannt, in Wasser lösliche Stoffwechselprodukte ausgeschieden werden, welche die Anaëroben auch bei Anwesenheit von Sauerstoff gedeihen lassen.

Der zweite Versuch Kedrowskis, in den keimfreien Filtraten von Bouillonkulturen aërober Bakterien Anaëroben bei Luftzutritt zu züchten, schlug fehl, was Kedrowski damit erklären will, daß sein Ferment das Filter offenbar nicht zu passieren vermöge. Wurden jedoch aërobe Agarkulturen vorsichtig getrocknet, durch Chloroformdämpfe abgetötet, dann mit Traubenzuckerbouillon übergossen und endlich mit Anaëroben geimpft, so konnte er nach 2—3 Tagen eine Vermehrung der Anaëroben konstatieren.



E. van Ermengen<sup>1)</sup> erwähnt, daß sein streng anaërober Bacillus der Fleischvergiftung zwar in Bouillon mit dem Mikroccoccus tetragenus zusammen üppig gedeihe, in den Filtraten und Stoffwechselprodukten des letzteren aber nicht zur Entwicklung gelange.

W. Scholtz<sup>2)</sup> beschäftigt sich aus demselben Grunde mit der Frage, ob die Anaëroben (Tetanusbacillus, Bacillus des malignen Ödems, Rauschbrandbacillus und Bacillus der Fleischvergiftung von van Ermengen) in Bouillonkultur bei ungehindertem Luftzutritt nur mit bestimmten Aëroben (Streptokokken, Staphylokokken, 2 Mikrokokken, mehreren Sarcinen und Hefen, 12 Bacillen, 2 Vibrionen, 1 Spirille, Actinomycespilz) zusammen zu gedeihen vermögen. In allen Fällen hat er eine zweifellose Entwicklung jener Anaëroben konstatieren können. Der genannte Forscher schließt daraus folgendes:

In der Regel ist das Wachstum ein sehr ergiebiges und reichlich so schnell wie in reiner Wasserstoffatmosphäre. Dabei geht die Vermehrung der Aëroben voraus, und erst bei einer gewissen Entwicklungsstufe derselben beginnen auch die Anaëroben sich zu vermehren, um dann aber weiterhin im allgemeinen mit den Aëroben Schritt zu halten. In Gemeinschaft mit üppig wachsenden Aëroben, wie z. B. dem Typhusbacillus, dem Bacterium coli und dem Choleravibrio nimmt die Entwicklung der Anaëroben bereits nach 12 bis 15 Stunden ihren Anfang und nach 24 bis 48 Stunden sind Sporen gebildet. Langsamer erfolgt das Wachstum zusammen mit Streptokokken, Diphtheriebacillen, Milzbrandbacillen und anderen aëroben Bakterienarten, die selbst relativ langsam gedeihen und Bodensätze bilden, oder bei denen die Vermehrung bereits nach mäfsiger Entwicklung aufhört. Noch langsamer vollzieht sich das Wachstum in Gemeinschaft mit dem Actinomycespilz und dem Tuberkelbacillus. Es finden in diesen Fällen die Anaëroben offenbar nur in unmittel-

1) E. van Ermengen, Über einen neuen Bacillus der Fleischvergiftung. Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXVI, S. 1.

2) Scholtz, Über das Wachstum anaërober Bakterien bei ungehindertem Luftzutritt. Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXVII, S. 132.

barer Nähe der Aëroben die Bedingungen zu ihrer Entwicklung. Das Alter der aëroben Kultur scheint für das Wachstum der Anaëroben ziemlich belanglos zu sein.

Votteler <sup>1)</sup> hat nach den Kedrowskischen Beobachtungen einen Kulturversuch mit malignem Ödem, Rauschbrand, und Tetanus mit Hilfe von Aëroben gemacht, aber seine Versuche blieben immer resultatlos.

#### 7. Die von mir angewandte Versuchsmethode.

Meine Versuche mit verschiedenen Nährböden begann ich zunächst nach den oben beschriebenen, verschiedenen Verfahren. Es wurden mit vielen Methoden wiederholt resultatlos verlaufende Versuche angestellt; nur bei folgenden fünf Verfahren fand ich immer positive Ergebnisse. Zur Untersuchung der Sporenbildung nahm ich aber keine Agarhöschichtkultur.

- a. Misch-Bouillon oder Agarstrichkultur mit lebenden Aëroben.
- b. Agarhöschichtkultur.
- c. Plattenkultur in meinem Apparat (unter Wasserstoff).
- d. Die Wasserstoffkultur in der Reagenzröhre.

Ich nahm ebenso wie Fraenkel, ein 1,5 cm breites und 17,0 cm langes Reagenzglaschen und verschloß es mit einem Gummi- oder Korkpfropfen, durch welchen zwei gebogene, kleine, mit engem Hals versehene Glasröhrchen führen. Eine dieser Röhren ging durch das Nährmedium bis auf den Boden des Reagenzglaschens, die andere reichte nur bis unter den Pfropfen. Die Wasserstoffeinleitung spielt freilich eine sehr hervorragende Rolle, so daß auf sie ein besonderes Augenmerk zu richten ist. Wenn man, wie Fraenkel schreibt, nur einmal durch eine lange Röhre den Wasserstoff durchleitet, hiernach die Zuleitungsrohren abschmilzt und schließlich den Pfropfen paraffiniert, findet die Entwicklung der Anaëroben öfters nicht statt. Bei folgenden Verfahren fand ich aber immer üppige Entwicklung der Anaëroben. Nach der Impfung wird mit einer langen Röhre durch den noch flüssigen Nährboden ca. 5 Minuten lang reiner Wasser-

1) Votteler, s. o.

stoff geleitet und dann diese Röhre bis an die Oberfläche des Nährbodens heraufgezogen; dann schließt man ganz dicht mit Paraffin den Pfropfen ab. Mit einer zweiten kurzen Zuleitungsröhre wird nun reiner Wasserstoff so lange (ca. 10 Minuten lang) durchgeleitet, bis durch die andere lange Röhre nur reiner Wasserstoff entweicht. Alsdann schmilzt man mittels Gasflamme die lange Röhre an ihrem engen Halse zu. Nachdem man sich überzeugt hat, daß keine Öffnung mehr vorhanden ist, also kein Wasserstoff mehr entweichen kann, wird auch die kurze Röhre, welche mit dem Kippschen Apparat verbunden ist, an ihrem engen Halse verschlossen.

Bei den Versuchen mit Agar- oder Gelatinestrichkulturen muß man zuerst den Pfropfen paraffinieren und nur mittels kurzer Zuleitungsröhre mindestens 30 Minuten lang den Wasserstoff einleiten. Nach dem Verdrängen aller Luft werden beide Zuleitungsröhren (erst die lange, dann die kurze) zugeschmolzen.

#### e. Die Vacuumkultur (Auspumpen der Luft).

Hierzu benutzte ich eine Wasserluftpumpe. Mit dem Vacuum war bekanntlich ein absolut luftleerer Raum nicht zu gewinnen, deswegen nahm ich oft nach Penzo außer dem Vacuum noch Wasserstoff oder pumpte oft mit Wasserstoff verdünnte Luft aus. Für diesen Zweck und gleichzeitig um die Sauerstoffmenge zu bestimmen, ist ein Apparat, welcher in dem folgenden Kapitel genau beschrieben wird, von mir gebraucht worden.

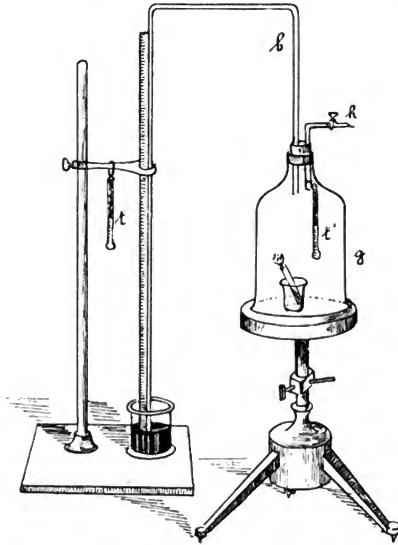
### B. Die Bestimmung der Sauerstoffmenge.

A. Wieler<sup>1)</sup> hat einen Apparat konstruiert, in dem leicht und bequem der Sauerstoffgehalt vermindert werden kann, und der gestattet, die Pflanzen, welche er enthält, zu beobachten und zu messen. Ich wandte einen ähnlichen, nur einfacheren Apparat an.

Eine durch den Teller einer Wasserstrompumpe einerseits und durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen anderer-

1) Wieler, Die Beeinflussung des Wachstums durch verminderte Partialdruck des Sauerstoffs. Untersuchungen aus dem Botanischen Institut zu Tübingen, Bd. 1, 1881—1885, S. 194.

seits verschlossene Glasglocke *g* steht durch die eine Öffnung des doppelt durchbohrten Stopfens direkt mit einem Gefäßbarometer *b* in Verbindung. Durch die andere Öffnung des Stopfens führt das Rohr eines Glashahnes *h*. Dieser ist mit dem Kippischen Wasserstoffentwicklungs-Apparat verbunden. An der Barometer-*röhre b* ist eine Millimeterskala angebracht, um die Niveaudiffe-



renzen des Quecksilbers ablesen zu können. In halber Höhe hängt ein Thermometer *t*; ein zweites *t'* befindet sich in der Glocke.

Um den Apparat möglichst luftdicht zu machen, werden sämtliche Verschlüsse mittelst einer Mischung von 5 Teilen Schweinefett und 1 Teil Wachs befestigt.

Mit der Wasserstrompumpe vermochte ich die Luft bis zu einer Verdünnung von 10—20 mm auszupumpen. Sollte diese

Verdünnung noch weiter getrieben werden, so wurde nach dem Evakuieren der Apparat mit Wasserstoff gefüllt und nach einiger Zeit wieder bis auf 10—20 mm ausgepumpt. Die Luftmenge kann dann durch Wiederholung obiger Operation so weit verringert werden, daß, den Wasserstoff als rein vorausgesetzt, in der Glocke fast gar kein Sauerstoff mehr vorhanden ist.

Die Berechnung ist unter Benutzung der auch von Wieler benutzten Formel folgende:  $V_1 = \frac{v \cdot b_1}{b}$ . Durch Multiplikation dieses Wertes mit  $\frac{20,93}{100}$  erhält man die in diesem Volumen enthaltene Quantität Sauerstoff. Die schließliche Formel für die Quantität des Sauerstoffs lautet also:

$$V_0 = \frac{v \cdot b_1}{b} \times \frac{20,93}{100}$$

$V_0$  = Sauerstoffvolumen bei  $b_1$ ; Druck.

$v$  =  $V_1 - h_1 q$  ( $q$ =Querschnitt des Barometerrohres).

$V_1$  = Rauminhalt des Apparates.

$h_1$  = Stand des Quecksilbers, auf der Millimeterskala des Gefäßsbarometers abgelesen.

$b$  = Barometerstand der atmosphärischen Luft.

$b_1$  =  $b - h - Wt$ .

$h$  = Niveaudifferenz des Quecksilbers im Gefäßsbarometer.

$Wt$  = Wasserdampftension bei  $t^\circ \text{C}$ .

### C. Der Nachweis der Sporen.

Im hängenden Tropfen erscheinen die Sporen als kugelige oder ellipsoide, Oltropfen ähnliche, viel stärker als das Bakterienprotoplasma das Licht brechende Körperchen, die sich ursprünglich im Leibe der sie bildenden Zellen befinden, nachher auch im freien Zustande vorkommen. Viele Autoren wiesen manchmal bloß im hängenden Tropfen die Sporen nach, und es sind infolgedessen schon öfters Fehler vorgekommen, weil manche Bakterien granulierten, körnigen Inhalt besitzen, der Sporen vor-täuschen kann.

Gegen Hitze haben die Sporen eine viel größere Widerstandskraft als die Bakterien selbst. Um Sporen des Milzbrandbacillus nachzuweisen, hat Weil<sup>1)</sup> denselben 2 Minuten lang auf 80° C. erhitzt. Diese Methode des Sporennachweises ist aber ebenfalls nicht genügend, weil man in kurzer Zeit das ganze Untersuchungsmaterial nicht überall gleichmäßig erhitzen kann, und noch lebende Bakterien darin bleiben. Ich habe bei der Sterilisierung der lebenden Mäuseseppticämiebacillenkultur (bei Untersuchungen über Schutzimpfung) folgenden Fall beobachtet: Eine 30 Stunden alte Bouillonkultur wurde im Wasserbad langsam erwärmt, bis die Temperatur des letzteren 80° C. anzeigte; darauf wurde die Emulsion 2 Minuten im Wasserbad bei dieser Temperatur belassen. Eine mit 0,3 ccm der Emulsion intraperitoneal geimpfte weiße Maus starb nach 5 Tagen an Mäuseseppticämie, und die bakteriologische Untersuchung ergab ein positives Resultat.

Durch gewöhnliche Farbstoffe sind die Sporen sehr schwer oder gar nicht färbbar. Ungefärbte Körper sind aber nicht immer Sporen, weil andere, keine Sporen bildende Bacillen, z. B. der Pestbacillus, der Hühnercholera-bacillus etc. ziemlich häufig bloße Polfärbung zeigen.

Ein ausserordentlicher Fortschritt wurde durch Hauser (sowie Neiser, Ernst und Bunge) angebahnt, der eine allgemeingültige Methode angab, um die Sporen durch eine Färbung mit nachfolgender Abspülung mit Säurealkohol sichtbar zu machen. Mit Hilfe dieses neuen Verfahrens ist es in allen Fällen gelungen, bei sporentragenden Bakterien solche Organe nachzuweisen, während bei nicht sporentragenden Bakterien (mit wenigen Ausnahmen, z. B. dem Tuberkelbacillus) nichts dergleichen zu finden ist.

Um die Sporen nachzuweisen, benutze ich immer Hausers Sporenfärbungsmethode (Vorfärben mit Ziehlscher Lösung, Abspülen mit saurem Alkohol und Nachfärben mit Methylenblau). Nach dieser Methode machte ich regelmässig 2 bis 4 Präparate von derselben Kultur. In sehr geringer Anzahl vorhandene

1) Weil, Zur Biologie der Milzbrandbacillen, Inaugural-Dissertation, Bern 1899.

Sporen zu finden, ist manchmal wegen der Farbstoffniederschläge ziemlich schwer, in solchen Fällen konnten wir dieselben nicht nur durch die mikroskopische Prüfung der von der Kultur hergestellten Präparate, sondern auch durch Versuche über die Resistenz gegen Einwirkung höherer Temperatur bestätigen. Man erhitzt z. B. eine Kultur, welche sich in einem geschlossenen und luftfreien Glasröhrchen befindet, 5—10 Minuten lang auf 79—81° C. im Wasserbad und impft von dieser Kultur auf den neuen Nährboden. Durch derartige sorgfältige Prüfung stellte ich immer die Sporenbildung fest.

#### D. Die Zubereitung der Nährböden.

Vor allem ist die Sterilisierung des Nährbodens sehr wichtig, deswegen habe ich immer regelmässig alle benutzten Nährböden mittels Dampftopf jedesmal 15 bis 30 Minuten lang 3 bis 5 mal (täglich oder alle 2 Tage einmal) sterilisiert und dieselben 2 Tage lang bei einer Temperatur von 35° C. stehen lassen, da allein diese eine Garantie für das Freibleiben von Verunreinigungen bietet.

Bei allen Versuchen wurden Reinzüchtungen in den jedesmal näher bezeichneten Nährmedien, teils in weiten Reagenzröhrchen (mit ca. 15 ccm Flüssigkeit) oder Erlenmeyerschen Kölbchen (mit 30—50 ccm Flüssigkeit), teils auf Agar- oder Kartoffelkulturen mit schiefer Fläche in Reagenzgläsern ausgeführt.

Ich benutzte folgende Nährböden:

1. Fleischextraktwasser. In 1 l Wasser werden 10 g Kochs Fleischpepton<sup>1)</sup> gelöst, durch Zugabe von Sodälösung (oder Essigsäure) neutralisiert, filtriert und sterilisiert.

2. Bouillon. 5 g Kochsalz werden in 1 l Fleischextraktwasser gelöst.

1) Als Resultat der Analysen Fleischpepton Kochs durch Bodländer ergab sich, auf die Trockensubstanz berechnet:

Eiweis im Wasser unlöslich . . . . .	2,11 %
Pepton im Wasser löslich . . . . .	45,95 %
Extractiv-Stoff des Fleisches . . . . .	40,66 %
Asche . . . . .	11,28 %
	<hr/>
	100,00 %

3. Traubenzuckerbouillon. Bouillon mit Zugabe von verschiedenen Mengen (0,5—50,0 %) Traubenzucker.

4. Kochsalzbouillon. Bouillon mit Zugabe von verschiedenen Mengen (0,2—10 %) Kochsalz.

5. Glycerinzuckerbouillon. Bouillon mit Zugabe von 2 % Traubenzucker und 6 % Glycerin.

6. Sodabouillon. 2proz. Traubenzuckerbouillon mit Zugabe von verschiedenen Mengen Natrium carbonicum.

7. Säurebouillon. 2proz. Traubenzuckerbouillon mit Zugabe von verschiedenen Mengen Acidium hydrochloricum.

8. Pyrogallolbouillon. 2 % Traubenzuckerbouillon mit Zugabe von 5 % Glycerin, 0,1 % Eikonogen, 0,1 % Hydrochinon, 0,1 % Pyrogallussäure.

9. Gummilösung. In 1 l Fleischextraktwasser werden 50—300 g Gummi arabicum, 5 g Kochsalz, 20 g Traubenzucker gelöst und neutralisiert.

10. Tragacanthlösung. Ebenfalls eine Lösung von 1 bis 3 % Gummi-Tragacantha, 0,5 % Kochsalz, 2 % Traubenzucker in Fleischextraktwasser.

11. Konbudekokt. Das Konbu ist eine der Laminaria ähnlichen japanischen Meeralgeln. 100 g getrocknetes, fein geschnittenes Konbu wird mit 1 Liter gewöhnlichen Wassers 24 Stunden an einem kalten Ort stehen gelassen und dann 1 Stunde im Dampfkoctopfe gekocht und filtriert; hierauf fügt man 10 g Kochs Fleischpepton, 20 g Traubenzucker zu, kocht auf und neutralisiert.

12. Wassergelatine. Zu 1 Liter Wasser werden 100 g Gelatine zugesetzt, umgeschüttelt und vorsichtig im Wasserbad bis zum Schmelzen der Gelatine erwärmt. Hierauf Neutralisation, Kochen im Dampfkoctopf und Filtrieren.

13. Fleischpeptongelatine. In 1 Liter Wasser werden 100 g Gelatine und 10 g Kochs Fleischpepton gekocht, neutralisiert und filtriert.

14. Gewöhnliche Nährgelatine. Fleischpeptongelatine mit Zugabe von 0,5 % Kochsalz.



15. Traubenzuckergelatine. Gewöhnliche Nährgelatine mit Zugabe von 2% Traubenzucker.

16. Bouillongelatine. Bouillon mit Zugabe von 2% Traubenzucker und 1—30% Gelatine.

17. Kochsalzgelatine. Fleischpeptongelatine mit Zugabe von 0,2—10,0% Kochsalz.

18. Traubenzuckerfleischpeptongelatine. Fleischpeptongelatine mit Zugabe von 0,5—60% Traubenzucker.

19. Glyceringelatine. Fleischpeptongelatine mit Zugabe von 5—15% Glycerin.

20. Sodagelatine. Traubenzuckergelatine mit Zugabe von 0,2—15,0% Natrium carbonicum.

21. Säuregelatine. Traubenzuckergelatine mit Zugabe von 0,1—0,4% Acidum-hydrochloricum.

22. Gewöhnlicher Nähragar. Zu 1 Liter Wasser werden 10 g Kochs Fleischpepton, 5 g Kochsalz und 20 g Agar-Agar im Dampfkochtopf gekocht, neutralisiert und filtriert.

23. Traubenzuckeragar. Gewöhnlicher Nähragar mit Zugabe von 2% Traubenzucker.

24. Fleischpeptonagar. In 1 Liter Wasser werden 10 g Kochs Fleischpepton, 5 g Kochsalz, 2% Traubenzucker und 0,1—0,5% Agar-Agar gekocht, hernach neutralisiert und filtriert.

25. Kartoffel. Aus geschälten Kartoffeln werden cylindrische Stücke geschnitten und zur Ermöglichung einer großen Oberfläche diese Cylinder schief abgeschnitten. Sterilisation in den Reagenzgläsern im Dampfkochtopf.

26. Glycerinkartoffel. Die Herstellung dieses Nährbodens ist dieselbe wie bei 25, nur kommt ein Zusatz von Glycerin hinzu.

## II. Das Wachstum einiger Anaëroben auf Schrägagar und Plattenkultur.

Da die Kulturen anaërober Bakterien auf schräg erstarrter Agarfläche andern Forschern nicht gelungen sind, während sich bei meiner Untersuchung stets positive Resultate ergaben, will ich die Beschaffenheit der Kulturen bei den verschiedenen geprüften Arten kurz beschreiben.

### 1. *Clostridium butyricum*.

Auf 2proz. Traubenzuckergelatineplatten entwickeln sich die Kolonien unter Wasserstoff nach 3—4 Tagen als 1—3 mm große, dünne, grauweiße, rundliche, unregelmäßig zackige oder gelappte, weintraubenblattförmige, trockene, mattglänzende Auflagerungen; im luftleeren Raum sind die Kolonien rein weiß und dicker als unter Wasserstoff. Bei schwacher Vergrößerung sind sie, wie auf Tafel I Figur 1 ersichtlich, dunkelgelb gefärbt, nicht durchscheinend; ihr Rand ist gelappt. In den ungefärbten Randpartien zeigen sich zahlreiche, ziemlich lange Fäden. Ein paar lange Haare ragen sogar vom Rand der Kolonie weiter in die Gelatine hinaus. Die Gelatine verflüssigt sich niemals.

Auf gewöhnlichen Nährgelatineplatten bilden sie nach 3 Tagen makroskopisch 1,5—2 mm große, dünne, trockene, Coli-ähnliche Kolonien.

Auf 2proz. Traubenzuckeragarstrichkultur bildet *Clostridium butyricum* einen grauweißlichen, nicht dicken, glänzenden Belag mit bald fast glattem, bald mit kurzen Härchen versehenem Rande. Kondensationswasser ist ziemlich klar mit schmutzig-weißem Bodensatz (vgl. Tafel I, Figur 2 und 3).

Auf gewöhnlichen Kartoffeln bilden sie dünne, weiße, trockene Häutchen, auf Glycerinkartoffeln dagegen saftige weiße Auflagerungen. Beide Kartoffelkulturen riechen nach Essig. Gasbildung ist in beiden Kartoffelkulturen ebenfalls nachweisbar.

### 2. *Bacillus oedematis maligni*.

Auf 2proz. Traubenzuckeragarplattenkultur besteht die Kolonie aus einem weißlichgrauen, dünnen, langen, deutlichen Härchenkranz. Bei schwacher Vergrößerung werden gelbe, mehr oder weniger gewundene, miteinander innig verschlungene Fäden sichtbar, ganz ähnlich wie bei den Kolonien des *Bacillus mycoides*.

Auf 2% Traubenzuckeragarstrichkultur Bildung eines grauweißen Belages mit langen oder kurzen, zarten Härchen. Bei einzelnen Kolonien sind die fadenartigen Gebilde viel deutlicher als bei den zusammenfließenden Kolonien. Kondenswasser ist

erst etwas getrübt, später klärt es sich jedoch wieder auf unter Bildung von Bodensatz. (Vgl. Tafel II, Figur 8 und 9.)

Auf gewöhnlichen Kartoffeln und Glycerinkartoffeln bemerkt man makroskopisch kein Wachstum, während sich mikroskopisch bisweilen zahlreiche Bazillen erkennen lassen.

### 3. *Bacillus anthracis symptomatici* (*Bacillus des Rauschbrandes*).

Die Kolonien auf Agarplatten sind denen des *Bacillus* des malignen Ödems sehr ähnlich.

Auf 2proz. Traubenzuckeragarstrichkultur entwickeln sie sich als lange, breite, bald ineinander zusammenfließende, baumartig gezweigte oder als gelappte, blattähnliche Gebilde. (Vgl. Tafel II, Figur 6 und 7.)

Auf gewöhnlichen Kartoffeln bildet sich bei 34° C. nach 22 Stunden ein über die ganze Oberfläche verbreitetes, trockenes, weißliches Häutchen und Gasblasen, nach 16 Tagen hat sich eine über die ganze Oberfläche verbreitete, dünne, schmutziggroße, sehr unangenehm stinkende Auflagerung entwickelt.

Auf Glycerinkartoffeln ist makroskopisch kein Wachstum nachweisbar, während sich mikroskopisch ein paar Bacillen vorfinden.

### 4. *Bacillus sporogenes*.

Auf 2proz. Traubenzuckeragarstrichkultur wächst er in Form einer saftig glänzenden, ziemlich dicken Auflagerung. Die Fadenbildung ist nicht so deutlich wie beim *Bacillus* des malignen Ödems. (Vgl. Tafel I, Figur 4.)

Auf gewöhnlichen Kartoffeln bilden sich bei 34° C. nach 16 Tagen kaum sichtbare, sehr dünne, weißlichgraue Auflagerungen und stinkende Gase. Die Kartoffel färbt sich grau-bräunlich.

Auf Glycerinkartoffeln bald kein, bald kümmerliches Wachstum unter Entwicklung von Gasblasen.

### 5. *Bacillus botulinus* van Ermengen.

Auf 2proz. Traubenzuckeragarstichkultur bildet sich eine ziemlich dicke, saftig glänzende, weißliche Auflagerung mit deutlichem Stichkanal.

Auf 2proz. Traubenzuckeragarstrichkultur erscheint ebenfalls eine nicht charakteristische, saftig glänzende, weißliche Auflagerung.

Die Kartoffeln haben einen schwach ranzigen Geruch, der aber durchaus nicht widerlich ist, wie bei anderen Anaëroben.

### **Anhang. Bacillus X.**

Derselbe ist ein unter dem Namen Tetanusbacillus von Král uns übersandter Bacillus, welcher mit dem Tetanusbacillus nicht übereinstimmt. Die Kultur war wahrscheinlich unrein, denn ich habe immer von derselben Kultur einen fakultativ anaëroben Bacillus, niemals Tetanusbacillen gezüchtet. Dieser fakultative anaërobe Bacillus hat folgende Eigenschaften:

Im hängenden Tropfen stellt er ein lebhaft bewegliches, langes, großes Stäbchen mit abgerundeten Enden dar; oft vereinzelt gelagert oder aus zwei bis mehreren Gliedern bestehende Fäden bildend. In der Mitte des Stäbchens bildet sich eine länglich-runde Spore, fakultativ anaërob, entwickelt er sich unter Wasserstoff viel üppiger als bei Luftzutritt.

Mit gewöhnlichen Farbstoffen färben die Stäbchen sich sehr gut. Er wächst bei Zimmer- und Bruttemperatur auf gewöhnlichem Nährboden sehr gut, jedoch bei 35° C. viel schneller als bei Zimmertemperatur.

Auf Plattenkulturen, welche mit 10proz. Fleischpepton-gelatine hergestellt worden sind und die bei Zimmertemperatur gehalten werden, entwickelt sich der Bacillus wie folgt:

Kleine, weiße Kolonien, welche schnell die Gelatine verflüssigen. Nach 1—2 Tagen ca. 5 mm große, runde, verflüssigende, in der Mitte eine weiße und schleimige Bakterienmasse enthaltende Kolonien. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen die noch nicht verflüssigten Kolonien als gelbe, unregelmässig zusammenliegenden Fäden bestehende Scheiben. Die verflüssigten Kolonien zeigen in der Mitte ein unregelmässiges, ziemlich großes, dunkelgelbes Centrum; die nächste Schicht besteht aus unregelmässig liegenden Körnchen oder aus einem fädenartigen, lockeren Gewebe; um dieses herum liegt ein

dunkelgelber, ziemlich breiter Ring; dann folgt eine helle, breite Zone, an welcher der mit runden, kurzen Härchen versehene Rand angrenzt. (Vgl. Tafel II, Figur 5.)

In der Gelatinestichkultur wächst diese Art längs des Stichkanals in Form weisslicher Fäden. Die Gelatine verflüssigt sich sehr schnell tellerförmig.

Auf schrägem Agar bildet sich erst eine grauweiße, saftig glänzende Auflagerung, welche nach 5 Tagen trocknet und sich etwas faltet.

Bouillon trübt sich gleichmäßig, bildet weißen Bodensatz und enthält in der Mitte der Oberfläche eine weiße Bakterienmasse.

In Traubenzuckerbouillon keine Gasbildung.

Indolbildung ist in gewöhnlicher Bouillon oder dem Peptonwasser in Spuren nachweisbar.

### III. Die entscheidende Veranlassung der Sporenbildung.

Lehmann<sup>1)</sup> sagt, daß eine gewisse Erschöpfung des Nährbodens bedingend oder wenigstens begünstigend für die Sporenbildung des Milzbrandbacillus sei.

Büchner<sup>2)</sup> schreibt, daß *Bacillus anthracis* in guten Nährlösungen sich nur vegetativ vermehrt und erst bei eintretendem Mangel an Ernährungsmaterial zur Sporenbildung übergeht. Diesen Satz stützte Buchner durch drei Versuche. Erstens stellte er fest, daß die Sporenbildung ausblieb, wenn man in einem Schälchen mit 2 ccm Inhalt die Bouillon um die üppig wachsenden Bacillen häufig erneuerte, daß sie aber bald eintrat, wenn man die gleichen Bacillen in einem Tropfen Bouillon züchtete. Zweitens zeigte er, daß in sterilisiertes Wasser gebrachte Milzbrandfäden weiter Sporen bildeten, während sie es in angefaulten Fleischflüssigkeit nicht thaten, und drittens, daß

1) Lehmann, Über einige Bedingungen der Sporenbildung beim Milzbrand. Sitzungsbericht der phys. und med. Gesellschaft zu Würzburg 1890.

2) Büchner, Über die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. VIII, S. 3.

in verdünnten Fleischextraktlösungen rascher Sporenbildung eintrat. Schreiber<sup>1)</sup> stimmt Buchner bei, indem er angibt, daß dauerndes lebhaftes Wachstum unter den günstigsten Bedingungen niemals Sporenbildung hervorruft, daß ungenügende Ernährung und ungünstige äußere Bedingungen die Sporenbildung sehr in Frage stellen, bezw. sie ganz aufheben, daß plötzliche Hemmung des Wachstums nach vorausgegangener guter Ernährung zu jeder Zeit sofort schnell und vollständig Sporenbildung veranlaßt. Gegen die Richtigkeit der Folgerung hat Migula<sup>2)</sup> das Resultat des folgenden Versuches angewendet: Er setzte einer Bouillonkultur mit Milzbrandbacillen, die »kurz vor der Sporenbildung« stand, trockenes Pepton mit Fleischextrakt zu, d. h. also sehr gute Nährstoffe. Trotzdem kam es nicht zu einer entsprechenden Vermehrung, sondern die Hauptmasse der Zelle fuhr fort, sich auf die Sporenbildung vorzubereiten. Erst bei Verdünnung der Bouillon mit Wasser trat lebhafte Vermehrung ein, und die Sporenbildung unterblieb. Daraus folgert Migula, daß die Anhäufung von Stoffwechselprodukten die Veranlassung zu Sporenbildung abgebe. Klebs<sup>3)</sup> sagt, daß die Stoffwechselprodukte zweifellos nicht notwendig für die Sporenbildung sind, wie die Versuche mit reinem Wasser darlegen, wenn auch die Möglichkeit einer solchen Wirkung zuzugeben ist. Aus den Versuchen von Klebs mit verschiedenartigen Pilzen geht deutlich hervor, daß überhaupt eine Änderung der Ernährung oder der Eintritt von Nahrungsmangel für die Bildung der Fortpflanzungsorgane von entscheidender Bedeutung ist.

Um die Frage, ob die Veranlassung zur Sporenbildung im Nahrungsmangel oder in Stoffwechselprodukten liegt, zu beurteilen, habe ich mit Anaëroben Experimente angestellt. Für die Versuche ist es sehr wichtig, ein ganz bestimmtes Substrat anzuwenden,

---

1) Schreiber, Über die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung bei *Bacillus anthracis*, *subtilis* und *tumescens*. Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XX, S. 431.

2) Migula, Ref. aus Arbeit von Klebs.

3) Klebs, Zur Physiologie der Fortpflanzung einiger Pilze. Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik, Bd. XXXV, S. 17.

um genau vergleichbare Resultate zu erlangen. Denn der gleiche Bacillus kann bei der Kultur auf verschiedenartigen Substraten doch etwas verschiedenartige Eigenschaften zeigen. Wo es möglich ist, eignet sich am besten die Kultur in Flüssigkeiten, weil der Bacillus darin sehr gleichmäÙig ernährt wird. Für das Folgende ist stets vorausgesetzt, daß alle anderen äußeren Bedingungen in günstigem Sinne einwirken.

Wie ich im folgenden Abschnitt darlegen werde, bilden die Anaëroben in 2proz. Traubenzuckerbouillon ziemlich langsam Sporen. Es wurde deshalb zur Lösung der vorliegenden Frage 2proz. Traubenzuckerbouillon von mir benutzt. Zuerst mußte ich darüber klar zu werden suchen, ob sich die Bakterien im Filtrat einer Anaërobenbouillonkultur, in welcher schon einmal die Sporenbildung erfolgte, vermehren, d. h. ob in demselben noch Nährstoffe enthalten sind; dann stellte ich mir die Frage, ob im Filtrat von Aërobenbouillonkultur die Anaëroben sich noch entwickeln und noch Sporen bilden können. Drittens mußte man noch die Frage beantworten, ob nach dem Zusatz von Nährstoffen in solchen Filtraten von Anaëroben- oder Aërobenbouillonkultur sofort die Anaëroben Sporen bilden. Endlich mußte man sich die Frage stellen, ob die Sporenbildung ausbleibt, wenn man die Nährböden häufig erneuerte. Die von mir benutzten Filtrate reagierten infolge spontaner Säurebildung sauer und wurden direkt als Medium benutzt.

### **I. Untersuchung mit dem Filtrat von Anaërobenbouillonkultur.**

Bacillus sporogenes wächst im Filtrat einer 2 Tage alten, bei 34° C. aufbewahrten, 2proz. Traubenzuckerbouillonkultur, in welcher Bacillus sporogenes sich üppig entwickelt und Gas, aber noch keine Sporen gebildet hatte, unter Wasserstoff makroskopisch ziemlich gut und bildet nach 20 Stunden noch keine, nach 42 Stunden nicht sicher nachweisbare, nach 72 Stunden nur wenige, nach 96 Stunden zahlreiche Sporen; also tritt die Sporenbildung in diesem Filtrat 1—2 Tage früher als in gewöhnlicher 2proz. Traubenzuckerbouillon ein. In einem Filtrate von 4 und 6 Tagen alter 2proz. Traubenzuckerbouillonkultur, in welcher

üppiges Wachstum und geringe Sporenbildung nachweisbar war, entwickelt sich *Bacillus sporogenes* nur sehr spärlich, und die Flüssigkeit bleibt makroskopisch immer klar, während sich mikroskopisch nach 1 Tage schon ziemlich viele Stäbchen und vereinzelte Sporen, nach 2—4 Tagen mäfsig viele bis zahlreiche Sporen nachweisen. In diesem Filtrat bildet *Bacillus sporogenes* also in kurzer Zeit Sporen; während sie sich in gewöhnlicher 2proz. Traubenzuckerbouillon erst nach 4 Tagen bilden.

*Clostridium butyricum* wächst im Filtrate von 2 und 6 Tage alten 2proz. Traubenzuckerbouillonkulturen, in welchen es sich üppig entwickelt hatte (in der 6 Tage alten Kultur hatten sich schon Sporen gebildet), ziemlich gut unter Gasbildung; die Sporenbildung tritt nach 2—3 Tagen ein, also 1—2 Tage früher als in gewöhnlicher 2proz. Traubenzuckerbouillon.

*Bacillus anthracis symptomatici* entwickelt sich in Filtraten von 9 und 11 Tage alter 2proz. Traubenzuckerbouillonkultur, in welcher üppige Entwicklung und Sporenbildung von *Bacillus anthracis symptomatici* nachweisbar waren, unter Wasserstoff makroskopisch nicht, und die Flüssigkeiten bleiben immer klar, während mikroskopisch die Entwicklung deutlich nachweisbar ist. Die Sporenbildung findet nach 3—4 Tagen statt, also 4 bis 5 Tage früher als in 2proz. Traubenzuckerbouillon.

## 2. Untersuchung mit dem Filtrat von Aërobenbouillonkultur.

Wir werden später sehen, dafs die Anaëroben in Mischbouillonkultur zugleich mit Aëroben bei Luftzutritt sich entwickeln, während sie im Filtrat von Aërobenbouillonkultur bei Luftzutritt nicht wachsen (siehe folgenden Abschnitt). Ich suchte daher noch darüber Klarheit zu bekommen, ob die Anaëroben im Filtrat von Aërobenbouillonkultur sich unter Wasserstoff entwickeln können. Hierzu benutzte ich die Filtrate der 2proz. Traubenzuckerbouillonkulturen des *Bacillus coli communis*, *Bacillus prodigiosus*, *Bacillus pyocyaneus* und *Vibrio cholerae*, welche 2 Tage lang bis 34° C. aufbewahrt wurden und sehr üppiges Wachstum zeigten.



Im Filtrat der *Bacillus prodigiosus*-Kultur bilden unter Wasserstoff *Bacillus oedematis maligni* und *Clostridium butyricum* nach 24 Stunden, *Bacillus botulinus* und *Bacillus anthracis symptomatici* nach 36 Stunden, *Bacillus sporogenes* nach 48 Stunden eine geringe Menge von Sporen. *Clostridium butyricum*, *Bacillus anthracis symptomatici* und *Bacillus sporogenes* wachsen in diesem Filtrat makroskopisch nicht, sondern nur mikroskopisch, während *Bacillus botulinus* und *Bacillus oedematis maligni* etwas Gas bilden.

Im Filtrat von *Coli*-Kultur bilden unter Wasserstoff *Bacillus sporogenes*, *Bacillus oedematis maligni* und *Clostridium butyricum* nach 24 Stunden, *Bacillus botulinus* und *Bacillus anthracis symptomatici* nach 72 Stunden Sporen; alle Kulturen bleiben makroskopisch klar, wobei sich ein Bodensatz bildet; mikroskopisch sind jedoch zahlreiche Stäbchen nachweisbar.

Im Filtrat von *Pyocyanus*-Kultur entwickeln sich *Bacillus sporogenes* und *Bacillus oedematis maligni* ebenfalls sehr schwach, und es ist ihre Entwicklung nur mikroskopisch nachweisbar. Die Sporenbildung tritt erst nach 3 Tagen ein.

Im Filtrat von *Cholera*-Kultur tritt die Sporenbildung bei *Bacillus sporogenes* und *Clostridium butyricum* nach einem Tage, beim *Bacillus botulinus* nach zwei Tagen, beim *Bacillus oedematis maligni* und *Bacillus anthracis symptomatici* nach drei Tagen ein. *Bacillus botulinus* und *Bacillus oedematis maligni* wachsen ziemlich gut unter Gasbildung, während die übrigen Anaeroben sich nur mikroskopisch entwickeln.

Aus diesen Beobachtungen ersehen wir, dafs im Filtrat von 2—11 Tage alter Bouillonkulturen mikroskopische und makroskopische Entwicklung von Anaeroben möglich ist, und dafs bei Anaeroben die Sporenbildung in kürzerer Zeit als in gewöhnlicher Bouillon eintritt.

### 3. Untersuchung mit dem Filtrat von Anaerobenbouillonkultur nach dem Zusatz von Nährstoffen.

In dem Filtrat der 2 proz. Traubenzuckerbouillonkultur des *Clostridium butyricum*, welche neun Tage lang bei 34° C. auf-

bewahrt wurde und sehr üppiges Wachstum und viele Sporen zeigte, bildet *Clostridium butyricum* nach 20 Stunden noch keine, nach 23 Stunden eine geringe Menge von Sporen, während in demselben Filtrat bei Zusatz der 2 proz. Traubenzuckerbouillon von gleicher Quantität (es enthält dieses ganze Filtrat also 0,5% Fleischpepton, 1% Traubenzucker und 0,25% Kochsalz) erst nach 40 Stunden Sporenbildung nachweisbar ist. In demselben Filtrat bei Zusatz von einer Flüssigkeit, welche 2% Fleischpepton, 4% Traubenzucker, 1% Kochsalz und Wasser enthält, von gleicher Menge (es enthält dieses ganze Filtrat also 1% Fleischpepton, 2% Traubenzucker und 0,5% Kochsalz) tritt die Sporenbildung des *Clostridium butyricum* erst nach drei Tagen, manchmal nach fünf Tagen ein.

In dem Filtrat von vier Tage alter 2 proz. Traubenzuckerbouillonkultur des *Bacillus sporogenes* mit oder ohne Zusatz von 2 proz. Traubenzuckerbouillon ist spärliche Entwicklung und Sporenbildung des *Bacillus sporogenes* nach 24 Stunden nachweisbar. In demselben Filtrat ist bei Zusatz der gleichen Menge 2 proz. Traubenzuckergelatine (das Medium enthält also im ganzen 0,5% Fleischpepton, 1% Traubenzucker, 0,25% Kochsalz und 5% Gelatine) die Sporenbildung des *Bacillus sporogenes* nach 24 Stunden noch etwas lebhafter als im *Sporogenes*-Filtrat mit oder ohne Zusatz von 2 proz. Traubenzuckerbouillon.

#### 4. Untersuchung mit dem Filtrat von Aërobenbouillonkultur nach dem Zusatz von Nährstoffen.

*Bacillus oedematis maligni* bildet im Filtrat von zwei Tage alter 2 proz. Traubenzuckerbouillonkultur des *Bacillus prodigiosus* nach 24 Stunden, in demselben Filtrat bei Zusatz der 2 proz. Traubenzuckerbouillon von gleicher Quantität (es enthält dieses ganze Filtrat also 0,5% Fleischpepton, 1% Traubenzucker und 0,25% Kochsalz) nach 36 Stunden Sporen.

Im Filtrat der zwei Tage alten 2 proz. Traubenzuckerbouillonkultur des *Bacillus pyocyaneus* mit oder ohne Zusatz der 2 proz. Traubenzuckerbouillon in gleicher Menge bilden *Bacillus oedematis maligni* und *Bacillus sporogenes* nach zwei Tagen un-

reife, nach drei Tagen spärliche reife, nach vier Tagen viele Sporen. In diesem Filtrat, welchem 2proz. Traubenzuckerbouillon zugesetzt wurde, entwickeln sich beide Bacillen deutlich etwas reichlicher als im reinen Filtrat.

##### **5. Untersuchung der Hemmung der Sporenbildung durch fortwährende Erneuerung der das Wachstum befördernden Nährstoffe.**

Auf ähnliche Weise wie Buchner, habe ich bei fünf Anaëroben in 2proz. Traubenzuckerbouillon 20 mal regelmäßig nach je fünf Tagen die Nährlösung erneuert, ohne dafs jemals Sporenbildung eingetreten wäre; die Kulturen befanden sich bei Zimmertemperatur immer unter Wasserstoff. Die Bakterien zeigten bis zum letzten Male keine Sporenbildung, jedoch bildeten sie in kurzer Zeit wieder Sporen, wenn man sie in 2proz. Traubenzuckergelatine überimpfte und bei 34° C. kultivierte.

Ich habe die Versuche nicht weiter fortgesetzt, weil nach allen Erfahrungen ein anderes Resultat nicht zu erwarten war. Auf Grund seiner ausgedehnten Studien über diese Frage spricht Klebs folgenden Satz aus: So lange für das Wachstum der niederen Organismen charakteristische äufsere Bedingungen vorhanden sind, tritt Fortpflanzung nicht ein. Die für diesen Prozeß günstigen Bedingungen sind stets für das Wachstum mehr oder weniger ungünstig. Dieser Satz gilt für die aëroben und anaëroben Bakterien.

Wir haben nun gesehen, dafs die anaëroben Bakterien im Filtrat von Anaëroben- oder Aëroben-Bakterienbouillonkultur schnell, in demselben Filtrat mit Zusatz von Nährstoffen langsam die Sporen bilden. Z. B. *Bacillus sporogenes* bildet im Filtrat von vier Tage alter 2proz. Traubenzuckerbouillonkultur von demselben *Bacillus* nach einem Tag vereinzelt reife Sporen, während sich in gewöhnlicher 2proz. Traubenzuckerbouillon erst nach vier Tagen Sporen bilden. In dem Filtrat von neun Tage alter 2proz. Traubenzuckerbouillonkultur des *Clostridium butyricum* bildet *Clostridium butyricum* nach 23 Stunden geringe Mengen von Sporen, während in demselben Filtrat mit Zusatz von Nähr-

stoffen erst nach drei, manchmal fünf Tagen die Sporenbildung eintritt.

Aus allen diesen Beobachtungen geht deutlich hervor, dafs, so lange der Nährboden viele Nahrung enthält, keine Sporenbildung eintritt, dafs die Stoffwechselprodukte auf die Sporenbildung einen sehr zweifelhaften Einflufs ausüben und, dafs die Veranlassung der Sporenbildung im Mangel an Ernährungsmaterial liegt.

#### **IV. Die allgemeinen Bedingungen der Sporenbildung.**

Die Untersuchungen wurden nach folgenden Richtungen hin ausgeführt:

1. Der Einflufs der Ernährung.
2. Der Einflufs des Sauerstoffes.
3. Der Einflufs der Temperatur.
4. Der Einflufs des Lichtes.

##### **I. Der Einflufs der Ernährung.**

Die Bakterien entwickeln sich auf den mannigfachsten Substraten, und die Ernährungsverhältnisse üben auf die Sporenbildung einen verschiedenen Einflufs aus. Um diesen Einflufs zu untersuchen, will ich hier nur folgende Gesichtspunkte behandeln:

- A. Der Einflufs der Qualität der Nährstoffe.
- B. Der Einflufs der Quantität der Nährstoffe.
- C. Der Einflufs von chemischen Substanzen.

##### **A. Der Einflufs der Qualität der Nährstoffe.**

Osborne<sup>1)</sup> hat betreffs der Sporenbildung des Milzbrandbacillus bewiesen,

1. dafs die absolute Gröfse der Sporenernte bei gleicher Aussaat auf Nährböden von geringem Fleischextraktgehalt geringer ist als auf solchen von normalem Gehalt;

---

1) Osborne, Die Sporenbildung des Milzbrandbacillus auf Nährboden von verschiedenem Gehalt an Nährstoffen. Archiv für Hygiene, Bd. XI, S. 51.

2. dafs auf erschöpften Nährböden die absolute Sporenernte ebenfalls geringer ist als auf guten;

3. dafs — hierüber sind allerdings nur einige gelegentliche Beobachtungen und keine Zahlen mitgeteilt — in den spärlich gewachsenen Fäden der schlechten Nährböden die Sporen weniger dicht liegen als in den üppig gewachsenen Fäden der guten Nährböden — und, dafs also von einer Begünstigung der Sporenbildung durch Nährböden, deren Erschöpfung früher eintritt, keine Rede sein kann.

Stephanidis<sup>1)</sup> schlofs aus seinem Versuch: Die Dichtigkeit oder Intensität der Sporenbildung ist auf guten Nährböden eine gröfsere als auf schlechten. Sehr beträchtlich ist die Differenz nicht; immerhin liefern, wie zu erwarten, die kräftigen Fäden, die auf dem reichen Nährboden gewachsen sind, die reichere Ernte.

Im Nachfolgenden werde ich in Kürze meine Befunde angeben; die genaueren Resultate stellte ich der Übersichtlichkeit halber in Tabelle I zusammen.

a) 2 proz. Traubenzuckerbouillonkultur (bei 34° C.).

1. *Clostridium butyricum* entwickelt sich makroskopisch nach einem Tag sehr üppig unter Gasbildung. Die Flüssigkeit trübt sich schwach bis stark mit Bodensatz, aber spätestens nach acht Tagen (manchmal nach drei Tagen) klärt sie sich wieder auf. Während sich die Flüssigkeit trübt, tritt fast niemals die Sporenbildung ein. Dieselbe zeigt sich frühestens nach vier Tagen, doch können bis zu ihrem Eintritt sieben Tage vergehen.

2. *Bacillus oedematis maligni* entwickelt sich ebenfalls ziemlich schnell unter Bildung von Gas und schleimigen Flocken; später trübt sich die Flüssigkeit schwach. Die Sporenbildung ist nach drei Tagen nachweisbar. Über 40 Tage alte Bouillonkultur ist klar mit Bodensatz; mikroskopisch findet man in ihr verschiedene Involutionsformen, manchmal fehlen Sporen.

1) Stephanidis, Archiv für Hygiene, Bd. 35, S. 1.

3. *Bacillus sporogenes* gedeiht schnell und üppig; die Flüssigkeit trübt sich sehr stark unter Gasbildung. Die Sporenbildung tritt aber erst nach vier Tagen ein.

4. *Bacillus anthracis symptomatici* wächst auch in 2 proz. Traubenzuckerbouillon sehr gut. Die Flüssigkeit trübt sich nach 1—2 Tagen stark, klärt sich jedoch wieder auf. Die Sporenbildung ist nach acht Tagen sichtbar.

5. *Bacillus botulinus* entwickelt sich sehr schnell und üppig; die Flüssigkeit trübt sich sehr stark unter Gasbildung, klärt sich jedoch nach 18 Tagen wieder auf. Die Sporenbildung ist erst nach 20 Tagen und dann noch selten nachweisbar.

b) Gewöhnliche und Glycerinkartoffelkultur (bei 34° C.).

1. *Clostridium butyricum* wächst auf beiden Kartoffeln ziemlich gut unter Gasbildung; die Sporenbildung tritt nach zwei Tagen ein.

2. *Bacillus oedematis maligni* entwickelt sich makroskopisch nicht und bildet unter Wasserstoff nach vier Tagen keine, nach 16 Tagen dagegen sehr zahlreiche Sporen.

3. *Bacillus sporogenes* bildet auf Kartoffeln eine kaum sichtbare, dünne, grauweiße Auflagerung mit Gasblasen. Nach 16 Tagen bildet er unter Wasserstoff noch keine sichtbaren Sporen.

4. *Bacillus anthracis symptomatici* wächst auf gewöhnlichen Kartoffeln gut, nach 16 Tagen ist Sporenbildung nachweisbar. Dagegen entwickelt er sich auf Glycerinkartoffeln nicht sichtbar und läßt mikroskopisch nur geringe Stäbchen ohne Sporen (nach 4—16 Tagen) erkennen.

c) 2 proz. Traubenzuckeragarstrichkultur (bei 34° C.).

*Clostridium butyricum* bildet auf 2 proz. Traubenzuckeragarstrichkultur schon nach einem Tage Sporen, während beim *Bacillus oedematis maligni* nach 60 Stunden, beim *Bacillus anthracis symptomatici* nach mehr als vier Tagen, beim *Bacillus sporogenes* und *Bacillus botulinus* erst nach fünf Tagen die Sporenbildung nachweisbar ist.

## d) Gewöhnliche Gelatinekultur (bei 34° C.).

*Clostridium butyricum* und *Bacillus oedematis maligni* entwickeln sich nach einem Tag sehr üppig unter Gasbildung. Die Sporenbildung tritt jedoch erst nach zwei Tagen ein.

*Bacillus sporogenes* ist nach einem Tag makroskopisch nicht sichtbar, während mikroskopisch sehr zahlreiche, nicht sporentragende Stäbchen nachweisbar sind. Nach zwei Tagen bildet er viel Gas und Sporen.

*Bacillus anthracis symptomatici* ist nach einem Tag makroskopisch nicht sichtbar, während mikroskopisch zahlreiche Stäbchen und auch Sporen in geringer Menge nachweisbar sind. Nach zwei Tagen bildet er reichlich Gasblasen und Sporen.

*Bacillus botulinus* entwickelt sich schon nach einem Tag ziemlich üppig und bildet vereinzelte Sporen.

## e) 2 proz. Traubenzuckergelatinekultur (bei 34° C.).

*Clostridium butyricum* bildet nach 18 Stunden schon geringe Sporen, während man makroskopische Entwicklung erst nach 24 Stunden bemerkt.

*Bacillus oedematis maligni* entwickelt sich schon nach 14 Stunden makroskopisch ganz deutlich und bildet ganz vereinzelte Sporen.

*Bacillus sporogenes* bildet nach 22 Stunden Sporen, während makroskopische Entwicklung erst nach 24 Stunden bemerkbar ist.

*Bacillus anthracis symptomatici* wächst ebenso schnell wie der *Bacillus oedematis maligni*; in einem Präparat waren 5 bis 8 Sporen und ziemlich viele Bacillen nachweisbar.

*Bacillus botulinus* ist mikroskopisch schon nach 14 Stunden nachweisbar, die Sporenbildung tritt aber erst nach 21 Stunden ein.

Aus diesen Versuchen ergibt sich die auffallende Tatsache, daß die Anaeroben in 2 proz. Traubenzuckergelatine viel schneller Sporen bilden als in 2 proz. Traubenzuckerbouillon. Warum erfolgt nun die Sporenbildung der Anaeroben in der Nährgelatine viel rascher als in Nährbouillon? Um diese Frage zu lösen, machte ich Versuche mit 2 proz. Traubenzuckerbouillon +

1—30 proz. Gelatine (sogen. 1—30 proz. Bouillongelatine), 0,2—2 proz. Agar (0,2—2 proz. Fleischpeptonagar), 10—30 proz. Gummiarabicum (10—30 proz. Gummilösung), 1—3 proz. Gummitragacantha (1—3 proz. Tragacanth-Lösung) oder 10 proz. Konbu (Konbudekokt). Ich stelle in der II. Tabelle die angeführten Resultate zusammen.

*Bacillus oedematis maligni* bildet in 5 proz. und 30 proz. Bouillongelatine, sowie 0,4 proz. Fleischpeptonagar ebenso schnell wie in 10 proz. Bouillongelatine, dagegen in 30 proz. Gummilösung viel langsamer als in 2 proz. Traubenzuckerbouillon Sporen. In 0,2 proz. und 2 proz. Fleischpeptonagar, 10 proz. Gummilösung und 1 proz. Tragacanthlösung tritt die Sporenbildung etwas rascher als in Bouillon ein, während in 10 proz. Konbudekokt der Prozefs ebenso rasch, und zwar nach etwa drei Tagen erfolgt.

*Bacillus anthracis symptomatici* und *Bacillus botulinus* bilden in allen versuchten Nährböden die Sporen schneller als in 2 proz. Traubenzuckerbouillon. In der Wassergelatine entwickelt *Bacillus anthracis symptomatici* sich nicht. In 5 proz. Bouillongelatine und 0,4 proz. Fleischpeptonagar tritt die Sporenbildung von beiden Bacillen ebenso schnell wie in 10 proz. Bouillongelatine oder 2 proz. Traubenzuckergelatine ein.

Die Sporenbildung des *Bacillus sporogenes* erfolgt in Konbudekokt, 0,4 proz. Fleischpeptonagar, 5 proz. und 10 proz. Bouillongelatine nahezu gleichzeitig und zwar nach einem Tag, während in 30 proz. Gummilösung und Wassergelatine die Sporenbildung ziemlich spät nachweisbar ist. Die übrigen Nährböden sind auch für die Sporenbildung des *Bacillus sporogenes* günstiger als 2 proz. Traubenzuckerbouillon.

*Clostridium butyricum* bildet in 1 proz. Bouillongelatine gerade so langsam Sporen wie in Bouillon, während die Sporenbildung in 5 proz. Bouillongelatine und 10 proz. Gummilösung ziemlich schnell, in 10 proz. Bouillongelatine und 0,4 proz. Fleischpeptonagar sehr schnell eintritt. In Wassergelatine, 30 proz. Bouillongelatine und 30 proz. Gummilösung tritt dagegen die Sporenbildung von *Clostridium butyricum* sehr langsam ein.



Aus den oben geschilderten Beobachtungen entnehmen wir die wichtige Thatsache, daß die Anaëroben in dünnen und sehr dicken Nährflüssigkeiten sich sehr langsam entwickeln und langsam Sporen bilden, während in mäsig dicken Nährflüssigkeiten die Sporenbildung sehr schnell erfolgt.

Man muß nun die Frage beantworten, warum die Anaëroben in dünnflüssigen Nährmedien später Sporen bilden als in dickflüssigen, gallertartigen, obwohl die Qualität und Quantität des Nährstoffes anscheinend gleich sind. Es ergibt sich das aus dem bereits von Klebs für die Hefe hervorgehobenen Grunde. In einem dicken Medium häufen sich die Bakterien an einzelnen Stellen massenhaft an, verbrauchen hier rasch die Nahrung und gehen zur Sporenbildung über. In dünnflüssigen Medien, wo die Bakterien sich gleichmäsig ausbreiten können und die Nährstoffe ungehindert diffundieren können, befinden sich die Bakterien viel länger in einer nahrungsreichen Umgebung und bilden daher sehr viel später Sporen. Benutzt man zwei Röhrchen, eines mit 0,2 proz. Fleischpeptonagar, in welchem einzelne, kleine, isolierte, geringe Agarflocken in klarer, dünner, wässriger Flüssigkeit suspendiert sind, und ein anderes mit 0,4 proz. Fleischpeptonagar, welches mit zahlreichen, kleinen oder großen Agarflocken in wässriger Bouillon angefüllt ist, so bilden die Bakterien in 0,4 proz. Fleischpeptonagar etwas schneller Sporen als in 0,2 proz. Fleischpeptonagar.

#### B. Der Einfluß der Quantität der Nährstoffe.

Nach Behring<sup>1)</sup> tritt bei dem Bacillus anthracis in unverdünntem Blutserum die Sporenbildung nicht ein, während in dem Blutserum von Rindern durch weitgehende Verdünnung mit sterilisiertem Wasser (1 T. Blutserum zu 40 T. aq. dest.) sehr reichlich und schnell Sporen gebildet werden; für den Harn ist Ähnliches gefunden worden.

Buchner<sup>2)</sup> sah, daß der Milzbrandbacillus in 1 proz. Fleischextraktlösung nach 18 Stunden bei 36,5° C. noch keine Sporen

1) Behring, Beiträge zur Ätiologie des Milzbrandes, Zeitschrift für Hygiene etc., Bd. VI, S. 125.

2) Buchner, Centralblatt für Bakteriologie etc., Bd. VIII.

bildet, während in 0,2 proz. Lösung Sporenbildung eingetreten war. Er schloß aus diesen Versuchen, daß in verdünnten Lösungen rascher Sporenbildung eintrete.

Schreiber schreibt über den Einfluß verschiedener Konzentration des Liebig'schen Fleischextrakts, des Traubenzuckers und Glycerins auf die Sporenbildung des *Bacillus anthracis*, *subtilis* und *tumescens* und gab folgende Zeitdauer für die Entwicklung der Sporen an:

Nährstoffe	Procent	<i>Bacillus anthracis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus tumescens</i>
Liebig's Fleischextrakt	0,5	78 Stunden	70 Stunden	70 Stunden
	5,0	58 „	60 „	68 „
	8,0	56 „	56 „	63 „
	12,0	80 „	56 „	55 „
	16,0	—	54 „	54 „
	23,0	—	50 „	70—84 „
	25,0	—	50 „	—
	40,0	—	68 „	—
Traubenzucker	45,0	—	96 „	—
	1,0	62 Stunden	62 „	58 Stunden
	5,0	60 „	68 „	65 „
	10,0	70 „	74 „	70 „
Glycerin	15,0	74 „	65 „	68 „
	1,0	56 „	58 „	51 „
	5,0	64 „	60 „	58 „
	10,0	—	62 „	60 „
	12,0	—	62 „	—

Stephanidis beobachtete die Bildung der Milzbrandsporen auf Wasseragar mit 1 bis  $\frac{1}{50}$  % Fleischextrakt. Aus seinen Versuchen schloß er folgendes: Je konzentrierter der Nährboden war, um so rascher trat *ceteris paribus* die Sporenbildung ein. Bei  $\frac{1}{50}$  % und  $\frac{1}{10}$  % waren die Sporen nach 14 Stunden reif (früher wurde nicht untersucht), auf  $\frac{1}{5}$  % wurden nach 15 Stunden mehrfach reife Sporen beobachtet, auf  $\frac{1}{2}$  % nie nach 16 Stunden, nicht vor 20 Stunden. Das Wachstum auf schlechten Nährböden ist kümmerlich.

Wie verhält sich nun die Raschheit und Dichtigkeit (Intensität) der Sporenbildung bei wechselnden Mengen gleicher Nähr-

flüssigkeit, sowie auf Nährböden von verschiedener Konzentration an Nährstoffen?

Es soll die Bildung der Sporen beobachtet werden auf Nährböden mit wechselndem Gehalt an Nährsubstanz; ich benutzte dazu 10 proz. Wassergelatine oder Fleischpeptongelatine (teilweise Bouillon) von verschiedenem Gehalt an Fleischpepton, Traubenzucker und Glycerin.

Die Untersuchungen wurden nach folgenden Richtungen hin ausgeführt:

- a. Der Einfluss der Menge gleicher Nährflüssigkeit.
- b. Der Einfluss des Fleischpeptons.
- c. Der Einfluss des Traubenzuckers.
- d. Der Einfluss des Glycerins.

#### a) Der Einfluss der Menge gleicher Nährflüssigkeit.

*Clostridium butyricum* bildet in einem Röhrchen mit 2 proz. Traubenzuckergelatine von 30 ccm bei 34° C. nach 18 Stunden Sporen, während in 100 ccm Gelatine (2 proz. Traubenzuckergelatine) erst nach vier Tagen geringe, in 250 ccm nach fünf Tagen noch keine, nach zehn Tagen geringe und nach 14 Tagen viele, in 900 ccm nach 23 Tagen sich noch keine Sporen bilden. Bei Zimmertemperatur bildet *Clostridium butyricum* in fester 2 proz. Traubenzuckergelatine von 30 ccm, 800 ccm und 900 ccm ohne großen Unterschied nach 16 Tagen reichliche Sporen.

*Bacillus sporogenes* bildet ebenfalls in 2 proz. Traubenzuckergelatine von 30 ccm bei 34° C. nach einem Tag Sporen, während in 250 ccm Gelatine erst nach 12 Tagen sehr langsam geringe Sporenbildung erfolgt.

Die Sporenbildung des *Bacillus anthracis symptomatici* erfolgt bei 34° C. in 30 ccm Gelatine nach 14 Stunden, in 100 ccm erst nach 3—4 Tagen, in 250 ccm nach 14 Tagen in sehr spärlicher Weise.

Aus dieser Beobachtung können wir folgendes schließen: Je größer die Menge der Nährflüssigkeit, desto langsamer die Sporenbildung.

### b) Der Einfluss des Fleischpeptons.

Hierzu benutzte ich Wassergelatine mit verschiedenen Konzentrationen von Kochs Fleischpepton. Die gesamten Kulturen standen bei einer Temperatur von 34° C.

Aus der Tabelle III ersehen wir, dafs in Wassergelatine die Anaeroben sich langsam entwickeln und langsam Sporen bilden. *Bacillus anthracis symptomatici* wächst in Wassergelatine überhaupt nicht. In Wassergelatine mit geringerer Konzentration bis zu gewissen aufsteigenden Konzentrationen des Fleischpeptons entwickeln sich die Anaeroben allmählich üppiger, während die Sporenbildung allmählich später eintritt, weil in einer Gelatine, welche Fleischpepton in geringer Konzentration enthält, rascher der Mangel des Nährstoffes eintritt, als bei stärkerer Konzentration. In Gelatine mit sehr starkem Fleischpeptongehalt (ca. über 20% Fleischpepton) entwickeln sich die Anaeroben wieder langsam, weil überhaupt das Wachstum der Bakterien durch die höhere Konzentration verlangsamt wird.

### c) Der Einfluss des Traubenzuckers.

Als Nährmedium habe ich hierzu Bouillon und Fleischpeptongelatine benutzt und eine bestimmte Quantität von Traubenzucker diesen beiden Nährböden zugesetzt. Die Kulturen wurden ebenfalls im Brutschrank (34° C.) aufbewahrt.

Aus der Tabelle IV ersehen wir, dafs das Traubenzucker-optimum beim *Bacillus botulinus*, *sporogenes* und *oedematis maligni* bei 10%, dem *Bacillus anthracis symptomatici* und *Clostridium butyricum* bei 8% liegt, hier tritt bei gleichmäßiger Entwicklung die Sporenbildung sehr frühzeitig und intensiv auf. Bei über 55% Traubenzucker findet beim *Bacillus botulinus*, *sporogenes* und *oedematis maligni* kein Wachstum mehr statt, die Sporenbildung hört indessen schon bei 50% (beim *Bacillus botulinus* ca. 40%) auf. Für *Clostridium butyricum* liegt das Maximum des Wachstums bei 60%, das der Sporenbildung bei 55%. Der *Bacillus anthracis symptomatici* zeigt in 65% noch

ein sehr geringes Wachstum, nie habe ich aber über 60% Sporenbildung beobachten können. Die Sporenbildungen erfolgen in optimaler Konzentration bei 34° C. nach ca. 16 Stunden.

#### d) Der Einfluss des Glycerins.

Glycerin hat auf die Sporenbildung der Anaeroben sehr geringen Einfluss.

Der Bacillus oedematis maligni wächst in 5—10 proz. Glyceringelatine ziemlich langsam, und es findet eine makroskopische Entwicklung und Gasbildung erst nach 2—3 Tagen (bei 34° C.) statt. Die Sporenbildung erfolgt in 5 proz. Glyceringelatine nach 30 Stunden, in 10 proz. Glyceringelatine nach 48 Stunden.

Der Bacillus sporogenes entwickelt sich in 5—10 proz. Glyceringelatine nach 1—3 Tagen makroskopisch nicht, während mikroskopisch schon nach 16 Stunden spärliche Stäbchen, sogar in 10 proz. Glyceringelatine nach 24 Stunden einige Sporen und in 5 proz. Glyceringelatine erst nach 48—60 Stunden spärliche Sporen nachweisbar sind.

Der Bacillus anthracis symptomatici bildet in 5 proz. Glyceringelatine nach 16—24 Stunden schon Gas. Die Sporenbildung tritt aber erst nach 48—60 Stunden ein, während in 10 proz. Glyceringelatine sich nach einem Tage schon ein paar Sporen bilden.

Das Wachstum des Bacillus botulinus in 5—10 proz. Glyceringelatine ist schon nach 16 Stunden makroskopisch nachweisbar. Die Sporenbildung erfolgt in 10 proz. Glyceringelatine nach einem Tag, in 5 proz. Glyceringelatine nach 3—5 Tagen.

Clostridium butyricum entwickelt sich in 10 proz. Glyceringelatine viel üppiger als in 5 proz. Glyceringelatine und zwar findet in 10 proz. Glyceringelatine nach einem Tag ziemlich üppige Gas- und Sporenbildung statt. In 5 proz. Glyceringelatine entwickelt er sich sehr langsam und die Sporenbildung erfolgt erst nach 4—5 Tagen.

#### C. Der Einfluss von chemischen, nicht nährenden Substanzen.

Gewisse Substanzen wirken durch ihre chemischen Eigenschaften auf das Leben der Bakterien ein. Im allgemeinen wachsen die Bakterien am besten auf Substraten, die neutral oder

schwach alkalisch reagieren, trotzdem die Bakterien selbst infolge ihrer Lebensthätigkeit Säure oder Alkali bilden.

Nach Behring<sup>1)</sup> wird der Milzbrandbacillus in Bouillon, welche bei schwach saurer Reaktion die Sporenbildung gestattet, durch Zusatz von Säuren bis zu einem Gehalt = 1,25 ccm Normal-säure in 100 ccm und von Alkalien bis zu 3 ccm Normallauge in 100 ccm die Sporenbildung nicht beeinträchtigt, durch einige Mittel sogar gefördert. Bei Salzsäurezusatz bleibt sie aus bei einem Gehalt von 0,054 % = 1 : 1666 = ca. 1,5 ccm Normal-säure in 100 ccm, bei Natronlauge bei einem Gehalt von 0,12 % = 1 : 830 = ca. 3,0 ccm Normallauge in 100 ccm, bei Ammoniak 0,098 % = ca. 1 : 1000.

Schreiber<sup>2)</sup> beobachtete, daß eine geringe alkalische Reaktion das Wachstum der Bakterien befördert und die Sporenbildung eher eintreten läßt. Das Optimum von Natrium carbonicum liegt für den Bacillus anthracis bei 0,5—1,0 %, für den Bacillus subtilis und tumescens aber um etwas höher, bei 2,0 %; das Maximum dagegen bei ersterem Spaltpilz bei 3,0 %, bei den letzten beiden bei 5,0 %. Bacillus anthracis kann 0,3 %, der Bacillus subtilis und tumescens bis zu 1,0 % Weinsäure vertragen. — Die Wirkungen, welche ein Zusatz von Natrium chloratum zur Nährflüssigkeit, bezüglich des Wachstums und der Sporenbildung hervorruft, sind hauptsächlich verzögernde, außerdem kommen noch bei Konzentration über 4 proz. Plasmo-lyse und bei dem Bacillus subtilis und tumescens Aufhören des Schwärmstadiums und der Hautbildung hinzu. Die höchsten Konzentrationen, welche von den Bakterien vertragen werden, sind für den Bacillus anthracis 4 %, für den Bacillus subtilis und tumescens 7 %, doch treten dabei überall verkümmerte Stäbchen und Involutionsformen auf.

Buchner beobachtete, daß ein gewisser Gehalt an Kochsalz in der schwach alkalischen Lösung von 0,2 proz. Fleisch-extrakt und 0,2 proz. Pepton entschieden die Entwicklung der Sporen des Milzbrandbacillus beschleunigt. Bei einem Zusatz von

1) Behring, Zeitschrift für Hygiene, Bd. VI, S. 127.

2) Schreiber, Centralblatt für Bakteriologie etc. Bd. 20, S. 431.

2% Kochsalz war die Vermehrung geringer, nach 24 Stunden aber die Sporenbildung vollendet, während bei keinem Zusatz von Kochsalz starke Vermehrung, jedoch erst nach 30 Stunden die Sporenbildung nachweisbar ist. Bei einem Zusatz von 4% Kochsalz bildet er nach 48 Stunden Sporen. Bei 6% Kochsalz bleibt ihre Bildung aus.

Da verschiedene Eigenschaften der chemischen Stoffe in Betracht kommen, will ich folgende zwei Fragen untersuchen:

- a) Den Einfluss von Säure und Alkali.
- b) Den Einfluss des Kochsalzes.

#### a) Der Einfluss von Säure und Alkali.

Alle meine Untersuchungen wurden bei neutraler Reaktion des Nährbodens ausgeführt. Im Folgenden soll nun geprüft werden, inwieweit die alkalische oder saure Reaktion das Wachstum und die Sporenbildung beeinflussen.

Um die alkalische und saure Reaktion in verschiedener Stärke zu erhalten, habe ich einer neutralen 2proz. Traubenzucker-gelatine Natrium carbonicum oder Acidum hydrochloricum in Konzentration von 0,1—1,5% zugesetzt (s. Zubereitung der Nährböden). Alle Kulturen wurden bei 34° C. aufbewahrt. Der Versuch zeigte, dass eine geringe alkalische oder saure Reaktion das Wachstum befördert und die Sporenbildung eher eintreten lässt.

Vermehrt man nun aber den Zusatz eben derselben Mittel, so tritt die Sporenbildung zuerst langsamer und unregelmäßiger ein, schliesslich bleibt sie vollständig aus und zwar bei einem Zusatz, der die Schnelligkeit und Reichlichkeit des Wachstums noch nicht erheblich beeinträchtigt.

Bei Salzsäurezusatz bleibt die Sporenbildung des *Bacillus oedematis maligni*, *Bacillus anthracis symptomatici*, *Bacillus botulinus* und *Clostridium butyricum* aus bei einem Gehalt von 0,25%, während bei einem Gehalt von 0,1—0,15% makroskopisch deutliche Entwicklung und Gasbildung, von 0,2—0,25% mikroskopische Entwicklung nachweisbar ist. Das Wachstum hört bei über 0,3% auf. *Bacillus sporogenes* bildet bei einem Gehalt von

0,1—0,15 % ziemlich zahlreiche Gasblasen und Sporen. Bei über 0,15 % bildet *Bacillus sporogenes* keine Sporen, während bei einem Zusatz bis zu 0,25 % dieselben sich nur vereinzelt noch entwickeln.

Bei Zusatz von Natrium carbonicum liegt das Optimum und Maximum noch höher als bei Salzsäurezusatz. Die genaueren Resultate sind in Tabelle V zusammengestellt.

Bei Sodazusatz hört das Wachstum von *Clostridium butyricum* bei einem Gehalt von 17 % vollständig auf, bei 15 % erfolgt noch mikroskopisches Auswachsen, aber keine Sporenbildung, während dieselbe bei 10 % noch nicht beeinträchtigt ist. Das Wachstum des *Bacillus sporogenes* hört bei 17 % auf, bei 12—15 % sieht man mikroskopische Entwicklung; die Sporenbildung blieb aber bei 10—15 % gänzlich aus. Das Wachstum des *Bacillus anthracis symptomatici* und *Bacillus oedematis maligni* hört bei 20 % auf, bei über 15 % war keine Spur von Sporenbildung mehr vorhanden. Die Sporenbildung des *Bacillus botulinus* hört bei 17 % auf, während bei 20 % die Entwicklung noch nachweisbar ist.

Endlich wurde noch der Einfluss von Eikonogen, Hydrochinon und Pyrogallussäure auf die Vegetation der Bakterien untersucht.

Wie bereits erwähnt, schreibt Nakagawa, daß bei gewöhnlichen Nährböden die Zugabe von 1—2 % Traubenzucker, 4 bis 5 % Glycerin, 0,1 % Pyrogallussäure, 0,1 % Hydrochinon und 0,1 % Eikonogen sehr begünstigend auf das Wachstum der Anaëroben, besonders des *Tetanusbacillus* eingewirkt haben soll. Ich habe auch mit Pyrogallolbouillon (s. Zubereitung der Nährböden) Untersuchungen angestellt, fand aber keinen Unterschied von gewöhnlicher Bouillonkultur. Alle 5 Anaëroben entwickeln sich in Pyrogallolbouillon bei 34 ° C sehr langsam und nicht üppig; die Sporenbildung erfolgt für *Bacillus oedematis maligni*, *Bacillus anthracis symptomatici*, *Bacillus sporogenes* und *Clostridium butyricum* erst nach 8 Tagen, für *Bacillus botulinus* erst nach 9 Tagen.

Aber nicht bloß bei Säuren und Alkalien läßt sich die Aufhebung der Sporenbildung durch den Zusatz solcher Mengen nachweisen, welche die Entwicklung noch nicht merklich hemmen;



das Gleiche habe ich auch für eine Reihe anderer Substanzen, z. B. Traubenzucker, Kochsalz u. a. konstatieren können.

Den Einfluss des Traubenzuckers und anderer Substanzen auf das Wachstum und die Sporenbildung habe ich schon im vorhergehenden Kapitel erwähnt; ich will daher hier nur über den Einfluss des Kochsalzes einiges bemerken.

#### b) Der Einfluss des Kochsalzes.

Meine Untersuchungen wurden mit Fleischextraktwasser oder Fleischpepton-gelatine unter Zusatz von 0—10 % Kochsalz ange- stellt. Die Kulturen werden immer bei 34 ° C. aufbewahrt.

Aus der Tabelle VI ersehen wir, dass das Optimum der Sporenbildung für *Bacillus sporogenes*, *Bacillus oedematis maligni* und *Clostridium butyricum* bei 0,25 %, für *Bacillus botulinus* bei 0,25—0,5 %, für *Bacillus anthracis symptomatici* bei 0,25 oder 0,75 % liegt. Das Maximum lässt sich nicht genau bestimmen, weil trotz der sorgfältigsten Behandlung die Resultate in den verschiedenen Versuchen stets ungleich ausfielen. Das Maximum liegt ungefähr für *Bacillus oedematis maligni* bei 7 %, für *Bacillus anthracis symptomatici* bei 6,5 %, für *Bacillus sporogenes* bei 5 %, für *Bacillus botulinus* bei 2 %, oder 5 %, bei 5 % ist die Sporenbildung des *Bacillus botulinus* aber unregelmäßig, für *Clostridium butyricum* bei 2 % oder 4 %, wenn auch unregelmäßig. Das Wachstums-Maximum liegt für *Clostridium butyricum* bei 6,5 %, für *Bacillus botulinus*, *Bacillus sporogenes* und *Bacillus anthracis symptomatici* bei 7 %, für *Bacillus oedematis maligni* bei 7,5 %.

Diese 5 Anaëroben bilden in kochsalzhaltigen Nährböden sehr spärliche Involutionsformen, doch sind bei *Clostridium butyricum* ziemlich häufig verschiedene veränderte Formen nachweisbar.

## 2. Der Einfluss des Sauerstoffes.

Nach ihrem Verhalten zum Sauerstoff pflegt man die Bak- terien in 3 Klassen zu bringen: Obligate Aëroben, obligate Anaëroben und fakultative Anaëroben.

Für die Aëroben ist der Sauerstoff ein unentbehrliches Lebens- element und muss als solches unter allen Umständen auch

für die Fortpflanzung Bedeutung haben. Bei obligaten Anaeroben findet nur bei vollkommenem Sauerstoffabschluss das Wachstum statt; doch hat Kitt den *Bacillus oedematis maligni* bei Luftzutritt kultiviert.

Nach Koch<sup>1)</sup> vermehren sich die Milzbrandbacillen im Blut und in den Gewebesäften des lebenden Tieres durch Verlängerung der einzelnen Stäbchen und darauf folgende Querteilung; jedoch findet man im lebenden Körper immer nur ganz kurze Fäden, die nur aus einigen wenigen Gliedern bestehen. Im Blute des toten Tieres oder in geeigneten Nährflüssigkeiten wachsen die Bacillen meist zu langen Fäden aus, unter Bildung zahlreicher Sporen. Diese Sporenbildung soll aber nur bei Luftzutritt und innerhalb gewisser Temperaturgrenzen vor sich gehen.

Nach Buchner<sup>2)</sup> hat der Sauerstoff keine besondere Bedeutung für diesen Prozess bei *Bacillus anthracis*, und das ist insoweit richtig, als der Sauerstoff nicht die Rolle des auslösenden Reizes versieht, wie der Nahrungsmangel. Andererseits ist für die Sporenbildung nach den Angaben von Schreiber mehr Sauerstoff nötig als für das Wachstum. In Reagenzröhrchen von 150 mm Höhe und 15 mm Durchmesser, die mit Watte verschlossen sind, entscheidet die Höhe der angewandten Flüssigkeitssäule darüber, ob Sporen ausgebildet werden oder nicht. Bei einer Höhe der Nährlösung von ca. 3,7 cm, 7,5 cm und 11 cm geht bei einer Temperatur von 30° C. die Auskeimung der Sporen von *Bacillus anthracis* und die Entwicklung der Milzbrandwolke gleichmäßig vor sich. Aber, während sich in den Fäden des Gläschens, welches eine Höhe der Nährflüssigkeit von ca. 3,7 cm hat, nach 54 Stunden Sporen gebildet haben, zeigen die anderen Gefäße nichts davon. Erst nach 3 Tagen sind in den oberflächlichen Fäden aus der 1,5 cm hohen Flüssigkeitssäule einzelne Sporen nachzuweisen, eine vollständige Sporenbildung

1) Koch, Die Aetiologie der Milzbrandkrankheit, begründet auf die Entwicklungsgeschichte des *Bacillus anthracis*. Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Bd. II, S. 227, 1877.

2) Buchner, Centralblatt für Bakteriologie Bd. VIII, S. 5, 1890.

tritt jedoch nicht ein. Bei einer Höhe der Nährflüssigkeit von ca. 11 cm findet die Sporenbildung bei *Bacillus anthracis* niemals statt, sondern es zerfallen die Fäden nach 5 Tagen körnig und sterben ab. Gleiche Resultate erhielt Schreiber bei der Untersuchung des *Bacillus subtilis* und *tumescens*. Wenn man anstatt des Watteverschlusses einen solchen mit Kork und Paraffin verwendet, müssen zum Ablauf der normalen Entwicklung für den *Bacillus subtilis* mindestens 3 ccm Luft über der Flüssigkeitssäule sich befinden, für den *Bacillus tumescens* sind sogar 5 ccm nötig. Von Cohn<sup>1)</sup> u. a. ist es für *Bacillus subtilis* beobachtet worden, daß die anfangs in der Flüssigkeit umher schwärmenden Zellen zur Zeit der Sporenbildung sich an der Oberfläche der Kultur ansammeln. Sie suchen hier den höheren Sauerstoffdruck auf, der für die Sporenbildung besonders günstig ist.

Weil beobachtete Sporenbildung beim *Bacillus anthracis* bei Luftabschluß (unter Wasserstoff), wenn gewisse Substrate, wie festes Schafblutserum mit 25% Traubenzuckerbouillon, 10% Weizenauszug, 5% Quitten- und Eibischschleim, ferner Kartoffelscheiben angewandt wurden, während in Kulturen mit Bouillon, Gelatine, Agar etc. immer nur Wachstum eintrat.

In einer neuen Untersuchung hat auch Klett<sup>2)</sup> den Einfluß des Sauerstoffes besprochen. Er sagt, daß erstens die Sporenbildung des Milzbrandbacillus nicht an das Vorhandensein von Sauerstoff gebunden ist, da die Milzbrandbacillen in einer Stickstoffatmosphäre sowie in Büchnerschen Röhren reichlich Sporen bilden, daß zweitens die Sporenbildung der Milzbrandbacillen bei ihrer Züchtung im Wasserstoff unterbleibt, weil letzterer einen schädigenden Einfluß auf ihre Entwicklung ausübt.

Im Gegensatz zu einer Ansicht von Klett schreibt Jacobitz<sup>3)</sup>, daß der Milzbrandbacillus in reiner Stickstoffatmosphäre bei Beobachtung strenger Anaërobie keine Dauerformen bildet,

1) Cohn, Ref. System der Bakterien von Migula Bd. I, S. 175.

2) Klett, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobie. Zeitschrift für Hygiene Bd. XXXV, S. 420.

3) Jacobitz, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobie. Centralblatt für Bakteriologie Bd. XXX, S. 232.

wenigstens nicht bei Anwendung des Agar-Agars als Nährboden, und daß auf diesem nur bei Anwesenheit von Sauerstoff Sporen entstehen. Der Stickstoff verhält sich also nicht anders als der Wasserstoff, und es liegt kein Grund vor, letzteren im Gegensatz zu dem ersteren als ein differentes, einen schädigenden Einfluß auf die Entwicklung des *Bacillus anthracis* ausübendes Gas hinzustellen.

Migula schreibt in seinem »System der Bakterien« Bd. I., S. 175, daß die Tetanusbacillen in den Wunden immer in Sporenbildung begriffen sind, was auf einen Einfluß der Luft auf den Prozeß hindeutet. Auch die fakultativ anaëroben Bakterien scheinen ihre Sporen nur bei Luftzutritt ausbilden zu können. Pfeffer<sup>1)</sup> vermutet auch, daß die Anaëroben durch Sauerstoffzutritt zur Sporenbildung veranlaßt werden.

Bezüglich der Einwirkung des Sauerstoffdruckes auf das Wachstum einiger Pflanzen haben Wieler<sup>2)</sup> (Phanerogamen), Klebs<sup>3)</sup> (Algen und Pilze) und andere nachgewiesen, mit wie geringen Sauerstoffmengen noch Wachstum möglich ist. Klebs schließt, daß das Minimum des Sauerstoffdruckes für die Fortpflanzung höher als für das vegetative Wachstum liegt.

Bisher fehlen genaue Untersuchungen über den Einfluß des Sauerstoffdruckes auf das Wachstum und die Sporenbildung der Bakterien.

Um diese interessante Frage nach dem Maximum des Sauerstoffdruckes für die Sporenbildung zu lösen, machte ich nun mit obligaten Aëroben, fakultativen Anaëroben und obligaten Anaëroben Versuche unter Wasserstoff und im Vacuum.

#### **A. Das Wachstum und die Sporenbildung der Bakterien unter Wasserstoff.**

##### **a) Obligate Aëroben.**

Wie einige Autoren angeben, kann die Sporenbildung bei manchen Bakterien auf einem passenden Nährboden eintreten,

1) Pfeffer, Pflanzenphysiologie, Bd. 2, II. Auflage, S. 135, Leipzig 1901.

2) Wieler, Untersuchungen aus dem botanischen Institut zu Tübingen Bd. I, S. 194.

3) Klebs, Die Bedingungen der Fortpflanzung bei einigen Algen und Pilzen. Jena 1896.

während eine solche auf den gewöhnlichen gebräuchlichen Nährmedien nicht erfolgt. Der Bacillus der blauen Milch bildet z. B. nach Migula auf zähem Althalschleim und Quittenschleim sehr schöne Sporen, während solche weder auf Nähragar noch in Nährgelatine erhalten werden konnten. Ich habe infolgedessen, um das Wachstum und die Sporenbildung der Bakterien unter Wasserstoff zu untersuchen, sehr verschiedenes pflanzliches und tierisches Nährmaterial in Reagenzgläsern nach der bereits oben beschriebenen Methode, ein anderes Mal auch in Petrischen Schalen, die offen in der Glocke auf dem Teller der Wasserstromluftpumpe standen, benutzt. Die Resultate waren aber immer negativ; es zeigten nämlich der Bacillus anthracis, subtilis, mycoides, implexus, vulgatus, vulgatus ruber und pseudobutyricus in sämtlichen Nährböden makroskopisch absolut keine Entwicklung, mikroskopisch waren nach 1—4 Tagen von der Originalkultur übertragene, sehr geringe Stäbchen in normaler Form oder im Involutionsstadium (besonders auf Kartoffeln bilden sie rasch Involutionsform) aufzufinden; später zerfielen die Stäbchen körnig und starben ab; es hatten sogar von der Originalkultur übertragene Stäbchen in allen Nährböden unter Wasserstoff niemals Sporen gebildet. Bei fortgesetzter Züchtung in Wasserstoff, auch bei einem reichlich sporenhaltigen Ausgangsmaterial, verliert die Kultur, je nach Wahl des Nährbodens, bald früher, bald später ihre Sporen aus nicht näher bekannten Gründen.

Nach meinem Befunde muß Wasserstoff für das Wachstum und die Sporenbildung der Aëroben nicht geeignet sein, weil oben genannte sieben Aëroben unter Wasserstoff weder Wachstum noch Sporenbildung zeigten.

#### b) Fakultative Anaëroben.

Bei meinen Versuchen bildeten der Bacillus brevis (Bacillus lactis Nr. 1 Flügge) und Bacillus X unter Wasserstoff ebenfalls Sporen, während Migula die Sporenbildung von anderen fakultativen Anaëroben nur bei Luftzutritt beobachtet hat. Die fakultativen Anaëroben bilden unter Wasserstoff viel langsamer Sporen

als bei Luftzutritt; ich fand nämlich bei Luftzutritt in 2 proz. Traubenzuckergelatine bei 34° C. nach 1—2 Tagen zahlreiche Sporen, während unter Wasserstoff nach ca. 9—10 Tagen nur geringe Sporenbildung erfolgte. In 2 proz. Traubenzuckerbouillon-Kultur von beiden Bacillen fand ich unter Wasserstoff üppige Entwicklung, aber keine Sporenbildung (nach 16 Tagen). Bei Zusatz von irgendwie das Wachstum hemmenden Substanzen tritt die Sporenbildung sehr schnell ein. In der 0,15 proz. Säuregelatine bilden z. B. beide Bacillen unter Wasserstoff bei 34° C. schon nach 24 Stunden vereinzelt Sporen. Die Resultate meiner Untersuchung sind in Tabelle VII enthalten.

#### c) Obligate Anaëroben.

Aus Tabelle I—VI u. a. ersehen wir, daß fünf obligate Anaëroben nicht nur unter Wasserstoff, sondern auch bei Luftzutritt Sporen bilden. Bei Luftzutritt erfolgt die Sporenbildung sehr rasch, z. B. in 2 proz. Traubenzuckerbouillon unter Wasserstoff beim *Bacillus oedematis maligni* nach 3 Tagen, beim *Bacillus sporogenes* und *Clostridium butyricum* nach 4 Tagen, beim *Bacillus anthracis symptomatici* nach 8 Tagen, beim *Bacillus botulinus* nach 20 Tagen, während bei Luftzutritt erstere 4 Bakterien nach 1 Tage, letztere nach 2—3 Tagen Sporen bilden. Die Raschheit der Sporenbildung von Anaëroben zeigt bei Luftzutritt auf verschiedenen Nährmedien einen sehr geringen oder fast keinen Unterschied; dagegen hängt die Intensität der Sporenbildung von der Stärke ihres Wachstums ab, d. h. in üppig gewachsener Kultur findet reichlichere Sporenbildung statt, als in einer geringer entwickelten, weil eine üppig gewachsene Kultur eine größere Anzahl von Bakterien enthält als eine weniger entwickelte. Es scheint, daß der Nährstoffmangel in der Umgebung daher hier mit der Veranlassung der Sporenbildung fast nichts zu thun hat, sondern der maßgebende Faktor unter diesen Umständen der Sauerstoff ist. Nun muß man die Frage aufwerfen, warum Sauerstoff bei der Sporenbildung der Anaëroben eine große Rolle spielt, d. h. warum die Anaëroben bei Luft-

zutritt schnell Sporen bilden, obgleich der Nährboden viel Nahrung enthält. Es liegt nahe, für das Verständnis folgende Umstände in Betracht zu ziehen:

1. Die Anaeroben vermehren sich bei Luftzutritt nicht, weil sie wahrscheinlich keinen Nährstoff aufnehmen können. Deshalb tritt hier der Nährstoffmangel sofort ein, obgleich die Nährböden an Nahrung reich sind.

2. Neben der Hemmung der Nährstoffaufnahme (oder Nährstoffmangel) reizt möglicherweise der Sauerstoff direkt zur Sporenbildung.

3. Nach den beobachteten Thatsachen wirkt der Sauerstoff auf die Fähigkeit der Sporenbildung nicht schädlich ein, während er für die Vermehrung der Stäbchen (Anaeroben) schädlich ist.

#### B. Das Wachstum und die Sporenbildung der Bakterien im Vacuum.

Wie Tabelle VIII zeigt, hört die Sporenbildung des *Bacillus anthracis* und *mycoides* bei einem Drucke von 32,1 mm, also bei einem Sauerstoffgehalt von ca. 26,2 ccm in 2950 ccm Glockenrauminhalt gänzlich auf, während sie bei einem Drucke von 49 mm (Sauerstoffgehalt von ca. 36,5 ccm in 2620 ccm Glockenrauminhalt) noch wahrgenommen werden konnte. Bei dem *Bacillus subtilis* liegt die Grenze noch höher: bei einem Drucke von 49 mm (Sauerstoffgehalt von ca. 36,5 ccm in 2620 ccm Glockenrauminhalt) bildet er keine Sporen.

Die Grenze für das Wachstum des *Bacillus anthracis*, *mycoides* und *subtilis* liegt äußerst niedrig, und es erscheint sehr wahrscheinlich, daß im luftleeren Raum bei einem Drucke von 0,0 mm noch spärliche Entwicklung vorhanden ist.

Diese drei Aeroben entwickeln sich bei einem Drucke von 60 mm (Sauerstoffgehalt von ca. 43 ccm in 2620 ccm Glockenrauminhalt) nach 2 Tagen bei Zimmertemperatur sehr üppig; wenn man danach in die Glocke 2413 ccm reinen Wasserstoffs einleitet, tritt die Sporenbildung beim *Bacillus anthracis* nicht mehr

ein, während *Bacillus mycoides* und *subtilis* noch zahlreiche Sporen bilden (s. Versuch Nr. 910, 930 und 990).

Fakultative Anaeroben (*Bacillus brevis* und X) lassen bei verschiedenem Sauerstoffgehalt keine besondere Einwirkung erkennen.

Fünf Anaeroben entwickeln sich bei einem Luftdruck von 12,4 mm (Sauerstoffgehalt von ca. 9,02 ccm in 2620 ccm Glockenrauminhalt) nicht, und die Vermehrung ist erst bei einem wahrscheinlichen Sauerstoffgehalt von unter ca. 0,008 ccm in 2620 ccm Glockenrauminhalt nachweisbar. Wie ich oben öfters erwähnt habe, tritt die Sporenbildung der Anaeroben bei normalem Luftdruck schnell ein; dagegen erfolgt die Sporenbildung der Anaeroben bei niederem Luftdruck, sowie in Wasserstoff sehr langsam. Bringt man z. B. eine bei 34° C. gewachsene, 4 Tage alte 2proz. Traubenzuckerbouillonkultur von Anaeroben in das Vacuum bei einem Drucke von 167 mm (Sauerstoffgehalt von ca. 98 ccm in 2620 ccm Glockenrauminhalt) und bei Zimmertemperatur, so tritt die Sporenbildung bei *Bacillus sporogenes* und *oedematis maligni* erst nach 9 Tagen, beim *Clostridium butyricum* nach 12 Tagen, beim *Bacillus botulinus* und *Bacillus anthracis symptomatici* nach 13 Tagen ein, während bei normalem Luftdruck nach ca. 2 Tagen, unter Wasserstoff nach ca. 28 Tagen die Sporenbildung nachweisbar ist (vgl. Tabelle XI).

In der Tabelle VIII zeige ich nur die wichtigsten Resultate. Die mit *Bacillus botulinus*, *sporogenes*, *oedematis maligni* und *anthracis symptomatici* erzielten Resultate stimmen mit dem *Clostridium butyricum* fast überein.

Aus diesen Beobachtungen ersehen wir, dafs im luftleeren Raume die Aëroben keine, die fakultativen und obligaten Anaeroben üppige Sporen bilden, und dafs bei normalem Luftdrucke die Sporenbildung der Bakterien schneller erfolgt als bei geringem Luftdrucke.



## Anhang.

**Kulturversuch von Anaëroben mit Hilfe von Aëroben bei Gegenwart von Sauerstoff.**

Wie bereits erwähnt, sahen Kedrowski, Scholtz u. a. bei Luftzutritt die Entwicklung von einigen Anaëroben in Mischkultur mit Aëroben. Von demselben Prinzip ausgehend, versuchte ich die Kultur der Anaëroben auch in gewöhnlicher Weise bei Luftzutritt. Als Aërobe verwandte ich hierzu den *Bacillus typhosus*, *Bacillus coli communis*, *Bacillus acidi lactici*, *Bacillus proteus vulgaris*, *Bacillus proteus Zopfi*, *Bacillus prodigiosus*, *Bacillus pyocyaneus*, *Bacillus fluorescens liquefaciens*, den theebraunfarbenen *Bacillus*, *Bacillus rubefaciens pyogenes*, *Bacillus pituitosus*, *Bacillus odoratus*, *Bacillus aerophilo similis*, *Bacillus lactis innocuus*, *Bacillus lateritium*, *Bacillus coli non fervoris*, *Bacillus annulatus aureus*, *Bacillus aus Eiter*, *Vibrio cholerae asiatica*, *Vibrio Metschnikowii*, *Mikrococcus tetragenus*.

**A. In 2proz. Traubenzuckerbouillon (bei 34° C.).**

Von drei verschiedenen Probierröhrchen wird in das eine — *a* — das aërobe Bakterium gesät, in das andere — *b* — gleichzeitig das aërobe und anaërobe zusammen. Es wurde noch ein drittes Gläschen — *c* — benutzt und nur mit der anaëroben Art infiziert, sodann in gewöhnlicher Weise dem Luftzutritt ausgesetzt; aber niemals fanden sich im Probierröhrchen *c* irgendwelche Spuren einer Entwicklung.

Es ist eine bekannte Thatsache, dafs das Wachstum der Bakterien in Bouillon sich verschieden äußert, indem dieselbe klar bleibt, oder spurweise, schwach, mäfsig stark oder stark getrübt wird und sich auf ihr Häutchen entwickeln kann.

Wie Kedrowski habe ich auch im Probierröhrchen *b*, welches mit den Aëroben und Anaëroben zusammen infiziert wurde, immer eine Entwicklung und Sporenbildung der Anaëroben und gleichzeitig die Entwicklung der Aëroben gesehen. Die Raschheit und Dichtigkeit (Intensität) der Sporenbildung und Entwicklung der Anaëroben zeigen bei einer Mischbouillonkultur mit verschiedenen Aëroben, welche in Bouillon verschieden wachsen, nicht so grofse

Unterschiede, doch wachsen sie im allgemeinen schneller und stärker in stark getrübt als in klar bleibender Bouillon von Aëroben; ich fand sogar bei klar bleibender Bouillon ziemlich oft Sporenbildung und Entwicklung von Anaëroben nicht in der Flüssigkeit, sondern nur im Bodensatz. Wenn einmal stark oder mäßig getrübt Bouillonkultur sich in den nächsten Tagen, während die Anaëroben sich noch nicht entwickeln, aufklärt, so findet die Entwicklung der Anaëroben nicht in der Flüssigkeit, sondern nur im Bodensatz statt.

In der Regel findet in Mischkulturen von Aëroben und Anaëroben zuerst die Entwicklung der Aëroben statt; bei der mikroskopischen Untersuchung sind die Anaëroben immer in geringerer Anzahl vorhanden als die Aëroben.

Ferner entwickeln sich die Anaëroben bei Anwendung dieser Mischkultur viel mehr in tieferen Schichten, besonders in Niederschlag, als an der Oberfläche.

Die genaueren Resultate stellte ich übersichtlich in der Tabelle IX zusammen.

#### **B. Auf Schräg-Traubenzuckeragar (bei 34° C.).**

Die Versuche wurden genau in der gleichen Weise wie von Kedrowski ausgeführt: Ich legte die Röhrchen im Brutschrank horizontal, so daß das Kondenswasser teilweise über die Agaroberfläche hinwegfloß. Wie Kedrowski beobachtet hat, erfolgt eine üppige Entwicklung der Anaëroben an den nassen Stellen, während an den trockenen nur die Aëroben zur Vermehrung gelangen. In der Regel entwickeln sich die Anaëroben in Mischkultur mit den, einen dicken Belag bildenden und schnell wachsenden Aëroben schneller und üppiger als mit solchen, die nur einen dünnen Belag bilden und langsam wachsen (siehe Tabelle X).

#### **C. In abgetöteter Aërobenkultur und dem Filtrat der Aërobenbouillonkultur.**

In ähnlicher Weise wie Kedrowski u. a. habe ich auch die Agarkultur von verschiedenen Aëroben nach der Verdunstung des Kondensationswassers durch Chloroformdämpfe vollständig

abgetötet, hierauf 2proz. Traubenzuckerbouillon zugegossen und endlich mit fünf anaëroben Arten geimpft; hernach wurden sie bei Luftzutritt in den Brütöfen gestellt. Sämtliche Kulturen waren steril. Eine nochmalige Wiederholung des Versuches verlief gleichfalls resultatlos. Jedoch habe ich in einzelnen Fällen mikroskopisch spärliche, gefärbte Sporen von Anaëroben gefunden, trotzdem keine Stäbchen mehr vorhanden waren. Derartige Sporen stammen wahrscheinlich von der Originalkultur her, oder es haben die Stäbchen der Originalkultur wegen des Luftzutrittes Sporen gebildet.

Weitere Versuche machte ich sodann, indem ich die Bouillon als Nährboden verwandte. 2—6 Tage alte Aërobentraubenzuckerbouillonkultur wurde durch Kochen im Dampftopf sterilisiert. Nach der Impfung mit Anaëroben wurden sie in den Brütöfen gestellt. Die Kulturen ergaben ebenfalls immer ein negatives Resultat.

Einige letzte Versuche mit Filtration von 2—6 Tage alter Aërobentraubenzuckerbouillonkultur ergaben bei Luftzutritt auch immer negative Resultate, während ich unter Wasserstoff ein positives Resultat erzielte (siehe oben).

Nach den Beobachtungen muß ich mich teilweise in Gegensatz zu Kedrowski stellen, weil die Anaëroben sich in abgetöteter Aërobenkultur und dem Filtrat der Aërobenbouillonkultur bei Luftzutritt nicht entwickeln, während sie sich in Mischkultur mit lebenden Aëroben ziemlich gut vermehren. Es wird nicht, wie Kedrowski meint, von den Aëroben ein Ferment gebildet, welches die Anaëroben auch bei Anwesenheit von Sauerstoff gedeihen läßt, sondern nur die Aufzehrung des Sauerstoffes durch die Aëroben macht den Bakteriengemischen der Anaëroben die Existenz möglich.

### 3. Der Einfluß der Temperatur.

Im Jahre 1876 beobachtete Cohn<sup>1)</sup> schon den Einfluß der Temperatur auf die Sporenbildung beim *Bacillus subtilis*:

1) Cohn, Beitrag zur Biologie der Pflanzen, Bd. II, Heft 2 S. 271.

1. Bei einer Temperatur von 47—50° C. vermehren sich die Bacillen noch lebhaft und gelangen in normaler Weise zur Haut- und Sporenbildung.

2. Bei einer Temperatur zwischen 50 und 55° C. hört die Vermehrung und Entwicklung der Bacillen auf, sie bilden bei dieser Temperatur weder Häute noch Sporen, die schwärmenden und die wachsenden Fäden werden getötet, die Sporen dagegen behalten längere Zeit (mindestens 17 Stunden) ihre Keimfähigkeit.

Nach Schreiber beträgt das Temperaturmaximum für die Sporenbildung des *Bacillus anthracis* und *Bacillus temescens* auf 1% Liebig'sche Fleischextraktlösung mit 1% Pepton 42° C., während dasselbe beim *Bacillus subtilis* 47° C. beträgt. Nach demselben liegt das Temperaturminimum der Sporenbildung beim *Bacillus anthracis* bei 14° C., beim *Bacillus tumescens* bei 12° C., beim *Bacillus subtilis* bei 10° C.

Für die Sporenbildung des *Bacillus anthracis* hält Baumgarten<sup>1)</sup> 30° C. für die günstigste Temperatur; bei Temperaturen von 34° C. bleibt nach demselben Autor dieselbe sogar unter den günstigsten Bedingungen aus. Behring<sup>2)</sup> fand dagegen, daß in einer mit Pepton und Kochsalz versetzten, schwach alkalisch gemachten Bouillon noch bei 36° C. nach 16stündigem Stehen im Brutschrank sehr reichliche Sporenbildung stattfindet. Weil fand bei *Bacillus anthracis* Sporenbildung in Bouillon, Agar, Gelatine, Blutserum, Kartoffel, Weizenschleim, 2proz. Kochsalzwasser, destilliertem Wasser etc. Dieselbe erfolgte:

bei 12—13° C. nach 72—108 Stunden oder keine Sporenbildung.

>	18°	>	>	48—50	>
>	24°	>	>	36	>
>	31°	>	>	15—16	>
>	35°	>	>	14—16	>
>	37°	>	>	15—16	>
>	38—39°	>	>	18	>
>	42°	>	>	36	> oder keine Sporenbildung.

1) Baumgarten, Lehrbuch der pathologischen Mykologie 1890.

2) Behring, Beiträge zur Ätiologie des Milzbrandes Zeitschrift für Hygiene Bd. VI, S. 126 und Bd. VII, S. 171.

Schreiber fand beim *Bacillus subtilis* in einer Nährlösung von 1proz. Liebig'schen Fleischextrakt mit 1% Pepton die Sporenbildung:

bei 10° C. nach 14 Tagen,	
› 12° › › 14 ›	
› 14° › › 12 ›	
› 15° › › 8 ›	
› 20° › › 96 Stunden,	
› 25° › › 80 ›	
› 30° › › 55 ›	
› 34° › › 45 ›	
› 37° › › 36—40 ›	
› 40° › › 36 ›	
› 42° › › 34 ›	
› 45° › › 30—34 ›	
› 47° › › 36 ›	
› 50° › keine Sporenbildung.	

Über das Verhältnis der Optima für das Wachstum und die Sporenbildung läßt sich wenig aussagen. Es scheint, daß bei manchen Bakterien die Optima für Wachstum und Sporenbildung fast zusammenfallen (Flügge, Kitasato, Schreiber, Weil).

Alle Erfahrungen berücksichtigend, die ich im Laufe der Arbeit gemacht habe, stellte ich nun in Tabelle XI und XII eine ganze Reihe Versuche über den Eintritt der Sporenbildung bei verschiedener Temperatur zusammen.

Der Einfluss der Temperatur auf das Zustandekommen der Sporenbildung ist nur sehr gering anzuschlagen.

Vor allem hat die Ernährung einen merkbaren Einfluss, wie Tabelle XI zeigt. Für die Sporenbildung von *Clostridium butyricum* z. B. liegt das Minimum auf Bouillon bei 22° C. (bei 18° C. keine Sporenbildung), auf 2proz. Traubenzuckergelatine bei 17° C.

Das Temperaturoptimum liegt beim *Bacillus sporogenes*, *botulinus* und *Clostridium butyricum* bei 38° C., beim *Bacillus oedematis maligni* und *anthracis symptomatici* bei 34—41,5° C., hier tritt bei gleichmäßiger Entwicklung die Sporenbildung sehr

zeitig auf. Unter 12° C. finden beim *Bacillus botulinus* und *anthracis symptomatici* kein Wachstum mehr statt, die Sporenbildung hört noch früher (beim *Bacillus anthracis symptomatici* bei 14° C., beim *Bacillus botulinus* bei 16° C.) auf. Für den *Bacillus sporogenes* und *oedematis maligni* liegt das Minimum des Wachstums bei 14° C., das der Sporenbildung bei 16° C. *Clostridium butyricum* zeigt bei 16° C. noch geringes Wachstum, aber bei weniger als 17° C. keine Sporenbildung mehr. Das Temperaturmaximum der Sporenbildung liegt beim *Bacillus sporogenes* und *oedematis maligni* bei 47° C., beim *Bacillus botulinus*, *anthracis symptomatici* und *Clostridium butyricum* bei 45,5° C. Bei optimaler Temperatur erfolgt nach 14 Stunden in der ganzen Kultur des *Bacillus sporogenes*, *oedematis maligni* und *Clostridium butyricum* die Sporenbildung. Noch schneller als *Bacillus sporogenes* u. a. bilden *Bacillus botulinus* und *anthracis symptomatici* (nach 12½ Stunden) die Sporen.

Bei steigender Temperatur tritt die Sporenbildung allmählich schneller ein, doch bilden die Anaëroben in der Nähe des Temperaturmaximums etwas später die Sporen als bei Temperaturoptimum. Bei niederen Temperaturen verhält sich z. B. *Bacillus sporogenes* sehr ungleichartig; einige Individuen erzeugen Sporen nach 5 Tagen, andere noch nicht nach 13 oder 23 Tagen. Diese Ursache liegt wahrscheinlich darin, daß das Wachstum unregelmäßig ist; die einen entwickeln sich schnell und üppig, die anderen sehr langsam.

Nach Klebs ist es eine allgemeine Regel, daß für die Fortpflanzungsorgane das Temperatur-Minimum höher, das Maximum niedriger liegt als für das Wachstum der gleichen Art. Meine Beobachtungen zeigen in der That, daß bei den untersuchten Anaëroben die Regel für das Temperatur-Minimum stimmt. Dagegen konnte ich keine deutlichen Unterschiede für das Temperatur-Maximum zwischen Sporenbildung und Wachstum feststellen; für das Vorhandensein eines kleinen Unterschiedes spricht nur die Thatsache, daß in der Nähe des Maximums ganz vereinzelte Sporen zwischen zahlreichen Bakterien nachweisbar sind.

#### 4. Der Einfluss des Lichtes.

Das Licht hat einen großen Einfluss auf das Wachstum der Bakterien. Direkte Sonnenstrahlen hemmen die Entwicklung der Bakterien, die Sporen verlieren sogar ihre Keimfähigkeit; setzt man die Sporen des *Bacillus anthracis* und *Bacillus tumescens*, worauf schon Schreiber aufmerksam gemacht hat, 2 Stunden den Sonnenstrahlen aus, so keimen die Sporen nicht mehr aus, während die Sporen des *Bacillus subtilis* drei Stunden lang die direkten Sonnenstrahlen ertragen, ehe sie ihre Keimfähigkeit verlieren; sie sind gegen Sonnenstrahlen bedeutend weniger empfindlich. Nach Schreiber bildet der *Bacillus anthracis* nach 15 Minuten, *Bacillus tumescens* nach 40 Minuten, *Bacillus subtilis* nach über 1 Stunde länger Einwirkung keine Sporen mehr, sondern sie sterben ab.

Ich habe meine Versuche derartig angestellt, daß die Versuchsröhrchen mit sporentragenden Bakterien bei ca. 25° C. direkt den Strahlen der Wintersonne ausgesetzt wurden, hierbei wurde jene Beobachtung bestätigt, nach zehnstündiger Einwirkung fand die Entwicklung und Sporenbildung von *Bacillus anthracis*, *subtilis*, *mycoides*, *vulgarus*, *lactis* Nr. 1 Flügge, *botulinus*, *sporogenes*, *oedematis maligni*, *anthracis symptomatici* und *Clostridium butyricum* nicht mehr statt, obgleich diese Versuchsröhrchen wieder in den Brütöfen gestellt wurden. Es waren demnach alle Bakterien bereits abgestorben.

Im hellen (nicht direkten Sonnenstrahl) und dunklen Zimmer (bei Temperatur zwischen 19 und 22° C.) fand ich sehr geringe Unterschiede in der Schnelligkeit der Sporenbildung, während der Einfluss auf das Wachstum sehr deutlich sichtbar war.

*Bacillus oedematis maligni* entwickelt sich nach 6 Tagen im dunklen Zimmer sehr üppig unter Bildung von Gasblasen, im hellen Zimmer ziemlich schwach. Die Sporenbildung ist aber erst nach 12—13 Tagen nachweisbar. Die Anzahl der Sporen ist im dunklen Zimmer etwas reichlicher als im hellen Raume.

Die Sporenbildung des *Bacillus botulinus* erfolgt im hellen Zimmer nach 25 Tagen, im dunklen Zimmer nach 23 Tagen.

Bei *Bacillus anthracis symptomatici* tritt die Sporenbildung in beiden Räumen nach 24 Tagen ziemlich reichlich ein.

*Bacillus sporogenes* bildet in beiden Räumen nach 5 Tagen Sporen in ganz gleicher Weise.

Dasselbe ist bei *Clostridium butyricum* in 13 Tagen der Fall.

Alle Anaëroben entwickeln sich im dunklen Zimmer viel üppiger als im hellen Zimmer. Die gebildete Gasmenge ist ebenfalls im dunklen Raume viel reichlicher als im hellen Raume.

### V. Zusammenfassung.

Die Resultate der Untersuchungen sind kurz folgende:

1. Die Anaëroben entwickeln sich üppig auf Schrägagar und der Oberfläche der Plattenkultur unter Wasserstoff oder im sauerstofffreien Raum.

2. Bei Gegenwart von Sauerstoff entwickeln sich die Anaëroben in Mischkulturen mit Aëroben, vermehren sich dagegen nicht in abgetöteter Aërobenkultur oder im Filtrat von Aërobenbouillonkultur.

3. Für das Wachstum der obligaten Anaëroben beträgt der maximale Gehalt an Sauerstoff ungefähr 0,0031‰ (d. h. ca. 0,008 ccm Sauerstoffgehalt in 2620 ccm Glockenrauminhalt). Das Minimum von Luftdruck für das Wachstum der obligaten Aëroben erscheint außerordentlich niedrig, sodass ich dasselbe als luftleer annahm; hier ist nur spurliches makroskopisches Wachstum wahrnehmbar.

4. Im Nährboden vermehren sich zuerst die Bakterien, dann verschlechtert sich der Nährboden und schliesslich tritt die Sporenbildung ein. Dauerndes, lebhaftes Wachstum unter den günstigsten Bedingungen ruft niemals Sporenbildung hervor. Nährstoffmangel ist die nächste Veranlassung der Sporenbildung (vergl. folgenden Satz).

5. Aufser dem Nährstoffmangel spielt der Sauerstoff bei der Sporenbildung der Bakterien eine grosse Rolle. Fakultative Anaëroben und obligate Anaëroben bilden bei Sauerstoffzutritt sehr rasch Sporen. Die Sporenbildung der Anaëroben erfolgt bei Luftzutritt und unter sonstigen günstigen Bedingungen schnell,



trotzdem der Nährboden noch sehr viel Nahrung enthält.

6. Aëroben bilden unter Wasserstoff und bei einem Luftdruck von weniger als 30 mm nie Sporen.

7. Die Sporenbildung tritt bei bester Ernährung, d. h. bei der für die Species optimaler chemischer Zusammensetzung mit großer Intensität ein, z. B. in 2% Traubenzuckergelatine bilden die Bakterien sehr schnell und zahlreiche Sporen, während sie in Bouillon sehr langsam und weniger zahlreich gebildet werden.

8. In den für das Wachstum ungünstigeren Nährmedien tritt die Sporenbildung schneller ein als in günstigen Nährböden.

9. Für die Sporenbildung der Anaëroben beträgt der optimale Gehalt an Kochsalz 0,25–0,5%, an Traubenzucker 5–10%. Das Temperaturoptimum für die Sporenbildung der Anaëroben scheint eine Temperatur von 34–38° C. zu sein.

10. Die Anaëroben haben viel geringere Widerstandskraft gegen Säure als gegen Alkali. Z. B. 5 Anaëroben entwickeln sich nicht mehr in 0,15–0,25% salzsäurehaltiger Nährgelatine, während in Sodagelatine erst bei 10–15% Gehalt ihre Entwicklung aufhört.

11. Im dunklen Zimmer erfolgt die Entwicklung und Sporenbildung der Bakterien etwas schneller und üppiger als im hellen Zimmer (bei indirektem Sonnenstrahl). Direktes Sonnenlicht ist für sporenfähige Bacillen sehr schädlich.

12. Gegenüber dem Zusatz irgendwie nachteilig wirkender Substanzen, gegenüber Konzentrationen von Nährsubstanz, gegenüber Temperatur und Luftdruck ist im allgemeinen das Wachstum weniger empfindlich als die Sporenbildung. Übersichtliche stelle ich die Hauptresultate in folgender Tabelle zusammen:

Arten der Bakterien	Einfluß von	Wachstum			Sporenbildung		
		Min.	Optima	Max.	Min.	Optima	Max.
<i>Clostridium butyricum</i>	—	—	5	60	—	8	55
<i>B. botulinus</i>	Traubenzucker (%)	—	2—10	55	—	10	40
<i>B. sporogenes</i>		—	2—5	55	—	10	50
<i>B. oedematis maligni</i>		—	0,5—5	55	—	10	50
<i>B. anthracis symptomatici</i>		—	2—5	65	—	8	60
<i>Clostridium butyricum</i>		—	—	0,5	6,5	—	0,25
<i>B. botulinus</i>	Kochsalz (%)	—	0,5	7	—	0,25—0,5	5
<i>B. sporogenes</i>		—	0,25	7,5	—	0,25—0,5	5
<i>B. oedematis maligni</i>		—	0,5	7,5	—	0,25	7
<i>B. anthracis symptom.</i>		—	0,25	7	—	0,25 od. 0,75	6,5
<i>Clostridium butyricum</i>		—	—	—	15	—	—
<i>B. botulinus</i>	Soda (%)	—	—	20	—	—	17
<i>B. sporogenes</i>		—	—	15	—	—	10—15
<i>B. oedematis maligni</i>		—	—	17	—	—	15
<i>B. anthracis symptom.</i>		—	—	17	—	—	15
<i>Clostridium butyricum</i>		—	—	—	0,25	—	—
<i>B. botulinus</i>	Salzsäure (%)	—	—	0,25	—	—	0,2
<i>B. sporogenes</i>		—	—	0,25	—	—	0,15
<i>B. oedematis maligni</i>		—	—	0,25	—	—	0,2
<i>B. anthracis symptom.</i>		—	—	0,25	—	—	0,2
<i>Clostridium butyricum</i>		Temperatur (C)	ca. 16°	ca. 34—38°	ca. 45,5°	ca. 17°	ca. 38°
<i>B. botulinus</i>	ca. 12°		ca. 34—35°	ca. 45,5°	ca. 16°	ca. 38°	ca. 45,5°
<i>B. sporogenes</i>	ca. 14°		ca. 34—38°	ca. 47°	ca. 16°	ca. 38°	ca. 47°
<i>B. oedematis maligni</i>	ca. 14°		ca. 34—38°	ca. 47°	ca. 16°	ca. 34—41,5°	ca. 47°
<i>B. anthracis symptom.</i>	ca. 12°		ca. 34—38°	ca. 45,5°	ca. 14°	ca. 34—41,5°	ca. 45,5°
<i>Clostridium butyricum</i>	Sauerstoffgehalt in einer Glocke, welche 260ccm Baumnäheinhalt hat (ccm)	0	0	0,008	0	—	—
<i>B. botulinus</i>		0	0	0,008	0	Normal Luftdruck?	—
<i>B. sporogenes</i>		0	0	0,008	0	—	—
<i>B. oedematis maligni</i>		0	0	0,008	0	—	—
<i>B. anthracis symptom.</i>		0	0	0,008	0	—	—
<i>Bac. lactis</i> Nr. I. Flügel	—	0	—	0	—	—	—
<i>Bacillus X</i>	Luftdruck (mm)	0	—	—	0	—	—
<i>Bacillus anthracis</i>		0 ?	Normal Luftdruck	—	49 mm	Normal Luftdruck	—
<i>Bacillus mycoides</i>		0 ?	—	—	49 mm	—	—
<i>Bacillus subtilis</i>		0 ?	—	—	60 mm	—	—

Zum Schlusse möge es mir noch gestattet sein, Herrn Prof. Dr. Klebs für die Stellung des Themas und für die wertvollen Ratschläge bei der Ausführung der Arbeit meinen tiefsten Dank auszusprechen.

Tabelle I.  
a. Clostridium butyricum (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, während die sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum	
			sofort	1	2	3	4		5
45	2% Traubenzuckerbouillon	1 Tag	0	IV	V	V	V	V	} Starke Trübung der Flüssigkeit, üppige Gasbildung Die Flüssigkeit bleibt fast klar mit weißem Bodensatz Schwach getrübt Klar mit Bodensatz Starke Trübung u. Gasbildung Klar mit Bodensatz Mäßige Trübung u. Gasbild. Schwache Trüb. u. Bodensatz Klar mit Bodensatz
57		2 „	0	III	V	V	V	V	
705		3 „	0	II	III	V	V	V	
267		4 „	I	II	—	—	—	—	
707		4 „	I	II	—	—	—	—	
268		5 „	0	X	X	I	II	II	
708		5 „	0	II	—	—	—	—	
703		6 „	IV	V	V	V	V	V	
709		6 „	II	III	—	—	—	—	
46		7 „	0	II	—	—	—	—	
48		7 „	III	—	—	—	—	—	
557		8 „	III	—	—	—	—	—	
544		11 „	I	II	II	—	—	—	
260		40 „	I	II	—	—	—	—	
266		45 „	IV	V	V	V	—	—	
213	Ge- wöhnl. Kar- toffel	2 „	III	IV	—	—	—	} Gasbild. u. Geruch nach Essig Trockene, weißf., häutenartige u. nach Essig riechende Auflagerung	
56	16 „	V	V	V	V	V	V		
53	Glyc. Kar- toffel	22 Std.	0	II	III	—	—	} Gasbildung Feuchte, geruchlose Auflag.	
55	16 Tage	II	IV	—	—	—	—		
1415	2% Tr- zucker- Agar	1 „	IV	V	—	—	—	} Üppiges Wachst. u. Gasbild. Kaum sichtbare Auflagerung Üppiges Wachstum	
1416		2 1/2 „	II	III	—	—	—		
1452		4 „	0	V	V	V	V		
1453		4 „	V	V	V	—	—		
548	Ge- wöhnl. Gela- tine	1 „	0	II	—	—	—	} Üppiges Wachst. u. Gasbild. Schwachwachstum	
43		2 „	IV	—	—	—	—		
214		2 „	III	IV	—	—	—		
1623	2% Trauben- zuckergelatine	14 Std.	0	I	—	—	—	} Nur mikrosk. sichtb. Wachst. Schwache Entwicklung Starke Trübung u. Gasbildung Schwache Trübung Reichliches Wachstum	
1572		18 „	II	—	—	—	—		
1624		22 „	II	—	—	—	—		
219		24 „	III	IV	—	—	—		
1573		24 „	I	III	—	—	—		
49	5 Tage	III	IV	V	V	V	V		

## Erklärung der Zeichen der Tabelle:

O = Keine Sporenbildung.  
X = Unreife Sporenbildung  
I = Sehr geringe Sporenbildung (in einem Präparat 1-4 Sporen).  
II = Geringe Sporenbildung (in einem Präparat 5-20 Sporen).

III = Mittelmäßige Sporenbildung.  
IV = Reichliche Sporenbildung (in einem Gesichtsfeld 5-10 Sporen).  
V = Sehr reichliche Sporenbildung (in einem Gesichtsfeld zahlreiche Sporen).

**b. Bacillus botulinus (bei 34° C.).**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickelten	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum		
			sofort	1	2	3	4		5	
730	2% Traubenzuckerbouillon	1 Tag	0	0	0	I	—	—	Sehr schwache Entwicklung	
731		2 „	0	0	I	—	—	—	Schwache Entwicklung	
741		3 „	0	0	I	III	—	—	} Starke Trübung und Gasbildung	
743		4 „	0	—	—	—	—	—		
568		5 „	0	X	I	I	I	II	} Schwache Entwicklung	
332		5 „	?	IV	IV	—	—	—		
738		7 „	0	0	0	I	I	—	} Starke Entwicklung	
140		8 „	0	0	II	II	III	—		
575		9 „	0	0	—	—	—	—	Schwaches Wachstum	
745		10 „	0	0	I	—	—	—	} Starke Entwicklung	
754		12 „	0	III	—	—	—	—		
759		14 „	X	I	II	—	—	—		
1048		20% Traubenzuckerbouillon	18 „	?	II	—	—	—	—	} Klar mit Bodensatz
1067			20 „	?	III	—	—	—	—	
1743	20 „		I	III	—	—	—	—		
1458	2% Tr.-Zuckeragar	1 „	?	0	IV	—	—	—	} Kleine weißliche Kolonien	
1459		2 „	0	0	IV	—	—	—		
135		3 „	0	III	IV	—	—	—	} Üppiges Wachstum	
1478		5 „	0	—	—	—	—	—		
1479		5 „	I	—	—	—	—	—		
577	Ge-wöhnl. Gela-tine	1 „	III	—	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung	
578		2 „	IV	—	—	—	—	—		
1646	2% Trauben-zuckergelatine	14 Std.	0	—	—	—	—	—	Makroskopisch kein Wachstum	
1652		21 „	0	I	—	—	—	—	} Schwache Entwicklung	
1651		23 „	I	III	—	—	—	—		
1653		48 „	IV	V	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung	
1654		72 „	IV	V	—	—	—	—		

c. *Bacillus sporogenes* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung der II-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum	
			sofort	1	2	3	4		5
760	2% Traubenzuckerbouillon	1 Tag	0	I	III	—	—	—	Schwache Trübung und Gasbildung
761		2 Tage	0	II	III	—	—	—	Mäßige Trübung u. Gasbildg.
770		3 „	0	II	IV	III	III	IV	} Starke Trübung und Gasbildung
248		4 „	I	IV	—	—	—	—	
773		4 „	I	—	—	—	—	—	
249		5 „	0	III	IV	IV	IV	V	
598		5 „	I	I	III	—	—	—	
774		5 „	0	III	—	—	—	—	
766		6 „	III	—	—	—	—	—	} Klar mit Bodensatz
610		7 „	I	—	—	—	—	—	
602	8 „	IV	—	—	—	—	—	Starke Entwicklung	
126	9 „	IV	V	—	—	—	—	Schwache Trübung	
111	17 „	?	IV	—	—	—	—	Starke Entwicklung	
240	40 „	0	0	0	—	—	—	} Klar mit Bodensatz	
127	45 „	0	0	—	—	—	—		
124	Gewöhnl. Kartoffel	2 „	0	I	—	—	—	—	Makroskopisch undeutliches Wachstum
116	16 „	?	I	—	—	—	—	—	Weißlichgraue, dünne, kaum sichtbare Aufl.
122	Glycerin-Kartoffel	2 „	0	I	—	—	—	—	Gasbildung und Involutionsformen
115	16 „	?	?	II	IV	—	—	—	Undeutliches Wachstum
1486	Zuckeragar	1 „	0	X	IV	—	—	—	Kleine, zahlreiche Kolonien und Gasbildung
1487	2% Tr.-Zuckeragar	2 „	X	IV	—	—	—	—	} Üppiges Wachstum und Gasbildung
110		3 „	0	IV	—	—	—	—	
1669		5 „	IV	—	—	—	—	—	
1670		5 „	IV	—	—	—	—	—	
609	Gewöhnl. Gelatine	1 „	IV	—	—	—	—	—	Makroskop. kein Wachstum
119		2 „	IV	—	—	—	—	—	} Starke Entwicklung und Gasbildung
120		3 „	IV	—	—	—	—	—	
1680	2% Tr.-Zucker-Gelatine	14 Std.	0	—	—	—	—	—	} Makroskopisch keine Entwicklung
1681		22 „	I	—	—	—	—	—	
1672		24 „	III	—	—	—	—	—	

d. *Bacillus oedematis maligni* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sich der II entwickelt	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	4	
80	2% Traubenzuckerbouillon	1 Tag	0	II	—	—	—	Schleimige Flocken und Gasbildung
82		2 „	0	?	II	II	II	
806		3 „	IV	IV	V	—	—	Starke Trübung und Gasbildung
291		4 „	I	II	—	—	—	
809		4 „	I	—	—	—	—	Schwache Trübung
292		5 „	0	III	—	—	—	
629		5 „	0	I	—	—	—	Starke Trübung und Gasbildung
801		6 „	II	—	—	—	—	
811		6 „	0	II	II	III	—	Starke Trübung und Gasbildung
640		7 „	II	—	—	—	—	
633		9 „	I	—	—	—	—	Mäßige Trübung
81		11 „	I	I	I	II	—	Schwache Entwicklung
278		40 „	0	X	X	0	I	Klar mit Bodensatz. Involutionsformen
290		45 „	III	III	—	—	—	
154	Gewöhnl. Kartoff.	4 „	?	?	I	II	Unsichtbares Wachstum	
100		16 „	IV	V	—	—		—
153	Glycer. Kartoff.	4 „	?	?	I	II	Unsichtbares Wachstum	
99		16 „	0	I	II	IV		—
1532	2% Tr. Zaeiter-Agar	1 „	0	X	IV	—	Üppige Entwicklung	
1533		2 1/2 „	IV	V	—	—		—
639	Gewöhnl. Gelatine	1 „	0	IV	—	—	Schwaches Wachstum	
88		2 „	III	—	—	—	Sehr üppige Entwicklung und Gasbildung	
85		3 „	V	V	—	—		
149		4 „	V	V	—	—		
1688	2% Traubenzuckergelatine	10 Std.	0	I	—	—	Makrosk. keine Entwickl.	
1699		14 „	I	—	—	—	Schwache Entwicklung	
1690		18 „	II	—	—	—	Starke Entwicklung	
1689		24 „	III	—	—	—	Schwache Entwicklung	
194		24 „	I	III	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung	
195		24 „	0	I	II	—	—	Mäßige Entwicklung

e. *Bacillus anthracis* symptomatidis (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	4	
59	2% Traubenzuckerbouillon	1 Tag	0	0	I	—	—	Makroskopisch klar
61		2 „	0	0	I	II	—	
531		3 „	0	0	II	—	—	Schwache Trübung
534		4 „	0	I	II	—	—	
65		5 „	X	I	II	—	—	Starke Trübung
307		5 „	0	IV	IV	—	—	
827		6 „	0	0	II	II	III	Klar; mikroskopisch zahlreiche Stäbchen
660		7 „	0	I	II	—	—	
680		8 „	III	—	—	—	—	Schwache Trübung mit Bodensatz
661		9 „	I	III	—	—	—	
301	40 „	II	—	—	—	—	Klar mit Bodensatz	
196	22 Std.	?	IV	—	—	—		
75	Gewöhnliche 2% Traubenzucker-Kartoff.	16 Tage	I	IV	V	—	—	Üppige Entwicklung, Gasbildung, widerlicher Geruch
197		4 „	?	?	?	II	—	
74	Gewöhnliche 2% Traubenzucker-Agar	16 „	?	?	?	II	—	Undeutliche Entwicklung
1573		1 „	X	I	IV	—	—	
1574	Gewöhnliche 2% Traubenzucker-Agar	2 1/3 „	?	III	—	—	—	Kleine Kolonien
69		3 „	0	IV	—	—	—	
1597	Gewöhnliche 2% Traubenzucker-Agar	4 „	0	I	—	—	—	Sehr üppiges Wachstum und Gasbildung
68		8 „	I	II	IV	—	—	
668	Gewöhnliche Gelatine	1 „	II	—	—	—	—	Makroskopisch kein Wachstum
76		2 „	IV	V	—	—	—	
79	Gewöhnliche Gelatine	3 „	III	V	—	—	—	Starke Trübung und Gasbildung
63		4 „	0	I	—	—	—	
62	2% Tr.-Zuck.-Gelat.	5 „	IV	V	V	—	—	Üppige Entwickl. u. Gasbild.
1734		14 Std.	I	—	—	—	—	
1741	2% Tr.-Zuck.-Gelat.	23 „	I	III	—	—	—	Schwache Entwicklung

f. Dauer bis zur Sporenbildung der Anaeroben  
(Zusammenstellung aus Tabelle 1a bis e).

Nährsubstrat	<i>Clostr. butyricum</i>	<i>B. botulinus</i>	<i>B. sporogenes</i>	<i>B. oedematis mal.</i>	<i>B. anthracis symp.</i>
2% Tr.-Zuckerbouillon	4 Tage	20 Tage	4 Tage	3 Tage	8 Tage
2% Tr.-Zuckeragar . .	1 „	5 „	5 „	2 1/2 „	8 „
Gewöhnliche Gelatine	2 „	1 „	1 „	2 „	1 „
2% Tr.-Zuckergelatine	18 Std.	23 Std.	22 Std.	14 Std.	14 Std.

Tabelle II.

a. Clostridium butyricum. (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	6	
534	Konbudekokt . . .	24 Std.	0	0	I	—	—	Klar
370	„ „ „	48 „	II	—	—	—	—	Gasbildung
385	1% Tragacanthlös. .	30 „	0	II	—	—	—	Klar
1760	„ „ „	12 „	1	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
373	3% „	24 „	0	I	—	—	—	Starke Entwicklung und Gasbildung
379	„ „ „	72 „	0	II	—	—	—	
360	10% Gummilösung.	36 „	II	III	—	—	—	
361	„ „ „	72 „	IV	—	—	—	—	
362	30% „	84 „	0	I	III	V	V	
363	„ „ „	6 Tage	IV	—	—	—	—	
1761	0,2% Fleischpeptonagar	24 Std.	I	—	—	—	—	Schwaches Wachstum
383	0,2% Fleischpeptonagar	30 „	II	—	—	—	—	Üppiges Wachstum und Gasbildung
375	0,4% Fleischpeptonagar	24 „	III	—	—	—	—	
382	0,4% Fleischpeptonagar	48 „	III	—	—	—	—	
1415	2% Fleischpeptonagar	24 „	IV	V	—	—	—	
1416	2% Fleischpeptonagar	48 „	II	III	—	—	—	Schwaches Wachstum
217	Wassergelatine . .	9 Tage	0	0	0	0	—	
254	„ „ „	14 „	I	—	—	—	—	
255	„ „ „	15 „	I	—	—	—	—	
363	1% Bouillongelatin.	1 1/2 „	0	?	II	—	—	
369	„ „ „	5 „	X	II	—	—	—	
1762	„ „ „	6 „	I	III	—	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
367	5% „	1 „	X	III	—	—	—	
368	„ „ „	2 „	II	III	—	—	—	
219	10% „	1 „	III	IV	—	—	—	
224	30% „	11 „	0	0	—	—	—	
705	2% Traubenzuckerbouillon . . . .	3 „	0	III	V	V	V	Klar mit Bodensatz
267	2% Traubenzuckerbouillon . . . .	4 „	I	II	—	—	—	Schwache Trübung



b. *Bacillus botulinus* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen Fleisch unter II ent- wickelt.	Intensität der Sporenbildung Tageanzahl nach Öffnung der II-Kultur und bei Luft- zutritt.					Wachstum
			so- fort	1	2	3	6	
567	Konbudekott . . .	24 Std.	0	0	0	0	I	Klar
466	„ „ „ „	48 „	II	—	—	—	—	Schwaches Wachstum
1758	1% Tragacanthlös.	24 „	0	I	—	—	—	} Makroskopisch klar
479	„ „ „ „	30 „	0	II	—	—	—	
1747	„ „ „ „	96 „	I	—	—	—	—	Schwache Ent- wicklung
468	3 „ „ „	24 „	0	II	—	—	—	} Mäßige Ent- wicklung
475	„ „ „ „	72 „	III	—	—	—	—	
1746	10 „ Gummilösung	24 „	I	III	—	—	—	Schwache Ent- wicklung
456	„ „ „ „	36 „	IV	V	—	—	—	Starke Entwick- lung
329	30 „ „ „	84 „	IV	V	V	V	V	Undeutliches Wachstum
1744	0,2 „ Fleischpepton- agar . . . . .	24 „	X	III	—	—	—	} Schwache Entwicklung
478	„ „ Fleischpepton- agar . . . . .	30 „	IV	—	—	—	—	
469	0,4 „ Fleischpepton- agar . . . . .	24 „	III	—	—	—	—	} Üppige Ent- wicklung und Gasbildung
477	„ „ Fleischpepton- agar . . . . .	48 „	II	—	—	—	—	
185	2 „ Fleischpepton- agar . . . . .	72 „	0	III	IV	—	—	
1479	„ „ Fleischpepton- agar . . . . .	5 Tage	I	—	—	—	—	} Mäßige Ent- wicklung und Gasbildung
457	1 „ Bouillongelat.	1 1/2 „	0	II	—	—	—	
1745	„ „ „ „	3 „	?	III	—	—	—	
460	„ „ „ „	5 „	II	—	—	—	—	} Schwache Ent- wicklung
458	5 „ „ „	1 „	V	—	—	—	—	
459	„ „ „ „	2 „	V	—	—	—	—	
1651	10 „ „ „	1 „	I	III	—	—	—	Schwache Ent- wicklung
1749	Wassergelatine . .	1 „	0	0	IV	—	—	Klar
136	„ „ „ „	3 „	IV	—	—	—	—	Üppige Ent- wicklung
187	„ „ „ „	4 „	II	IV	—	—	—	Schwache Ent- wicklung
1048	2% Traubenzucker- bouillon . . . . .	18 „	?	II	—	—	—	} Klar mit Boden- satz
1743	„ „ Traubenzucker- bouillon . . . . .	20 „	I	III	—	—	—	

**c. Bacillus sporogenes (bei 34° C.).**

Versuchnummern	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum	
			sofort	1	2	3		6
593	Konbudekokt	24 Std.	III	—	—	—	—	} Reichliche Entwickl.
510	„	48 „	IV	—	—	—	—	
528	1% Tragacanthlösung	30 „	II	—	—	—	—	} Makroskopisch klar
513	3% „	24 „	0	IV	—	—	—	} Ziemlich reichliche Entwicklung und Gasbildung
523	„	72 „	II	—	—	—	—	
1759	10% Gummilösung	24 „	III	—	—	—	—	
500	„	36 „	IV	V	—	—	—	
243	30% „	84 „	0	0	0	IV	—	} Makroskopisch klar
245	„	8 Tage	IV	—	—	—	—	
1758	0,2% Fleischpeptonagar	24 Std.	0	II	—	—	—	
526	„	30 „	I	—	—	—	—	} Schwache Entwickl.
515	0,4% „	24 „	IV	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung
525	„	48 „	III	—	—	—	—	
110	2% „	72 „	0	IV	—	—	—	
1669	„	5 Tage	IV	—	—	—	—	
129	Wassergelat.	9 „	0	X	X	X	III	} Sehr schwache Entw.
238	„	14 „	IV	—	—	—	—	} Schwache Entwickl.
1757	1% Bouillon-gelatine	1 „	I	—	—	—	—	
505	„	2 „	IV	IV	—	—	—	} Üppige Entwickl. und Gasbildung
508	„	5 „	V	—	—	—	—	
506	5% „	1 „	II	V	—	—	—	
507	„	2 „	V	—	—	—	—	
1680	10% „	14 Std.	0	—	—	—	—	} Klar
1681	„	22 „	I	—	—	—	—	
770	2% T.-Zucker-Bouillon	72 „	0	II	III	III	IV	} Starke Trübung und Gasbildung
248	„	96 „	I	IV	—	—	—	

d. *Bacillus oedematis maligni* (bei 34° C).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, nach welchen sich mit der H-Kultur entw. wickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum	
			sofort	1	2	3		6
623	Konbudekokt	24 Std.	0	IV	—	—	—	Üppiges Wachstum.
425	, ,	48 „	?	II	—	—	—	Schwaches Wachstum
624	, ,	72 „	III	—	—	—	—	Üppige Entwicklung u. Gasbildung
1850	1% Tragacanthlös.	24 „	X	III	—	—	—	Schwache Entwicklung
440	, ,	30 „	II	—	—	—	—	Reichliches Wachstum
430	3% „	24 „	0	IV	—	—	—	
441	, ,	48 „	X	IV	—	—	—	
435	, ,	72 „	I	—	—	—	—	
1846	10% Gummilösung	24 „	I	III	—	—	—	Schwache Entwicklung
415	, ,	36 „	III	IV	—	—	—	Ziemlich üppige Entwicklung und Gasbildung
416	, ,	72 „	IV	—	—	—	—	Schwache Entwicklung.
1847	30% „	24 „	0	X	II	—	—	
1848	, ,	48 „	0	I	II	—	—	Mäßige Entwicklung
1849	, ,	72 „	0	I	I	II	—	
285	, ,	96 „	0	?	III	IV	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung.
289	, ,	6 Tage	I	IV	V	—	—	Sehr schwache Entwicklung
190	Wassergelatine	3 „	I	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung.
191	, ,	4 „	IV	—	—	—	—	
442	0,2% Fleischpept-agar	24 Std.	X	—	—	—	—	Üppige Entwickl. mit Gasblasen
438	, ,	30 „	I	—	—	—	—	
431	0,4% „	24 „	III	—	—	—	—	
437	, ,	48 „	III	—	—	—	—	
1532	2% „	24 „	0	X	IV	—	—	Schwache Trübg.
1533	, ,	60 „	IV	V	—	—	—	
421	1% Bouillongelat.	40 „	X	I	II	—	—	Schwache Trübg.
443	, ,	72 „	X	I	II	—	—	
424	, ,	5 Tage	II	—	—	—	—	Üppige Entwickl. und Gasbildung
422	5% „	1 „	II	III	—	—	—	
423	, ,	2 „	II	—	—	—	—	
1689	10% „	1 „	III	—	—	—	—	
150	30% „	1 „	IV	—	—	—	—	30% Gelatine, verflüssigt sich ziemlich stark
98	, ,	8 „	V	V	—	—	—	
82	2% Traubenzuckerbouill.	2 „	0	?	II	II	II	
806	, ,	3 „	IV	IV	V	—	—	

**e. Bacillus anthracis symptomaticus (bei 34° C.).**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickelten	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			Be- fort	1	2	3	6	
653	Konbudekokt.	24 Std.	0	0	III	—	—	Makroskopisch klar Üppige Entwickl.
399	„	48 „	II	—	—	—	—	
1756	1% Tragacanthlös.	24 „	X	I	—	—	—	Makroskopisch klar Üppiges Wach- stum mit Gas- blasen
409	„	30 „	I	—	—	—	—	
400	3% „	24 „	0	I	—	—	—	
1755	„	48 „	X	II	—	—	—	
405	„	72 „	I	—	—	—	—	
387	10% Gummilös.	36 „	0	IV	—	—	—	
388	„	72 „	III	V	—	—	—	
305	30% „	84 „	X	X	II	IV	V	
1753	0,2% Fleisch- peptonagar	24 „	I	III	—	—	—	
407	„	30 „	III	—	—	—	—	
401	0,4% „	24 „	III	—	—	—	—	
406	„	48 „	II	—	—	—	—	
1597	2% „	96 „	0	I	—	—	—	
68	„	8 Tage	I	II	IV	—	—	Makroskopisch klar Mikroskopisch kein Wachstum Schwache Entw.
201	Wassergelatine	3 „	0	II	II	—	—	
202	„	9 „	0	0	0	0	0	
390	1% Bouillongelat.	40 Std.	X	II	—	—	—	
1751	„	72 „	?	III	—	—	—	Üppige Entw. u. Gasbildung Schwache Entw. Üppige Entw. u. Gasbildung
1752	„	5 Tage	II	III	—	—	—	
392	5% „	1 „	I	III	—	—	—	
393	„	2 „	II	IV	—	—	—	
1741	10% „	1 „	I	III	—	—	—	
1750	30% „	6 „	III	—	—	—	—	Üppige Entw. u. Gasbildung
70	„	8 „	V	V	—	—	—	
78	„	9 „	V	—	—	—	—	
660	2% Traubenzucker- bonillon	7 „	0	I	II	—	—	Schwache Trüb.
680	„	8 „	III	—	—	—	—	

Tabelle III.  
a. Clostridium butyricum (bei 34° C).

Versuchsnummer	Fleischpepton- gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H ent- wickeln	Intensität d. Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum
			so- fort	1	2	3	
217	0	9 Tage	0	0	0	0	Klar, Involutionsformen
254	,	14 ,	I	—	—	—	} Mäßiges Wachstum
255	,	15 ,	I	—	—	—	
1627	0,3	13 Stunden	I	—	—	—	} Klar
1628	,	21 ,	I	—	—	—	
535	1,0	19 ,	0	0	V	—	
1029	,	36 ,	?	IV	—	—	} Ziemlich üppige Ent- wicklung und Gas- bildung
540	,	48 ,	0	I	—	—	
549	,	72 ,	II	—	—	—	} Sehr schwache Ent- wicklung
1768	5,0	96 ,	II	—	—	—	
1629	10,0	15 ,	0	—	—	—	} Kein Wachstum?
1630	,	20 ,	0	—	—	—	
1776	20,0	73 ,	X	—	—	—	
1778	50,0	10 Tage	?	?	I	—	

b. Bacillus botulinus (bei 34° C).

Versuchsnummer	Fleischpepton- gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H ent- wickeln	Intensität d. Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt.				Wachstum
			so- fort	1	2	3	
1749	0	24 Stunden	0	0	IV	—	} Makroskopisch klar Üppige Entwicklung
136	,	72 ,	IV	—	—	—	
137	,	96 ,	II	IV	—	—	} Schwache Entwicklung
1647	0,3	13 ,	?	II	—	—	
1648	,	21 ,	X	IV	—	—	} Makroskopisch klar
1059	1,0	36 ,	0	0	0	—	
569	,	48 ,	0	IV	—	—	} Schwaches Wachstum
579	,	72 ,	II	—	—	—	
1773	5,0	72 ,	II	—	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung
1649	10,0	15 ,	X	II	—	—	
1650	,	20 ,	0	II	—	—	} Undeutliche Entwicklung
1774	20,0	72 ,	0	I	—	—	
1775	50,0	10 Tage	0	—	—	—	

Versuchsnummer	Fleisch-Peptongehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum
			sofort	1	2	3	
<b>c. Bacillus sporogenes (bei 34° C.).</b>							
1764	0	5 Tage	0	0	I	—	} Schwache Entwicklung
129	0	9 „	0	X	X	X	
238	0	14 „	IV	—	—	—	
1682	0,3	13 Stund.	I	—	—	—	Mikroskopische Entwicklung
1683	0,3	21 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
594	1,0	19 „	0	0	III	—	} Makroskopisch klar
1086	1,0	36 „	?	I	IV	—	
599	1,0	48 „	0	I	—	—	
611	1,0	72 „	IV	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
1684	10,0	15 „	0	—	—	—	
1780	50,0	10 Tage	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
<b>d. Bacillus oedematis maligni (bei 34° C.).</b>							
1777	0	24 Stund.	0	0	II	—	Makroskopisch klar
190	0	72 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
191	0	96 „	IV	—	—	—	Mäßige Entwicklung
1703	0,3	13 „	I	—	—	—	} Schwache Entwicklung
1704	0,3	21 „	I	—	—	—	
1113	1,0	36 „	0	IV	IV	—	
630	1,0	48 „	0	IV	—	—	} Mäßige Entwicklung
641	1,0	72 „	III	—	—	—	
1766	5,0	72 „	III	—	—	—	
1705	10,0	15 „	I	—	—	—	} Makroskopisch klar
1706	10,0	20 „	I	—	—	—	
1765	20,0	72 „	X	III	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1769	50,0	10 Tage	?	—	—	—	Undeutliche Entwicklung
<b>e. Bacillus anthracis symptomatici (bei 34° C.).</b>							
201	0	3 Tage	0	II	II	—	} Kein Wachstum?
202	0	9 „	0	0	0	0	
1737	0,3	13 Stund.	I	IV	—	—	} Schwache Entwicklung
1738	0,3	21 „	II	IV	—	—	
1138	1,0	36 „	0	0	0	—	} Makroskopisch klar
655	1,0	48 „	0	0	—	—	
670	1,0	72 „	III	—	—	—	
1770	5,0	72 „	III	—	—	—	} Schwache Entwicklung und Gasbildung
1740	10,0	15 „	I	—	—	—	
1739	10,0	20 „	I	—	—	—	
1772	20,0	72 „	I	—	—	—	
1771	50,0	10 Tage	?	?	—	—	

Tabelle IV.

a. *Clostridium butyricum* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Traubenzucker- gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sic- sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbildung Tageanzahl, nach Öffnung der II-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum		
				so- fort	1	2	3	4		5	
1788	Bouillon	0	1 Tag	0	—	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
1789		2	2	0	—	—	—	—	—	Sehr schwache Entw.	
720		4	3	III	IV	—	—	—	—	} Mäßige Entwicklung	
50		10	4	?	?	II	II	II	II		
705		2	3	3	0	II	III	V	V	V	Klar mit Bodensatz
267		4	4	4	I	II	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
703		6	6	6	IV	V	V	V	V	V	Klar mit Bodensatz und Gasblasen
1021		5	6	6	X	I	—	—	—	—	} Klar
225		11	11	11	I	—	—	—	—	—	
1018		10	3	3	0	0	0	0	0	I	Gasbildung und Invo- lutionsformen
1790	11	11	11	I	—	—	—	—	—	Klar. Involutionsform.	
535	Fleischpeptongelatine	0	19 Std.	0	0	V	—	—	—	Nur mikroskop. Wachst.	
540		48	48	0	I	—	—	—	—	Gasbild. (üppig. Wachst.)	
549		72	72	II	III	—	—	—	—	} Schwache Entwickl.	
550		0,5	24	24	I	—	—	—	—		
551		48	48	48	II	—	—	—	—	} Makroskopisch klar	
558		2	16	16	X	III	—	—	—		
700		2	24	24	II	II	—	—	—		
701		5	5	5	II	IV	—	—	—		Üppige Entwicklung u. Gasbildung
1042		8	8	8	III	III	—	—	—	} Makroskopisch klar	
702		10	10	10	II	II	IV	—	—		—
706	15	30	30	0	0	I	II	—	—	} Üppige Entwicklung u. Gasbildung	
1791	7 Tage	7	7	II	—	—	—	—	—		
711	20	5	5	0	0	IV	—	—	—	} Schwache Entw. und sehr geringe Gasbild.	
1792	7	7	7	II	—	—	—	—	—		
1417	30	10	10	IV	—	—	—	—	—	} Makroskopisch klar	
1430	40	7	7	I	II	—	—	—	—		
1431	50	7	7	I	I	—	—	—	—		
1793	55	20	20	I	—	—	—	—	—		
1794	60	60	60	0	—	—	—	—	—		
1795	65	65	65	0	—	—	—	—	—		Kein Wachstum

**b. Bacillus botulinus (bei 34 C).**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Traubenzucker- gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporen- bildung Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kul- tur und bei Luftzutritt					Wachstum
				so- fort	1	2	3	4	
1807	Bouillon	0	1 Tag	0	—	—	—	—	} Schwache Entwicklung
1053		0	3 „	V	—	—	—	—	
141		0	8 „	III	IV	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
759		2	14 „	X	I	II	—	—	
1048		2	18 „	?	II	—	—	—	} Üppige Entwicklung
1743		2	20 „	I	III	—	—	—	
1047		5	6 „	0	II	—	—	—	} Klar mit Bodensatz
147		5	9 „	0	I	—	—	—	
1045		10	3 „	0	0	—	—	—	} Nur mikroskopische Ent- wicklung
1809		10	9 „	0	I	—	—	—	
1816	Fleischpeptongelatine	0	24 Stunden	0	II	—	—	—	} Sehr schwache Entwickl.
569		0	48 „	0	IV	—	—	—	
579		0	72 „	III	—	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
580		0,5	24 „	I	III	—	—	—	
581		0,5	48 „	III	—	—	—	—	} Schwaches Wachstum
588		2	16 „	I	V	—	—	—	
732		2	24 „	II	V	—	—	—	} Üppiges Wachstum
733		5	24 „	I	V	—	—	—	
1065		8	24 „	II	III	—	—	—	} Schwaches Wachstum
784		10	24 „	III	—	—	—	—	
744	20	48 „	0	0	II	II	—	} Üppiges Wachstum	
1817	20	7 Tage	II	III	—	—	—		
1462	30	10 „	0	II	—	—	—	} Schwaches Wachstum	
1821	30	20 „	I	II	—	—	—		
1470	40	7 „	0	0	I	—	—	} Mäßiges Wachstum	
1818	40	20 „	I	II	—	—	—		
1473	50	7 „	?	0	—	—	—	} Nur mikroskopische Ent- wicklung	
1819	55	20 „	0	0	0	—	—		
1820	60	20 „	0	0	0	—	—	Kein Wachstum	



c. *Bacillus sporogenes* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Traubenzucker-gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbildung Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum	
				sofort	1	2	3	4		5
1082	Bouillon	0	3 Tage	0	III	—	—	—	—	} Ziemlich üppige Entwicklung
785		0	4 „	IV	IV	V	—	—	—	
125		0	8 „	II	III	—	—	—	—	
770		2	3 „	0	II	III	III	III	IV	
248		2	4 „	I	IV	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung
101		5	2 „	0	II	III	IV	—	—	
1079		5	6 „	X	IV	—	—	—	—	
130		5	9 „	I	IV	—	—	—	—	
1073		10	3 „	0	III	IV	—	—	—	
1781		10	9 „	?	IV	IV	—	—	—	
594	Fleischpeptongelatine	0	19 Std.	0	0	III	—	—	—	} Mikroskopische Entwicklung
1086		0	36 „	0	I	IV	—	—	—	
599		0	48 „	0	II	—	—	—	—	} Mäfsige Entwicklung
611		0	72 „	IV	—	—	—	—	—	
612		0,5	24 „	II	—	—	—	—	—	} Schwache Entwicklung
613		0,5	48 „	II	IV	—	—	—	—	
619		2,0	16 „	I	—	—	—	—	—	
762		2,0	24 „	III	—	—	—	—	—	
763		5,0	24 „	II	IV	—	—	—	—	} Sehr schwache Entwicklung
1100		8,0	24 „	III	III	—	—	—	—	
764	10,0	24 „	V	—	—	—	—	—	} Mäfsige Entwicklung	
771	15,0	30 „	0	0	I	I	I	II		
1782	15,0	5 Tage	I	III	—	—	—	—	} Schwache Entwicklung und manchmal Gasbildung	
777	20,0	5 „	0	0	0	0	II	—		
1783	20,0	7 „	III	—	—	—	—	—		
1784	30,0	7 „	I	—	—	—	—	—		
1490	30,0	10 „	IV	—	—	—	—	—		
1512	40,0	7 „	II	II	—	—	—	—		
1513	50,0	7 „	0	0	I	—	—	—		
1785	50,0	20 „	I	I	II	—	—	—		
1786	55,0	20 „	0	0	0	0	—	—		} Mikroskop. Entwicklung Kein Wachstum
1787	60,0	20 „	0	0	0	0	—	—		

**d. Bacillus oedematis maligni (bei 34° C.).**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Traubenzucker- gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität d. Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung d. H-Kultur u. bei Luftzutritt						Wachstum	
				so- fort	1	2	3	4	5		
1110	Bouillon	0	3 Tage	0	IV	—	—	—	—	Mäßige Entw. und Gasbild.	
816		>	4	I	II	—	—	—	—		
80		2	1	0	II	—	—	—	—		
82		>	2	0	?	II	II	—	—		
806		>	3	>	IV	IV	V	—	—	Üppige Entw. und Gasbild.	
291		>	4	>	I	II	—	—	—		
1805		>	5	2	0	0	I	III	III		III
7		>	4	>	0	I	I	II	—		—
86		>	6	>	0	I	II	III	—		—
1107		>	6	>	0	?	IV	V	—		—
192		>	8	>	I	IV	—	—	—	—	
90		>	10	>	I	II	IV	IV	—	—	
1105		>	10	3	X	?	?	?	I	I	
1806		>	10	>	?	?	I	II	—	—	
1113	Fleischpeptongelatine	0	36 Std.	0	IV	IV	—	—	—	Makroskopisch klar	
630		>	48	>	0	IV	—	—	—	—	
641		>	72	>	III	—	—	—	—	—	
642		0,5	24	>	II	V	—	—	—	—	
643		>	48	>	IV	—	—	—	—	—	
798		2	24	>	I	III	—	—	—	—	
799		5	24	>	I	IV	—	—	—	—	
1120		8	24	>	II	III	—	—	—	—	
900		10	24	>	III	IV	—	—	—	—	
807		15	30	>	0	0	I	II	—	—	
1810		>	72	>	I	III	—	—	—	—	
810		20	48	>	0	II	II	—	—	—	
1814		>	72	>	X	II	—	—	—	—	
1815		30	7 Tage	>	II	II	—	—	—	—	
1536	>	10	>	IV	—	—	—	—	—		
1548	40	7	>	II	II	—	—	—	—		
1549	50	7	>	X	X	II	—	—	—		
1811	>	20	>	I	I	—	—	—	—		
1812	55	20	>	0	0	—	—	—	—		
1813	60	20	>	0	0	—	—	—	—		

e. *Bacillus anthracis* symptomatice (bei 34° C).

Versuchs- Nummer	Nährsubstrat	Traubenzucker- gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H. entwickeln	Intensität der Sporen- bildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum		
				so- fort	1	2	3	4		5	
1796	Bouillon	0	1 Tag	0	I	III	—	—	—	Fast klar	
1133		,	3 ,	II	—	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung	
844		,	4 ,	I	V	V	—	—	—		
203		,	8 ,	IV	V	—	—	—	—		Mäßige Entwicklung
827		,	6 ,	0	0	II	II	III	—	Klar mit Bodensatz	
660		,	7 ,	0	I	II	—	—	—	} Schwache Entwicklung	
680		,	8 ,	III	—	—	—	—	—		
1128		,	5 6 ,	0	II	—	—	—	—		
204		,	8 ,	III	III	—	—	—	—		
1131		,	8 ,	III	III	—	—	—	—	} Fast klar	
1125		,	10 3 ,	0	0	0	0	0	II		
1797		,	8 ,	0	I	—	—	—	—		
1803		Fleischpeptongelatine	0	24 Std.	0	II	—	—	—	—	} Makroskopisch klar
655			,	48 ,	0	0	—	—	—	—	
670	,		72 ,	III	—	—	—	—	—	Schwache Trübung	
671	,		05 24 ,	I	—	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
672	,		48 ,	II	—	—	—	—	—	Schwache Entwicklung	
681	,		2 16 ,	III	III	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
822	,		24 ,	III	—	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbild	
825	,		5 24 ,	I	II	—	—	—	—		
1147	,		48 ,	IV	V	—	—	—	—		
1152	,		8 24 ,	IV	V	—	—	—	—	Schwache Entwicklung	
826	,		10 24 ,	III	—	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
833	,		15 30 ,	0	0	0	0	0	I	} Üppige Gasbildung	
1798	,		15 48 ,	0	I	—	—	—	—		
838	,		20 5 Tage	0	I	II	—	—	—	Makroskopisch klar	
1799	,		20 7 ,	III	—	—	—	—	—	Schwache Entwicklung	
1577	,		30 10 ,	II	—	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
1590	,		40 7 ,	III	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung	
1591	,		50 7 ,	II	II	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
1804	,	55 20 ,	I	—	—	—	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung		
1802	,	60 20 ,	I	—	—	—	—	—			
1801	,	65 20 ,	0	—	—	—	—	—	} Kein Wachstum		
1800	,	70 20 ,	0	—	—	—	—	—			

Tabelle V.

Versuchsnummer	Soda-gehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der II-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	5	
<b>a. Clostridium butyricum (bei 34° C.).</b>								
219	0	1 Tag	III	IV	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung
227	0,5	1 „	II	—	—	—	—	
258	0,5	5 Tage	III	—	—	—	—	
226	1,0	4 „	0	0	I	—	—	
228	1,0	7 „	II	IV	—	—	—	
269	2,0	5 „	II	—	—	—	—	Mäßiges Wachstum
1019	2,0	10 „	IV	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung
1796	3,0	5 „	II	—	—	—	—	
1023	3,0	7 „	IV	—	—	—	—	
1043	4,0	5 „	III	—	—	—	—	
1428	5,0	3 „	II	—	—	—	—	
1449	8,0	8 „	I	II	—	—	—	} Sehr schwache Entwicklung
1450	10,0	8 „	0	II	—	—	—	
1799	10,0	12 „	1	II	—	—	—	
1798	12,0	8 „	?	?	—	—	—	
1433	15,0	15 „	0	0	I?	—	—	
1797	17,0	17 „	0	0	0	0	0	Fragliche Entwicklung
<b>b. Bacillus botulinus (bei 34° C.).</b>								
1651	0	1 Tag	I	III	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
333	0,2	5 Tage	II	III	—	—	—	
1837	0,5	5 „	III	—	—	—	—	
330	0,5	9 „	III	III	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung
331	0,5	11 „	IV	—	—	—	—	
1841	1,0	7 „	?	?	—	—	—	
328	1,0	13 „	0	0	0	0	0	
1842	2,0	5 „	III	—	—	—	—	
1646	2,0	10 „	IV	—	—	—	—	} Mäßige Entwicklung Makroskopisch klar
1050	3,0	7 „	IV	—	—	—	—	
1066	4,0	5 „	IV	—	—	—	—	} Sehr schwache Entwicklung
1467	5,0	6 „	X	II	—	—	—	
1838	5,0	8 „	II	III	—	—	—	
1476	8,0	8 „	I	I	—	—	—	
1477	10,0	8 „	II	II	—	—	—	
1843	12,0	8 „	I	II	—	—	—	} Mikroskopische Entwicklung
1474	15,0	8 „	II	II	III	—	—	
1844	17,0	20 „	I	I	II	—	—	
1845	20,0	20 „	0	0	0	0	0	

c. *Bacillus sporogenes* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Sodagehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	5	
1672	0	1 Tag	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
251	0,2	5 „	II	III	—	—	V	
247	0,5	11 „	III	IV	—	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
1803	1,0	5 „	III	—	—	—	—	
239	1,0	10 „	IV	—	—	—	—	Sehr schwache Entwickl.
241	1,0	13 „	0	0	0	III	—	
1806	2,0	5 „	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
1074	2,0	10 „	IV	—	—	—	—	Ziemlich üppige Entwicklung und Gasbildung
1807	3,0	5 „	III	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung u. Gasbildung
1080	3,0	7 „	III	—	—	—	—	
1101	4,0	5 „	V	—	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1491	5,0	4 „	IV	—	—	—	—	
1519	8,0	8 „	I	II	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1520	10,0	8 „	III	IV	—	—	—	
1804	12,0	8 „	0	0	0	?	?	Mikroskop. schwache Entwickl. u. Involutionsform
1515	15,0	8 „	0	X	I	—	—	
1805	17,0	20 „	0	0	0	0	0	Kein Wachstum?

d. *Bacillus oedematis maligni* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Sodagehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	5	
1689	0	1 Tag	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
295	0,2	5 „	II	IV	IV	V	—	Mäßige Entwicklung u. Gasbildung
280	0,5	6 „	V	—	—	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
1822	1,0	5 „	II	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
288	1,0	13 „	X	II	III	—	—	Sehr schwache Entwickl.
1824	2,0	3 „	0	III	—	—	—	Fast klar
1106	2,0	10 „	IV	—	—	—	—	Sehr schwache Entwickl. u. manchmal Gasbildung
1825	3,0	5 „	II	—	—	—	—	

Versuchsnummer	Soilagehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbild., Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			no-fort	1	2	3	5	

Fortsetzung von d. *Bacillus oedematis maligni* (bei 34°C.).

1108	3,0	7 Tage	V	—	—	—	—	} Sehr schwache Entwicklung und manchmal Gasbildung
1121	4,0	5 „	I	III	—	—	—	
1537	5,0	3 „	II	—	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
1560	8,0	8 „	0	I	—	—	—	
1827	8,0	10 „	I	I	II	—	—	} Schwache Entwicklung
1561	10,0	8 „	X	II	—	—	—	
1833	10,0	15 „	I	II	—	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung
1834	12,0	8 „	?	I	I	—	—	
1520	15,0	8 „	I	II	II	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung
1835	17,0	20 „	0	0	0	0	0	
1836	20,0	20 „	0	0	0	0	0	Kein Wachstum

e. *Bacillus anthracis symptomatidis* (bei 34° C.).

206	0	1 Tag	0	II	III	—	—	} Starke Entwicklung
308	0,2	5 „	I	IV	—	—	—	
306	0,5	11 „	I	II	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
1812	1,0	5 „	?	II	—	—	—	
304	1,0	13 „	0	0	I	II	—	} Sehr schwache Entwicklung
1813	2,0	5 „	II	—	—	—	—	
1126	2,0	10 „	IV	—	—	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
1814	3,0	5 „	II	—	—	—	—	Geringe Entwicklung
1130	3,0	7 „	II	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
1153	4,0	5 „	II	—	—	—	—	} Geringe Gasbildung
1816	4,0	6 „	III	—	—	—	—	
1585	5,0	6 „	V	—	—	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
1594	8,0	8 „	X	II	—	—	—	} Sehr schwache Entwicklung
1817	8,0	10 „	III	—	—	—	—	
1595	10,0	8 „	II	II	—	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung
1815	12,0	10 „	X	IV	—	—	—	
1592	15,0	8 „	0	II	II	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung
1818	17,0	20 „	0	0	0	—	—	

Tabelle VI.

a. *Clostridium butyricum* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Kochsalzgehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
				so- fort	1	2	3	5	
719	Fleischextraktwasser	0	4 Tage	0	II	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1026		0	5 „	IV	—	—	—		
1024		0,5	3 „	I	III	—	—	—	Schwache Entwicklung
720		0,5	4 „	III	IV	IV	—	—	
50		0,5	10 „	?	?	?	I	II	Mäßige Entwicklung
1025		1,0	3 „	II	—	—	—	—	Makroskopisch klar
721	1,0	4 „	I	I	II	—	—		
535	Fleischpeptongelatine	0	19 Stunden	0	0	V	—	—	Nur mikroskopische Entwicklung
1029		0	36 „	0	IV	—	—	—	
540		0	48 „	0	I	—	—	—	Schwache Entwicklung und Gasbildung
549		0	72 „	II	III	—	—	—	
1039		0,25	24 „	III	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
548		0,5	24 „	0	II	—	—	—	Schwache bis üppige Entwicklung und Gasbildung
43		0,5	48 „	IV	—	—	—	—	
214		0,5	48 „	III	III	—	—	—	
1040		0,75	24 „	0	II	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1920		0,75	48 „	IV	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
536		1,0	19 „	0	III	—	—	—	Makroskopisch undeutliche Entwicklung
541		1,0	48 „	0	III	—	—	—	
555		1,0	72 „	IV	—	—	—	—	
537		2,0	19 „	0	0	0	0	0	
542		2,0	48 „	0	II	—	—	—	
556	2,0	72 „	III	—	—	—	—		
1800	3,0	5 Tage	?	II	—	—	—	Nur mikroskopische Entwicklung	
1030	3,0	11 „	0	X	III	III	—		
1429	4,0	5 „	X	II	—	—	—		
1031	5,0	12 „	0	0	0	0	0		
1435	6,5	7 „	0	0	0	0	0		
1801	7,0	15 „	0	0	0	0	0		Fragliche Entwicklung
1802	7,5	15 „	0	0	0	0	0	Keine Entwicklung	

**b. Bacillus botulinus (bei 34 C.).**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Kochsalzgehalt (‰)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbild. Tageanzahl, nach Öffnung der II-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
				sofort	1	2	3	5	
1051	Fleischextraktwass.	0	3 Tage	IV	—	—	—	—	Schwache Trübung
1052		0	4 „	V	—	—	—	—	
1053		0,5	3 „	V	—	—	—	—	Sehr schwache Trübung
141		0,5	8 „	III	III	—	—	—	
1054		1,0	3 „	III	—	—	—	—	Schwache Trübung
752		1,0	4 „	V	—	—	—	—	
1059	Fleischpeptongelatine	0	36 Std.	0	0	0	—	—	Nur mikroskopische Entwicklung
569		0	48 „	0	IV	—	—	—	
579		0	72 „	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
1062		0,25	24 „	III	—	—	—	—	
577		0,5	24 „	III	—	—	—	—	Üppige Entwicklung
578		0,5	48 „	IV	—	—	—	—	
1063		0,75	24 „	II	—	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
570		1,0	48 „	0	I	—	—	—	
583		1,0	72 „	III	—	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
571		2,0	48 „	0	IV	—	—	—	
584		2,0	72 „	III	—	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1060		3,0	11 Tage	0	0	0	IV	—	
1475		4,0	10 „	X	?	I	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1061	5,0	12 „	0	0	0	X	IV		
1466	6,5	6 „	0	0	0	0	0	Nur mikroskopische Entwicklung	
1839	7,0	15 „	0	0	0	0	0		
1840	7,5	15 „	0	0	0	0	0	Kein Wachstum	



c. *Bacillus sporogenes* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Kochsalzgehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl nach Öffnung der II-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum	
				no- fort	1	2	3	5		
1081	Fleischextraktwasser	0	3 Tage	V	—	—	—	—	} Mäßige Entwicklung	
784		0	4 „	I V	—	—	—	—		
1082		0,5	3 „	0	III	—	—	—		
785		0,5	4 „	IV	IV	V	—	—	} Starke Entwicklung	
125		0,5	8 „	I	III	—	—	—		
126		0,5	9 „	IV	V	—	—	—	} Schwache Entwicklung	
1083		1,0	3 „	IV	—	—	—	—		
594		Fleischpeptongelatine	0	19 Stund.	0	0	IV	—	—	} Undeutliche Entwicklung
1086			0	36 „	0	I	IV	—	—	
599			0	48 „	0	II	—	—	—	
611	0		72 „	IV	V	—	—	—	Mäßige Entwicklung	
1098	0,25		24 „	IV	—	—	—	—	Schwache Entwicklung	
609	0,5		24 „	IV	—	—	—	—	Makroskopisch klar	
119	0,5		48 „	IV	—	—	—	—	} Üppige Entwicklung und Gasbildung	
120	0,5		72 „	IV	—	—	—	—		
1099	0,75		24 „	I	I	V	—	—	Sehr schwache Entwickl.	
595	1,0		24 „	0	0	IV	—	—	Undeutliches Wachstum	
600	1,0	48 „	0	IV	—	—	—	} Starke Entwicklung und Gasbildung		
615	1,0	72 „	I	IV	—	—	—			
601	2,0	48 „	I	II	—	—	—	} Schwache Entwicklung		
618	2,0	72 „	III	—	—	—	—			
1808	3,0	72 „	0	IV	—	—	—			
1090	3,0	11 Tage	III	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung		
1496	4,0	5 „	X	IV	—	—	—	Schwache Entwicklung		
1097	5,0	12 „	II	?	?	IV	—	} Nur mikroskopische Ent- wicklung		
1518	6,5	10 „	?	0	0	—	—			
1809	7,0	15 „	0	0	0	—	—			
1810	7,5	15 „	0	0	0	0	0	Kein Wachstum		
1811	8,0	15 „	0	0	0	0	0	, ,		

d. *Bacillus oedematis maligni* (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Kochanzgehalt (%)	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, n. Öffnung d. II-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum	
				so-fort	1	2	3	5		
1109	Fleischextraktwasser	0	3 Tage	I	I	I	I	II	Schwache Entwicklung	
815		>	4 >	I	IV	—	—	—		
1110		0,5	3 >	0	IV	—	—	—	Ziemlich üppige Entw., manchmal Gasbild.	
816		>	4 >	I	II	—	—	—		
1111		1,0	3 >	IV	—	—	—	—		
7		>	4 >	0	0	I	II	—	Üppige Entwicklung	
817		>	4 >	IV	—	—	—	—		
1113		Fleischpeptongelatine	0	36 Std.	0	IV	IV	—	—	Sehr schwache mikroskop. Entwicklung
630			>	48 >	0	IV	—	—	—	
641			>	72 >	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
1118	0,25		24 >	V	V	—	—	—		
639	0,5		24 >	0	IV	—	—	—	Mäßige Entwicklung m. geringen Gasblasen	
88	>		48 >	III	—	—	—	—		
85	>		72 >	V	V	—	—	—	Üppige Entwicklung m. Gasbildung	
149	>		96 >	V	V	—	—	—		
1119	0,75		24 >	III	—	—	—	—	Schwache Entwicklung	
1823	1,0		24 >	I	—	—	—	—		
631	>		48 >	IV	IV	—	—	—	Ziemlich üppige Entw. und Gasbildung	
644	>		72 >	III	—	—	—	—		
632	2,0		48 >	0	II	—	—	—	Sehr schwache Entw. Üppige Entwicklung u. Gasbildung	
645	>		72 >	V	—	—	—	—		
1115	3,0		11 Tage	III	—	—	—	—	Sehr schwache Entw.	
1539	4,0	3 >	III	—	—	—	—			
1826	5,0	4 >	?	III	—	—	—	Schwache Entwicklung		
1116	>	12 >	X	X	III	—	—			
1538	6,5	4 >	III	—	—	—	—			
1828	7,0	15 >	I	I	II	II	II	Mikroskopische Entw.		
1829	7,5	15 >	0	0	0	0	0			
1830	8,0	15 >	0	0	0	0	0	Fragliche Vermehrung		
1831	9,0	15 >	0	0	0	0	0			
1832	10,0	15 >	0	0	0	0	0	Kein Wachstum		

c. *Bacillus anthracis* symptomatici (bei 34° C).

Versuchsnummer	Nährsubstrat Kochsalzgehalt (%)	Anzahl der Tage in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			so- fort	1	2	3	5	
1132	0	3 Tage	0	0	I	I	I	Schwache Entwicklung
843	0	4 "	III	III	IV	—	—	
1133	0,5	3 "	II	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
844	0,5	4 "	II	V	V	—	—	
203	0,5	8 "	IV	V	—	—	—	
845	1,0	4 "	0	0	0	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1134	1,0	5 "	I	?	?	III	—	Schwache Entwicklung
1138	0	36 Stunden	0	0	0	—	—	Keine Entwicklung?
655	0	24 "	0	0	—	—	—	Mikroskopische Entwicklung
670	0	72 "	III	—	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1150	0,25	24 "	III	V	—	—	—	Mäßige Entwicklung
668	0,5	24 "	II	—	—	—	—	Makroskopisch klar
76	0,5	48 "	IV	V	—	—	—	Üppige Entwickl. u. Gasbildg.
63	0,5	96 "	0	I	—	—	—	Schwache Entwicklung
1921	0,5	96 "	IV	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
62	0,5	5 Tage	IV	V	V	—	—	Üppige Entwickl. u. Gasbildg.
1151	0,75	1 "	IV	—	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
656	1,0	2 "	0	III	—	—	—	
677	1,0	3 "	III	—	—	—	—	
657	2,0	2 "	0	II	—	—	—	
678	2,0	3 "	II	—	—	—	—	
1821	3,0	5 "	II	III	—	—	—	Schwache Entwicklung
1144	3,0	11 "	0	0	0	0	II	Nur mikroskop. Entwicklung
1593	4,0	10 "	1	1	—	—	—	
1149	5,0	12 "	0	0	0	0	III	
1578	6,5	4 "	IV	—	—	—	—	Mäßige Entwicklung
1819	7,0	15 "	0	0	0	0	0	Nur mikroskop. Entwicklung
1820	7,5	15 "	0	0	0	0	0	Kein Wachstum

Tabelle VII.

a. *Bacillus brevis* (*Bacillus lactis* Nr. 1) bei 34° C.

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter II entwickelten	Intensität der Sporenbildg. Tageanzahl, nach Öffnung der II-Kultur u. bei Luftzutritt				Wachstum	
			sofort	1	2	3		4
348	2% T. Zuckerbouill. (neutral)	5 Tage	0	II	II	III	IV	Klar m. Bodensatz
689	do.	16	0	X	II	—	—	
349	0,2% Sodabouill. (alkal.)	5	0	III	III	—	—	Schwache Trübung
351	do.	16	1	IV	—	—	—	
350	0,1% Säurebouillon (sauer)	5	X	I	III	IV	IV	Mäßige Trübung
352	do.	10	I	III	—	—	—	
353	Konbudekokt	5	0	—	—	—	—	Mäßige Trübung
855	do.	17	0	—	—	—	—	
690	do.	18	0	0	III	—	—	Nur mikroskopische Entwicklung
488	Pyrogallolbouillon	5	0	—	—	—	—	
487	do.	9	II	—	—	—	—	Nur mikroskopische Entwicklung
489	do.	10	II	—	—	—	—	
491	1% Tragacanthlösung	3	X	X	III	IV	IV	Üppige Entwicklung
354	do.	10	II	IV	—	—	—	
483	10% Gummilösung	1 1/2	X	IV	—	—	—	Üppige Entwicklung
355	do.	10	I	IV	—	—	—	
346	30% Gummilösung	3 1/2	I	I	II	IV	—	Makroskopisch undeutliche Entwicklung
356	do.	10	II	IV	—	—	—	
490	0,2% Fleischpeptonagar	3	0	0	—	—	IV	Üppige Entwicklung
686	Fleischpeptongelatine	2	X	II	—	—	—	
687	1% Kochsalzgelatine	2	X	II	—	—	—	Mäßige Entwicklung
688	2% Kochsalzgelatine	2	X	II	—	—	—	
231	0,15% Säuregelat. (sauer)	1	I	II	IV	—	—	Üppige Entwicklung
357	0,5% Sodagelat. (alkalisch)	5	0	III	—	—	—	
347	do.	9	II	III	IV	—	—	Üppige Entwicklung, Gasbildung u. Involutionenformen
232	1% Sodagelatine (alkalisch)	5	0	0	0	II	—	
691	do.	9	II	IV	V	—	—	Mäßige Entwicklung
484	2% Traubenzuckergelatine	7	0	II	II	—	—	
692	do.	9	II	V	—	—	—	Üppige Entwicklung
485	do.	16	IV	—	—	—	—	
486	do.	23	V	—	—	—	—	Üppige Entwicklung

## b. Bacillus X (bei 34° C.).

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Anzahl der Tage, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt					Wachstum
			sofort	1	2	3	4	
320	2% Traubenzuckerbouillon (neutral)	5 Tage	0	II	IV	V	V	Mäßige Trübung Mäßige Trübung und Involutionsformen
697	do.	16 >	0	0	I	II	—	
321	0,2% Sodabouillon (alkalisch)	5 >	0	II	II	III	—	} Mäßige Trübung
323	do.	10 >	0	I	II	—	—	
322	0,1% Säurebouillon (sauer)	5 >	0	0	II	III	IV	} Starke Trübung Undeutliche Entwicklung
324	Pyrogallolbouillon	2 >	0	0	—	—	—	
447	do.	9 >	III	—	—	—	—	Nur mikroskopische Entwicklung
448	1% Tragacanthlös.	3 >	0	0	0	I	I	} Kein Wachstum?
325	do.	4 >	0	0	0	0	0	
444	1,0% Gummilös.	1 1/2	X	IV	—	—	—	Undeutliches Wachstum
326	do.	4 >	0	IV	IV	—	—	} Schwache Entwickl.
318	3,0% Gummilös.	3 1/2	0	I	I	—	—	
694	Fleischpeptongelat.	2 >	?	I	—	—	—	} Nur mikroskopische Entwicklung
695	1% Kochsalzgelat.	2 >	0	II	—	—	—	
696	2% >	2 >	0	II	—	—	—	
229	0,15% Säuregelatine (sauer)	1 >	II	III	—	—	—	} Schwache Entwicklung
312	do.	5 >	IV	IV	V	—	—	
327	0,5% Sodagelatine (alkalisch)	1 >	0	II	—	—	—	
319	do.	11 >	I	IV	—	—	—	} Mäßige Entwicklung
313	1% Sodagelatine (alkalisch)	13 >	0	0	0	II	—	
698	2% Traubenzucker- gelatine	2 >	0	I	II	—	—	} Mäßige Entwicklung
445	do.	7 >	0	0	0	II	—	
699	do.	11 >	II	II	III	—	—	
446	do.	16 >	IV	V	—	—	—	

Tabelle VIII.

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Baumstahl der Glocke	Luftdruck	Sauerstoffgehalt in der Glocke	Wasserstoffgehalt in der Glocke		Intensität der Sporenbildung, nach Öffnung der Glocke und bei normalem Luftdruck			Wachstum
					ccm	ccm	sofort	1	2	
<b>a. Bacillus anthracis (bei Zimmertemperatur).</b>										
859	Kartoffel	—	Normal	Normal	0	—	—	I	II	} üppig
865	Agar	—	,	,	0	—	—	0	II	
866	Gelatine	—	,	,	0	—	—	0	II	
885	Kartoffel	2620	250,0	181,92	0	4	0	II	—	} üppig
886	Agar	2620	250,0	181,92	0	4	1	II	—	
887	Kartoffel	2620	117,0	86,89	0	5	1	II	V	
888	Agar	2620	117,0	86,89	0	5	0	0	V	
990	,	2620	60,0	43,00	2413	9	0	—	—	
988	,	2990	55,0	45,06	0	8	III	—	—	
989	Gelatine	2990	55,0	45,06	0	8	II	—	—	
889	Agar	2620	49,0	36,54	0	6	IV	—	—	
890	Kartoffel	2620	49,0	36,54	0	6	0	X	III	
893	Agar	2950	32,1	26,21	0	5	0	—	II	
891	,	2510	21,3	11,00	0	6	0	—	—	
892	Gelatine	2510	21,3	11,00	0	6	0	—	—	
894	Agar	2620	12,4	9,02	0	11	0	0	—	} Schwach
991	,	2620	4mal nach jedesmal. Zuleiten v. II auf 250 mm ausgepumpt	0,008	867	16	0	1	II	
992	,	2275	5mal auf 208 mm ausgepumpt	0,000 000 44	620	12	0	II	—	
<b>b. Bacillus mycoides (bei Zimmertemperatur).</b>										
858	Kartoffel	—	Normal	Normal	0	—	—	X	IV	} üppig
863	Agar	—	,	,	0	—	—	0	II	
864	Gelatine	—	,	,	0	—	—	0	II	
919	Kartoffel	2620	250,0	181,92	0	4	?	—	—	} üppig, ab. keine verzv. Auslauf.
918	Agar	2620	250,0	181,92	0	4	II	—	—	
921	Kartoffel	2620	117,0	86,89	0	5	X	X	II	
920	Agar	2620	117,0	86,89	0	5	IV	—	—	
930	,	2620	60,0	43,00	2413	9	V	V	V	
923	Kartoffel	2620	49,0	36,54	0	6	?	—	—	
922	Agar	2620	49,0	36,54	0	6	IV	—	—	
926	,	2950	32,1	26,21	0	5	0	—	—	
924	,	2510	21,3	11,00	0	6	0	—	—	
925	Gelatine	2510	21,3	11,00	0	6	0	—	—	
927	Agar	2620	12,4	9,02	0	5	0	—	—	} Mätsig
928	,	2620	4mal auf 250 mm ausgepumpt	0,008	867	16	0	—	—	
929	,	2275	5mal auf 208 mm ausgepumpt	0,000 000 44	620	12	0	—	—	

c. *Bacillus subtilis* (bei Zimmertemperatur).

Versuchs- Nummer	Nährsubstrat	Rauminhalt der Glocke. cem	Luftdruck. mm	Sauerstoff- gehalt in der Glocke. cem	Wasserstoffgehalt in der Glocke. cem	Versuchsdauer. In Tagen	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung d. Glocke u. bei normalem Luft- druck			Wachstum
							so- fort	1	2	
860	Kartoffel	—	Normal	Normal	0	—	—	0	II	} Üppig
867	Agar	—	„	„	0	—	—	II	IV	
868	Gelatine	—	„	„	0	—	—	II	III	
904	Kartoffel	2620	250,0	181,92	0	4	II	IV	—	} Üppig
903	Agar	2620	250,0	181,92	0	4	IV	—	—	
906	Kartoffel	2620	117,0	86,89	0	5	I	—	—	
905	Agar	2620	117,0	86,89	0	5	0	—	—	} Sehr schwach
910	Agar	2620	60,0	43,00	2413	9	IV	—	—	
908	Kartoffel	2620	49,0	36,59	0	6	0	—	—	Üppig
907	Agar	2620	49,0	36,59	0	6	0	—	—	Spur
909	Gelatine	2510	21,3	11,01	0	6	0	—	—	Üppig
911	Agar	2620	4 mal auf 250 mm aus- gepumpt	0,008	867	16	0	—	—	Undeutlich
912	Agar	2275	5 mal auf 208 mm aus- gepumpt	0,00000041	620	12	0	—	—	Mäfsig

d. *Bacillus X* (bei Zimmertemperatur).

Versuchs- Nummer	Nährsubstrat	Rauminhalt der Glocke. cem	Luftdruck. mm	Sauerstoff- gehalt in der Glocke. cem	Wasserstoffgehalt in der Glocke. cem	Versuchsdauer. In Tagen	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung d. Glocke u. bei normalem Luft- druck			Wachstum
							so- fort	1	2	
881	Agar	—	Normal	Normal	0	—	—	0	II	Üppig
942	„	2620	60,0	43,00	2413	9	III	—	—	} Üppig
940	„	2950	32,1	26,21	0	5	IV	—	—	
941	„	2620	12,4	9,02	0	11	0	—	—	
945	„	2620	4 mal auf 250 mm aus- gepumpt	0,008	867	16	I	—	—	
946	„	2275	5 mal auf 208 mm aus- gepumpt	0,00000044	620	12	IV	—	—	
943	„	2620	6 mal auf 257,5 mm aus- gepumpt	0,0000000000158	914,77	16	II	—	—	
1924	„	—	—	0	rein II.	5	II	—	—	Üppig

**e. Bacillus brevis (lactis Nr. 1 Fllüge) bei Zimmertemperatur.**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Rauminhalt der Glocke, ccm	Luftdruck, mm	Sauerstoffgehalt in der Glocke, ccm	Wasserstoffgehalt in der Glocke, ccm	Versuchsdauer in Tagen	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung d. Glocke u. bei normalem Luftdruck			Wachstum
							sofort	1	2	
861	Agar	—	Normal	Normal	0	—	—	0	II	Üppig
862	Gelatine	—	,	,	0	—	—	0	II	
934	Agar	2620	60,0	43,00	2413,00	9	0	—	—	Üppig
932	>	2950	32,1	26,21	0	5	X	—	—	
931	>	2510	21,3	11,01	0	6	0	—	—	
933	>	2620	12,4	9,02	0	11	0	—	—	
937	>	2620	4 mal auf 250 mm ausgepumpt	0,008	867,00	16	I	—	—	
938	>	2275	5 mal auf 208 mm ausgepumpt	0,000 000 44	620,00	12	III	—	—	
936	>	2620	6 mal auf 257,5 mm ausgepumpt	0,000 000 000 133	914,77	16	0	—	—	
935	>	2950	5 mal auf 60 mm ausgepumpt	0,000 000 000 0015	2950,00	14	II	—	—	
1922	>	—	—	0	rein II.	5	I	—	—	Üppig
1923	>	—	—	0	,	6	III	—	—	

**f. Clostridium butyricum (bei Zimmertemperatur).**

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Rauminhalt der Glocke, ccm	Luftdruck, mm	Sauerstoffgehalt in der Glocke, ccm	Wasserstoffgehalt in der Glocke, ccm	Versuchsdauer in Tagen	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung d. Glocke u. bei normalem Luftdruck			Wachstum
							sofort	1	2	
962	Gelatine	2990	210,0	172,00	0	9	0	—	—	kein Wachstum
963	>	2990	210,0	172,00	2164	4	0	—	—	
959	Agar	2950	32,1	26,21	0	5	0	—	—	Wachstum
960	>	2620	12,4	9,02	0	11	0	—	—	
967	Gelatine	2620	4 mal auf 250 mm ausgepumpt	0,008	867	16	V	—	—	Zimlich üppig
968	Agar	2620	,	0,008	867	16	IV	—	—	
969	Gelatine	2275	5 mal auf 208 mm ausgepumpt	0,000 000 44	620	12	III	—	—	
964	>	2620	6 mal auf 257,5 mm ausgepumpt	0,000 000 000 000 133	914,77	16	II	—	—	
965	>	2620	,	0,000 000 000 000 133	914,77	16	IV	—	—	
961	>	2950	5 mal auf 60 mm ausgepumpt	0,000 000 000 000 0145	2970	14	V	—	—	
42	>	—	—	0	rein II.	10	X	IV	—	
52	>	—	—	0	,	16	III	V	—	
1925	Agar	—	—	0	,	16	II	IV	—	



Tabelle IX.

Versuchsnummer	Arten der Aeroben	Arten der Anaeroben	Beschaffenheit der Mischbouillon- kultur (B)	Sporenbildung der Anaeroben in oberen Schichten der Bouillon: in Tagen				
				1	2	3	4	6
1391	Bacillus typhosus	Clostridium butyricum	} Starke Trüb.	X	III	—	—	—
1392		Bacillus botulinus		0	III	—	—	—
1393		Bacillus sporogenes		X	IV	—	—	—
1394		Bacillus oedematis maligni		0	IV	—	—	—
1395		Bac. anthracis symptomatici		0	III	—	—	—
1331	Bacillus coli comm.	Clostridium butyricum	} Starke Trüb.	0	0	IV	—	—
1332		Bacillus botulinus		0	0	IV	—	—
1333		Bacillus sporogenes		0	0	III	—	—
1334		Bacillus oedematis maligni		0	II	IV	—	—
1335		Bac. anthracis symptomatici		I	III	—	—	—
1251	Bacillus acidi lactici	Clostridium butyricum	} Starke Trübung u. Gasbildung. Nach 6 Tagen kann sie sich wieder auf-	I	I	I	II	0
1252		Bacillus botulinus		III	II	III	III	0
1253		Bacillus sporogenes		0	X	II	III	I
1254		Bacillus oedematis maligni		0	X	I	II	0
1255		Bac. anthracis symptomatici		0	X	II	II	0
1241	Bac. proteus vulgaris I	Clostridium butyricum	} Nach 1 Tag mäßige Trüb., nach 6 Tr. klärt sie sich allmähl. wieder auf-	0	0	II	I	I
1242		Bacillus botulinus		II	II	II	I	I
1243		Bacillus sporogenes		I	I	II	I	I
1244		Bacillus oedematis maligni		0	0	II	II	0
1245		Bac. anthracis symptomatici		0	0	III	0	0
1411	Bac. proteus vulgaris II	Clostridium butyricum	} N. 1 Tr. bl. d. Bouill. noch klar, n. 2 Tagen mäß. Trb. n. 17. m. Tr. wie b. B. botulinus	X	II	—	—	—
1412		Bacillus botulinus		X	II	—	—	—
1413		Bacillus sporogenes		0	0	IV	—	—
1414		Bacillus oedematis maligni		X	IV	—	—	—
1415		Bac. anthracis symptomatici		I	II	—	—	—
1311	Bac. proteus Zopfii	Clostridium butyricum	} Spur Trüb.  } Mäßige Trübung	0	III	?	—	—
1312		Bacillus botulinus		0	IV	III	—	—
1313		Bacillus sporogenes		0	II	IV	—	—
1314		Bacillus oedematis maligni		X	III	III	—	—
1315		Bac. anthracis symptomatici		0	II	0?	—	—

Fortsetzung zu Tabelle IX.

Versuchsnummer	Arten der Aeroben	Arten der Anaeroben	Beschaffenheit der Milchbouillonkultur (B)	Sporenbildung der Anaeroben in oberen Schichten der Bouillon. In Tagen					
				1	2	3	4	6	
1201	Bacillus prodigiosus	<i>Clostridium butyricum</i>	Starke Trübung	II	II	—	—	—	
1202		<i>Bacillus botulinus</i>		I	II	—	—	—	
1203		<i>Bacillus sporogenes</i>		I	V	—	—	—	
1204		<i>Bacillus oedematis maligni</i>		I	IV	—	—	—	
1205		<i>Bac. anthracis symptomatici</i>		0	0	X	I	I	
1211	Bacillus fluorescens liquefaciens	<i>Clostridium butyricum</i>	Starke Trübung und Gasbildung	I	I	IV	—	—	
1212		<i>Bacillus botulinus</i>		X	I	I	III	—	
1213		<i>Bacillus sporogenes</i>		III	II	II	—	—	
1214		<i>Bacillus oedematis maligni</i>		X	I	I	IV	—	
1215		<i>Bac. anthracis symptomatici</i>		II	III	—	—	—	
1321	Thee Braun- farb. Bacill.	<i>Clostridium butyricum</i>	Schwache Trübung	I	III	—	—	—	
1322		<i>Bacillus botulinus</i>		?	III	—	—	—	
1323		<i>Bacillus sporogenes</i>		III	III	—	—	—	
1324		<i>Bacillus oedematis maligni</i>		I	II	—	—	—	
1325		<i>Bac. anthracis symptomatici</i>		III	III	—	—	—	
1291	Bacillus rubefas- cions pyogenes	<i>Clostridium butyricum</i>	Starke Trübung	0	I	II	—	—	
1292		<i>Bacillus botulinus</i>		0	III	II	—	—	
1293		<i>Bacillus sporogenes</i>		0	II	0	—	—	
1294		<i>Bacillus oedematis maligni</i>		I	II	0	—	—	
1295		<i>Bac. anthracis symptomatici</i>		0	II	0	—	—	
1221	Bacillus pituitosus	<i>Clostridium butyricum</i>	Diffuse starke Trübung	II	II	II	—	—	
1222		<i>Bacillus botulinus</i>		I	I	II	—	—	
1223		<i>Bacillus sporogenes</i>		II	V	—	—	—	
1224		<i>Bacillus oedematis maligni</i>		I	III	III	—	—	
1225		<i>Bac. anthracis symptomatici</i>		X	I	II	—	—	
1341	Bacillus pyocyaneus	<i>Clostridium butyricum</i>	Starke Trübung	I	III	—	—	—	
1342		<i>Bacillus botulinus</i>		I	III	—	—	—	
1343		<i>Bacillus sporogenes</i>		I	III	—	—	—	
1344		<i>Bacillus oedematis maligni</i>		?	III	—	—	—	
1345		<i>Bac. anthracis symptomatici</i>		0	I	III	—	—	

Fortsetzung zu Tabelle IX.

Versuchsnummer	Arten der Aeroben	Arten der Anaeroben	Beschaffenheit der Mischkulturen-Kultur (1)	Sporenbildung der Anaeroben in oberen Schichten der Bouillon in Tagen				
				1	2	3	4	5
1281	Bacillus odoratus	Clostridium butyricum	Starke Trübung und Gasbildung	0	0	0	0	?
1282		Bacillus botulinus		X	II	II	—	—
1283		Bacillus sporogenes		0	IV	II	0	—
1284		Bacillus oedematis maligni		I	IV	III	—	—
1285		Bac. anthracis symptomatici		0	0	I	III	IV
1301	Bacillus aëro-philosimilis	Clostridium butyricum	Schwache Trübung	X	III	III	—	—
1302		Bacillus botulinus		0	I	V	—	—
1303		Bacillus sporogenes		0	IV	V	—	—
1304		Bacillus oedematis maligni		0	IV	III	III	0
1305		Bac. anthracis symptomatici		0	V	III	II	0
1271	Bacillus lactis innocuus	Clostridium butyricum	Schwache Trübung	0	0	0	I	II
1272		Bacillus botulinus		0	I	II	—	—
1273		Bacillus sporogenes		0	II	III	—	—
1274		Bacillus oedematis maligni		0	IV	III	—	—
1275		Bac. anthracis symptomatici		0	III	IV	—	—
1371	Bacillus late-ricium	Clostridium butyricum	Klar bis schwache Trübung	0	II	—	—	—
1372		Bacillus botulinus		X	II	—	—	—
1373		Bacillus sporogenes		II	III	—	—	—
1374		Bacillus oedematis maligni		II	III	—	—	—
1375		Bac. anthracis symptomatici		I	IV	—	—	—
1381	Bacillus coli non fervoris	Clostridium butyricum	Klar Schwache Trübung Klar	0	II	—	—	—
1382		Bacillus botulinus		0	III	—	—	—
1383		Bacillus sporogenes		0	II	—	—	—
1384		Bacillus oedematis maligni		III	III	—	—	—
1385		Bac. anthracis symptomatici		III	II	—	—	—
1231	Bacillus annu- tus aureus	Clostridium butyricum	Starke Trübung	0	I	I	II	0
1232		Bacillus botulinus		0	X	X	I	0
1233		Bacillus sporogenes		I	I	?	I	I
1234		Bacillus oedematis maligni		I	?	?	0	0
1235		Bac. anthracis symptomatici		I	I	II	I	0

Fortsetzung zu Tabelle IX.

Versuchsnummer	Arten der Aëroben	Arten der Anaëroben	Beschaffenheit der Mischbouillonkultur (B)	Sporenbildung der Anaëroben in oberen Schichten der Bouillon; In Tagen				
				1	2	3	4	5
1261	Bacillus aus Eiter	Clostridium butyricum	Erst, sarko, nach 5 Tagen schwache Trübung	0	0	I	II	0
1262		Bacillus botulinus		0	0	IV	0	0
1263		Bacillus sporogenes		I	II	II	?	0
1264		Bacillus oedematis maligni		0	I	I	II	0
1265		Bacillus anthracis symptom.		I	I	I	I	0
1361	Variocholer. asiaticæ	Clostridium butyricum	Schwache Trübung	0	I	IV	—	—
1362		Bacillus botulinus		0	0	III	—	—
1363		Bacillus sporogenes		III	IV	—	—	—
1364		Bacillus oedematis maligni		II	III	—	—	—
1365		Bacillus anthracis symptom.		III	—	—	—	—
1401	Vibrio Metschnikowi	Clostridium butyricum	do.	X	III	—	—	—
1402		Bacillus botulinus		X	III	—	—	—
1403		Bacillus sporogenes		I	III	—	—	—
1404		Bacillus oedematis maligni		I	II	—	—	—
1405		Bacillus anthracis symptom.		0	III	—	—	—
1351	Mikrococcus tetragenus	Clostridium butyricum	do.	0	X	II	—	—
1352		Bacillus botulinus		I	I	III	—	—
1353		Bacillus sporogenes		I	I	IV	—	—
1354		Bacillus oedematis maligni		III	—	—	—	—
1355		Bacillus anthracis symptom.		I	I	IV	—	—

Tabelle X.

Versuchsnummer	Arten der Aëroben	Arten der Anaëroben	Beschaffenheit der Misch-Agarstrichkultur (B)	Sporenbildung der Anaëroben. In Tagen				
				1	2	3	4	5
1396	Bacillus typhosus	Clostridium butyricum	Nicht dicke Auflagerung	I	II	II	—	—
1397		Bacillus botulinus		I	II	—	—	—
1398		Bacillus sporogenes		III	—	—	—	—
1399		Bacillus oedematis maligni		V	—	—	—	—
1400		Bacillus anthracis symptom.		I	II	—	—	—

## Fortsetzung zu Tabelle X.

Versuchsnummer	Arten der Aeroben	Arten der Anaeroben	Beschaffenheit der Misch-Agarröhrchenkultur (B)	Sporenbildung der Anaeroben In Tagen				
				1	2	3	4	5
1336	Bacillus coli comm.	Clostridium butyricum	} ziemlich dicke Auflagerung u. Sporenbildung	I	IV	—	—	—
1337		Bacillus botulinus		0	0	0	IV	—
1338		Bacillus sporogenes		III	III	—	—	—
1339		Bacillus oedematis maligni		I	III	—	—	—
1340		Bacillus anthracis symptomat.		0	0	0	I	II
1256	Bacillus acidilactici	Clostridium butyricum	} dünne Auf- dicke Auf- } dünn- Auf- } lagerg.	I	III	—	—	—
1257		Bacillus botulinus		V	—	—	—	—
1258		Bacillus sporogenes		0	III	—	—	—
1259		Bacillus oedematis maligni		0	III	—	—	—
1260		Bacillus anthracis symptomat		X	X	0	III	—
1246	Bacillus proteus vulgaris I	Clostridium butyricum	} dicke Auf- } dünn- Auf- } lagerg.	IV	V	—	—	—
1247		Bacillus botulinus		II	V	—	—	—
1248		Bacillus sporogenes		0	I	II	V	—
1249		Bacillus oedematis maligni		0	0	II	—	—
1250		Bacillus anthracis symptomat.		0	0	0	0	III
1416	Bacillus proteus vulgaris II	Clostridium butyricum	} dünne Auf- } Auf- } lagerg.	0	I	—	—	—
1417		Bacillus botulinus		0	II	—	—	—
1418		Bacillus sporogenes		0	II	—	—	—
1419		Bacillus oedematis maligni		I	III	—	—	—
1420		Bacillus anthracis symptomat.		0	I	—	—	—
1316	Bacillus proteus Zopflii	Clostridium butyricum	} dünne Auf- } dicke Auf- } Auf- } dünne Auf-	0	0	II	—	—
1317		Bacillus botulinus		IV	V	—	—	—
1318		Bacillus sporogenes		V	—	—	—	—
1319		Bacillus oedematis maligni		V	—	—	—	—
1320		Bacillus anthracis symptomat.		0	III	—	—	—
1206	Bacillus prodigiosus	Clostridium butyricum	} mäfsig dicke Auf- } dünne Auf- } mäfsig dicke Auf- }	I	V	—	—	—
1207		Bacillus botulinus		0	V	—	—	—
1208		Bacillus sporogenes		0	IV	—	—	—
1209		Bacillus oedematis maligni		0	V	—	—	—
1210		Bacillus anthracis symptomat.		?	?	X	?	V

Fortsetzung zu Tabelle X.

Versuchsnummer	Arten der Aeroben	Arten der Anaeroben	Reifezeit der Milch- strichgärkultur	Sporenbildung der Anaeroben; in Tagen				
				1	2	3	4	5
1216	Bac. fluores- cens liquefac.	Clostridium butyricum	} Dicke Aufg.	0	III	—	—	—
1217		Bacillus botulinus		III	—	—	—	—
1218		Bacillus sporogenes		III	—	—	—	—
1219		Bacillus oedematis maligni		IV	—	—	—	—
1220		Bac. anthracis symptomatici		0	III	—	—	—
1326	Theobrom- farb. Bacillus	Clostridium butyricum	} Dünne Aufg.	0	I	—	—	—
1327		Bacillus botulinus		IV	—	—	—	—
1328		Bacillus sporogenes		IV	—	—	—	—
1329		Bacillus oedematis maligni		V	—	—	—	—
1330		Bac. anthracis symptomatici		III	—	—	—	—
1296	Bac. rubefac. pyogenes	Clostridium butyricum	} Dicke Aufg.	0	V	—	—	—
1297		Bacillus botulinus		IV	—	—	—	—
1298		Bacillus sporogenes	} Mäßig dick Aufg.	X	III	—	—	—
1299		Bacillus oedematis maligni		X	X	?	II	—
1300		Bac. anthracis symptomatici	Dünne Aufg.	0	X	X	III	—
1226	Bacillus pitorius	Clostridium butyricum	} Dicke Aufg.	0	X	III	—	—
1227		Bacillus botulinus		X	X	0	V	—
1228		Bacillus sporogenes	} Mäßig dick. Aufg.	0	X	III	—	—
1229		Bacillus oedematis maligni		X	X	X	II	—
1230		Bac. anthracis symptomatici	Dünne Aufg.	0	V	—	—	—
1346	Bacillus pyocyaneus	Clostridium butyricum	} Dicke Aufg.	II	—	—	—	—
1347		Bacillus botulinus		0	0	0	I	—
1348		Bacillus sporogenes		II	—	—	—	—
1349		Bacillus oedematis maligni		III	—	—	—	—
1350		Bac. anthracis symptomatici		0	0	0	II	—
1286	Bacillus odoratus	Clostridium butyricum	} Dicke Aufg.	0	II	—	—	—
1287		Bacillus botulinus		0	III	—	—	—
1288		Bacillus sporogenes	} Dünne Aufg.	II	—	—	—	—
1289		Bacillus oedematis maligni		II	—	—	—	—
1290		Bac. anthracis symptomatici		} Dicke Aufg.	I	III	—	—

## Fortsetzung zu Tabelle X.

Versuchsnummer	Arten der Aeroben	Arten der Anaeroben	Beschaffenheit der Misch-Agar- strichkultur (B)	Sporenbildung der Anaeroben. In Tagen				
				1	2	3	4	6
1306	Bacillus aerophilo- similis	Clostridium butyricum	Dicke Auf.	0	0	0	III	—
1307		Bacillus botulinus		V	V	V	V	—
1308		Bacillus sporogenes		0	X	X	V	—
1309		Bacillus oedematis maligni		0	0	0	V	—
1310		Bac. anthracis symptomatici		V	—	—	—	—
1276	Bacillus lactis innocuus	Clostridium butyricum	Dicke Auf.	0	IV	—	—	—
1277		Bacillus botulinus		0	III	—	—	—
1278		Bacillus sporogenes		V	—	—	—	—
1279		Bacillus oedematis maligni		0	0	0	V	—
1280		Bac. anthracis symptomatici		Dünn. Auf.	0	0	0	0
1376	Bacillus latericius	Clostridium butyricum	Dünne Auf.	0	I	—	—	—
1377		Bacillus botulinus		I	I	—	—	—
1378		Bacillus sporogenes		I	I	—	—	—
1379		Bacillus oedematis maligni		I	I	—	—	—
1380		Bac. anthracis symptomatici		0	I	—	—	—
1386	Bacillus coli non fervoris	Clostridium butyricum	Dünne Auf.	III	III	—	—	—
1387		Bacillus botulinus		0	II	—	—	—
1388		Bacillus sporogenes		II	III	—	—	—
1389		Bacillus oedematis maligni		V	—	—	—	—
1390		Bac. anthracis symptomatici		0	I	—	—	—
1236	Bacillus annula- tus aureus	Clostridium butyricum	Dicke Auf.	Dünn. Auf.	0	0	III	—
1237		Bacillus botulinus		X	IV	—	—	—
1238		Bacillus sporogenes		V	—	—	—	—
1239		Bacillus oedematis maligni		0	III	—	—	—
1240		Bac. anthracis symptomatici		Dünn. Auf.	0	III	—	—
1266	Bacillus aus Eiter	Clostridium butyricum	Mäßig dicke Auf. Dicke Auf. Dünne Auf. Dicke Auf.	II	II	—	—	—
1267		Bacillus botulinus		V	—	—	—	—
1268		Bacillus sporogenes		0	0	0	II	III
1269		Bacillus oedematis maligni		X	X	X	V	—
1270		Bac. anthracis symptomatici		V	—	—	—	—

Fortsetzung von Tabelle X.

Versuchsnummer	Arten der Anaeroben	Arten der Anaeroben	Beschaffenheit der Mischagartrieb- kultur (B)	Sporenbildung der Anaeroben; in Tagen				
				1	2	3	4	6
1366	Vibrio cholerae asiaticus	Clostridium butyricum	Dünne Auflage	II	II	—	—	—
1367		Bacillus botulinus		0	I	—	—	—
1368		Bacillus sporogenes		X	II	—	—	—
1369		Bacillus oedematis maligni		V	—	—	—	—
1370		Bac. anthracis symptomatici		0	I	—	—	—
1406	Vibrio Metchnikowii	Clostridium butyricum	Dünne Auflage	0	0	0	I	II
1407		Bacillus botulinus		0	0	II	—	—
1408		Bacillus sporogenes		V	—	—	—	—
1409		Bacillus oedematis maligni		II	III	—	—	—
1410		Bac. anthracis symptomatici		IV	—	—	—	—
1356	Mikrococcus tetragenus	Clostridium butyricum	Ziemlich dünne Auflage	0	II	II	—	—
1357		Bacillus botulinus		0	II	—	—	—
1358		Bacillus sporogenes		0	II	—	—	—
1359		Bacillus oedematis maligni		V	—	—	—	—
1360		Bac. anthracis symptomatici		IV	—	—	—	—



Tabelle XI.

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Temperatur °C.	Verweilen im Hirteschranke und unter Wasserstoff	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt						Bemerkung
				so- fort	1	2	3	4	6	
<b>a. Clostridium butyrium.</b>										
18	Bouillon	18	28 Tage	0	0	0	0	—	—	Mikroskopisch Involutionsformen Schwache Trübung Starke Trübung Mäßige Trübung
54		20	28	?	?	?	?	?	?	
1024		34	3	?	I	III	—	—	—	
720		34	4	?	III	IV	—	—	—	
50		34	10	?	I	I	II	II	—	
51	2% T.-Zucker- Bouill.	20	28	0	0	I	?	—	—	Meist Involutionsformen Schwache Trübung
267		34	4	II	II	—	—	—		
218	Gewöhnliche Gelatine	22	5	0	0	0	—	—	—	Makroskopisch klar Üppige Entwicklung Sehr üppige Entwicklung und oft Involutionsformen Schwache Entwicklung und Gasbildung Starke Entwicklung und Gasbildung
47		22	15	I	III	—	—	—	—	
40		22	26	IV	IV	—	—	—	—	
548		34	1	?	0	I	—	—	—	
43		34	2	?	IV	—	—	—	—	
358	2% T.-Zucker- Gelatine	21	6	0	0	0	0	II	III	Starke Entwicklung und Gasbildung Sehr üppige Entwicklung und Gasbildung
357		20	7	0	0	X	X	II	III	
42		22	10	X	IV	—	—	—	—	
52		22	16	III	V	—	—	—	—	
219		34	1	?	III	IV	—	—	—	
<b>b. Bacillus botulinus.</b>										
5	Bouillon	22	5 Tage	0	0	0	—	—	—	Schwache Trübung Trübung mit Bodensatz Mäßig starke Trübung Mikroskopisch nur Involutions- formen Starke Trübung
1460		24	32	X	IV	—	—	—	—	
27		22	38	X	I	I	III	IV	—	
8		22	60	?	?	?	?	?	—	
12		34	5	?	0	0	0	—	—	
141	34	8	?	III	III	—	—	—		
133	Gewöhnl. Gelatine	22	2	0	I	—	—	—	—	Schwache Entwicklung Verflüssigung und Gasbildung Trübung
132		22	5	I	II	—	—	—	—	
577		34	1	?	III	—	—	—	—	
131	2% T.-Zucker- Gelatine	22	23	0	0	X	X	II	—	Verflüssigung und Gasbildung Schwache Entwicklung
461		22	25	IV	—	—	—	—	—	
463		22	27	IV	—	—	—	—	—	
1612		34	21 Std.	?	0	I	—	—	—	
1651	34	23	?	I	III	—	—	—		

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Temperatur °C.	Verweilen im Brutschrauke und unter Wasserstoff	Intensität der Sporenbildung, Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt						Bemerkung
				so-fort	1	2	3	4	6	
<b>c. Bacillus sporogenes.</b>										
9	Bouillon	22	4 Tage	0	0	I	I	—	—	Starke Trübung
104		22	20	0	0	0	0	0	?	Mäßige Trübung
103		22	28	0	0	0	?	?	II	Schwache Trübung
1489		24	32	IV	—	—	—	—	—	
25		22	38	0	0	0	0	0	0	
4		34	4	0	0	II	—	—	—	Starke Trübung
125	34	8	I	II	—	—	—	—		
126	34	9	IV	IV	—	—	—	—		
105	2% T.-Zuckerbouillon	22	20	0	0	0	—	—	—	Mäßige Trübung
102		22	28	0	?	?	?	?	?	Klar mit Bodensatz
730		34	3	0	I	I	I	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
248		34	4	I	IV	—	—	—	—	
108	Gewöhl. Gelatine	22	5	0	0	I	I	II	—	Schwache Entwicklung
113		22	20	0	0	0	II	—	—	Verflüssigung und Gasbildung
107		22	23	0	0	I	?	V	—	
609		34	1	IV	V	—	—	—	—	Klar
119	34	2	IV	—	—	—	—	—	Starke Trüb. u. Gasbild.	
123	2% Traubenzuckergelatine	22	5	I	IV	—	—	—	—	Starke Verflüss. u. Gasbild.
502		20	13	0	0	0	III	—	—	Sehr schwache Entwickl.
503		21	20	II	III	—	—	—	—	Verflüssigung u. Gasbild.
1680		34	14 Std.	0	—	—	—	—	—	Mikroskop. Entwickl.
1681	34	22	I	—	—	—	—	—		
<b>d. Bacillus anthracis symptomatici.</b>										
159	Bouillon	22	8 Tage	0	0	II	—	—	—	Mäßige Entwicklung
1546		22	32	III	V	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
203		34	8	IV	V	—	—	—	—	Starke Entwicklung
200	Gewöhl. Gelatine	22	5	0	0	I	—	—	—	Makrosk. kein Wachstum
60		16	10	0	0	I	III	—	—	Verflüssigung u. Gasbild.
668		34	1	II	—	—	—	—	—	Makrosk. kein Wachstum
76		34	2	IV	—	—	—	—	—	Starke Entwickl. u. Gasb.
398	2% Traubenzuckergelatine	21	24	IV	—	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
396		20	25	IV	—	—	—	—	—	
71		22	26	?	0	II	—	—	—	Verflüssigung der Gelatine
1732		22	28	IV	—	—	—	—	—	Schwache Entwicklung
1734	34	14 Std.	I	—	—	—	—	—		
1731	34	23	I	III	—	—	—	—		

Versuchsnummer	Nährsubstrat	Temperatur °C.	Verweilen im Brühschänke und unter Wasserstoff	Intensität der Sporenbildung. Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt						Bemerkung		
				so- fort	1	2	3	4	6			
<b>e. Bacillus oedematis maligni.</b>												
7	Bouillon	22	4 Tage	0	0	0	0	I	I	Ziemlich starke Ent- wicklung		
1		22	6	0	I	—	—	—	—			
2		22	8	0	I	—	—	—	—			
15		22	15	X	II	—	—	—	—		Klar mit Bodensatz	
92		22	28	?	?	?	?	—	—			Mäßige Entwicklung
1534		24	32		III	III	—	—	—		—	Klar mit Bodensatz
24		22	38		II	II	—	—	—		—	Schwaches Wachstum
1110		34	3		0	IV	—	—	—		—	Üppige Entwickl. und Gasbildung
3		34	4		0	0	I	I	—		—	
816		34	4		I	II	—	—	—		—	Schwache Trübung mit Bodensatz
79	34	6		II	III	—	—	—	—			
91	2% Tr.-Zucker- Bouillon	22	28	0	0	0	I	I	I	Klar mit Bodensatz		
82		34	2	0	—	—	—	—	—			
806		34	3	III	IV	IV	—	—	—		Starke Trübung	
148	22	2	0	II	III	—	—	—	Schwache Entwicklung			
151	Gewöhl. Gelatine	22	3	I	III	—	—	—	—	Spurweise Verflüssig. d. Gelat.		
158		22	4	III	IV	—	—	—	—			
156		22	5	V	—	—	—	—	—	Starke Verflüssigung der Gelatine und Gasbildung		
157		22	6	V	—	—	—	—	—			
28		21	11	V	—	—	—	—	—			
29		21	16	V	—	—	—	—	—			
30		21	20	V	—	—	—	—	—			
31		21	25	V	—	—	—	—	—			
639		34	1	0	IV	—	—	—	—	Schwache Entwicklung		
88		34	2	IV	—	—	—	—	—	Starke Entwickl. u. Gasb.		
300	2% Traub.-Zucker- Gelatine	20	6	0	0	0	0	I	III	Verflüssigung der Gelatine und Gasbildung		
299		21	6	0	0	0	0	II	III			
419		20	13	II	III	—	—	—	—			
418		21	13	II	III	—	—	—	—			
93		22	23	I	II	II	III	IV	—			
194		34	1	I	III	—	—	—	—		Starke Trüb. u. Gasbildg.	
36	Gewöhl. Agar	22	20	III	—	—	—	—	—	Üppige Entwicklung		
37		22	25	III	—	—	—	—	—			
10		22	30	III	—	—	—	—	—			
16		34	3	II	—	—	—	—	—			

Tabelle XII.

a. *Clostridium butyricum*.

Versuchsnummer	Temperatur	Anzahl der Stunden, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung; Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum
			sofort	1	2	4	
1862	50° C	48 Stunden	0	0	—	—	Keine Entwicklung
1863	50° C	72 „	0	0	—	—	
1621	ca. 47° C	26 „	0	0	—	—	
1622	ca. 47° C	38 „	0	0	—	—	Mikroskop. Entwicklung
1861	ca. 45,5° C	18 „	0	II	—	—	
1620	ca. 45,5° C	20 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	I	II	—	—	
1619	ca. 45,5° C	24 „	I	II	—	—	Schwache Entwicklung
1860	ca. 41,5° C	12 „	0	II	—	—	
1618	ca. 41,5° C	14 „	II	—	—	—	
1617	ca. 41,5° C	18 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	I	—	—	—	Mikroskop. Entwicklung
1869	ca. 38° C	14 „	II	—	—	—	
1603	ca. 38° C	18 „	II	—	—	—	
1602	ca. 38° C	24 „	I	—	—	—	Schwache Entwicklung
1623	ca. 35° C	14 „	0	—	—	—	
1572	ca. 35° C	18 „	II	—	—	—	
558	34° C <sup>1)</sup>	16 „	X	III	—	—	Mikroskop. Entwicklung
1572	34° C	18 „	II	IV	—	—	
1894	27° C	48 „	0	I	IV	—	
1895	27° C	5 Tage	II	—	—	—	Schwache Entwicklung
218	22° C	5 „	0	0	0	—	
42	22° C	10 „	X	IV	—	—	
47	22° C	15 „	II	III	—	—	Ziemlich üppige Entwicklung
52	22° C	16 „	III	V	—	—	
358	21° C	6 „	0	0	0	II	
19	21° C	24 „	III	—	—	—	Schwache Entwicklung
367	20° C	7 „	0	0	X	II	
1896	17° C	28 „	I	—	—	—	
1874	16° C	30 „	0	0	0	0	Mikroskop. Entwicklung
1875	14° C	38 „	0	0	0	0	
1876	12° C	60 „	0	0	—	—	
1877	ca. 0° C	60 „	0	0	—	—	Kein Wachstum

<sup>1)</sup> 2proz. Traubenzucker-Fleischpeptongelatine (ohne Kochsalz).

b. *Bacillus botulinus*.

Versuchsnummer	Temperatur	Anzahl der Stunden, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung Tageanzahl nach Öffnung der H-Kultur u. bei Luftzutritt.				Wachstum
			sofort	1	2	4	
1867	50° C.	48 Std.	0	0	0	0	Kein Wachstum
1868	, ,	72 ,	0	0	0	0	
1644	ca. 47° C.	26 ,	0	0	0	0	
1645	, ,	38 ,	0	0	0	0	
1866	, ,	72 ,	0	0	0	0	Schwachestes Wachstum
1643	ca. 45,5° C.	18 ,	0	II	—	—	
1642	, ,	21 ,	II	—	—	—	
1865	ca. 41,5° C.	8 ,	0	—	—	—	
1640	, ,	12 1/3 ,	I	—	—	—	Mikroskopische Entwicklung
1641	, ,	19 ,	I	—	—	—	
1864	ca. 38° C.	13 ,	II	—	—	—	
1639	, ,	18 ,	IV	—	—	—	
1638	, ,	24 ,	II	—	—	—	Schwache Entwicklung
1646	ca. 35° C.	14 ,	0	—	—	—	
1652	, ,	21 ,	0	I	—	—	
1651	, ,	23 ,	I	III	—	—	
588	34° C. 1)	16 ,	I	V	—	—	Üppige Entwicklung
732	, , 1)	24 ,	II	V	—	—	
1897	27° C.	5 Tage	X	IV	—	—	
1898	, ,	10 ,	II	IV	—	—	
131	22° C.	23 ,	0	0	X	II	Üppige Entwicklung mit Gasblasen
461	, ,	25 ,	IV	—	—	—	
463	, ,	27 ,	IV	—	—	—	
462	19—20° C.	25 ,	IV	—	—	—	Schwache Entwicklung und Gasbildung
1901	17° C.	38 ,	I	—	—	—	Schwache Entwicklung
1902	16° ,	38 ,	I	—	—	—	
1869	14° ,	40 ,	0	—	—	—	Mikroskopische Entwicklung
1870	12° ,	60 ,	0	—	—	—	
1871	8° ,	60 ,	0	—	—	—	Kein Wachstum
1872	ca. 0° ,	60 ,	0	—	—	—	

1) 2proz. Traubenzucker-Fleischpeptongelatine.

c. *Bacillus sporogenes*.

Versuchsnummer	Temperatur	Anzahl der Stunden, in welchen sie sich unter H entwickeln	Intensität der Sporenbildung; Tageanzahl, nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum
			sofort	1	2	4	
1915	50° C	38 Stunden	0	0	0	—	Kein Wachstum
1916	50° C	72 „	0	0	0	—	
1678	ca. 47° C	26 „	0	0	I	—	Mikroskop. Entwicklung
1679	ca. 47° C	38 „	I	II	—	—	Sehr schwache Entwickl.
1914	ca. 45,5° C	18 „	0	II	—	—	Mikroskop. Entwicklung
1677	ca. 45,5° C	20 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	I	II	—	—	
1676	ca. 45,5° C	24 „	I	III	—	—	
1913	ca. 41,5° C	8 „	0	II	—	—	
1675	ca. 41,5° C	14 „	II	—	—	—	
1674	ca. 41,5° C	18 <sup>1</sup> / <sub>2</sub> „	I	II	—	—	
1912	ca. 38° C	10 „	0	III	—	—	Schwache Entwicklung
1673	ca. 38° C	18 „	IV	V	—	—	
1672	ca. 38° C	24 „	III	V	—	—	
1680	ca. 35° C	14 „	0	IV	—	—	Mikroskop. Entwicklung
1681	ca. 35° C	22 „	I	—	—	—	
619	34° C <sup>1)</sup>	16 „	I	IV	—	—	Schwache Entwicklung
1908	27° C	4 Tage	X	IV	—	—	Üppige Entwicklung und Gasbildung
1909	27° C	5 „	II	—	—	—	
123	22° C	5 „	I	IV	—	—	
503	21° C	20 „	II	III	—	—	Sehr schwache Entwickl.
502	20° C	13 „	0	0	0	III	
1911	20° C	20 „	II	—	—	—	Schwache Entwicklung
1912	19° C	30 „	I	—	—	—	
1882	17° C	38 „	I	—	—	—	
1883	16° C	38 „	I	—	—	—	
1884	14° C	50 „	0	0	0	0	Mikroskop. Entwicklung
1885	12° C	60 „	0	0	0	0	Kein Wachstum
1886	ca. 0° C	60 „	0	0	0	0	

<sup>1)</sup> 2% Traubenzuckerfleischpeptonelatine.

d. *Bacillus oedematis maligni*.

Versuchsnummer	Temperatur	Anzahl der Std. in welchen sie sich unter II ent- wickeln	Intensität d. Sporen- bild. Tageanzahl, n. Öffnung d. H-Kultur und bei Luftzutritt				Wachstum
			so- fort	1	2	4	
1919	50° C.	38 Std.	0	0	—	—	} Kein Wachstum
1918	50° C.	72 „	0	0	—	—	
1695	ca. 47° C.	26 „	0	0	—	—	} Mikroskopische Entwicklung
1696	ca. 47° C.	38 „	I	I	—	—	
1698	ca. 45,5° C.	14 „	0	I	—	—	
1694	ca. 45,5° C.	18 „	I	—	—	—	
1693	ca. 45,5° C.	21 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1699	ca. 41,5° C.	12 „	0	I	—	—	} Mikroskopische Entwicklung
1692	ca. 41,5° C.	14 „	II	—	—	—	
1691	ca. 41,5° C.	18 1/2 „	I	—	—	—	Schwache Trübung
1700	ca. 38° C.	14 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1690	ca. 38° C.	18 „	II	—	—	—	} Ziemlich üppige Entwicklung
1689	ca. 38° C.	24 „	III	—	—	—	
1701	ca. 35° C.	12 „	0	II	—	—	
1697	ca. 35° C.	14 „	I	—	—	—	Schwache Entwicklung
194	ca. 35° C.	24 „	I	III	—	—	Starke Entwicklung und Gas- bildung
1905	27° C.	24 „	0	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1906	27° C.	48 „	0	—	—	—	Schwache Entwicklung
1907	27° C.	60 „	I	III	—	—	Mäßige Entwicklung
148	22° C. *)	48 „	0	II	—	—	Schwache Entwicklung
151	22° C. *)	72 „	I	III	—	—	Mäßige Entwicklung
158	22° C. *)	96 „	III	IV	—	—	Üppige Entwicklung und Gas- bildung
418	21° C.	13 Tage	II	—	—	—	Mäßige Entwicklung
419	20° C.	13 „	II	—	—	—	Üppige Entwicklung
1910	19° C.	13 „	II	—	—	—	} Schwache Entwicklung
1888	17° C.	20 „	I	—	—	—	
1889	16° C.	28 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1890	14° C.	35 „	0	0	0	0	Mikroskopische Entwicklung
1891	12° C.	60 „	0	0	0	0	} Kein Wachstum
1892	ca. 0° C.	60 „	0	0	0	0	

\*) Gewöhnliche Gelatine.

e. *Bacillus anthracis* symptomatilis.

Versuchsnummer	Temperatur	Anzahl der Stunden, in welchen sie sich unter II entwickeln	Intensität der Sporenbildung.				Wachstum
			Tageanzahl nach Öffnung der H-Kultur und bei Luftzutritt				
			sofort	1	2	4	
1851	50° C.	48 Std.	0	0	0	—	Kein Wachstum.
1852	„	72 „	0	0	0	—	
1732	ca. 47° C.	26 „	0	0	0	—	
1733	„	36 „	0	0	0	—	
1857	„	72 „	0	0	0	—	
1856	ca. 45,5° C.	14 „	0	I	—	—	Mikroskopisch klar
1731	„	19 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1790	„	21 „	I	—	—	—	
1855	ca. 41,5° C.	10 „	0	—	—	—	Makroskopisch klar
1718	„	12 1/2 „	IV	—	—	—	
1720	„	14 „	I	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1719	„	19 „	III	—	—	—	
1854	ca. 38° C.	14 „	II	—	—	—	Mikroskopische Entwicklung
1714	„	18 „	III	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1713	„	24 „	IV	—	—	—	Schwache Entwicklung
1858	ca. 35° C.	8 „	0	II	—	—	Mikroskopisch klar
1734	„	14 „	I	—	—	—	Schwache Entwicklung
1735	„	22 „	I	—	—	—	
1741	„	23 „	I	III	—	—	
631	34° C. 1)	16 „	III	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
822	34° C. 1)	24 „	III	—	—	—	
1899	27° „	10 Tage	V	—	—	—	Mäßige Entwicklung
1900	22° „	24 „	IV	—	—	—	
398	21° „	24 „	IV	—	—	—	
396	20° „	25 „	IV	—	—	—	
397	19° „	25 „	IV	—	—	—	
1903	17° „	38 „	II	—	—	—	Schwache Entwicklung
60	16° „	10 „	0	0	1	III	
1904	„	38 „	II	—	—	—	
1873	14° „	10 „	0	—	—	—	Sehr schwache Entwicklung
1879	„	38 „	I	—	—	—	
1880	12° „	60 „	0	0	0	0	Mikroskopische Entwicklung
1881	8° „	60 „	0	0	0	0	Kein Wachstum
1882	ca. 0° „	60 „	0	0	0	0	

1) 2 proz. Traubenzucker-Fleischpeptonelatine.



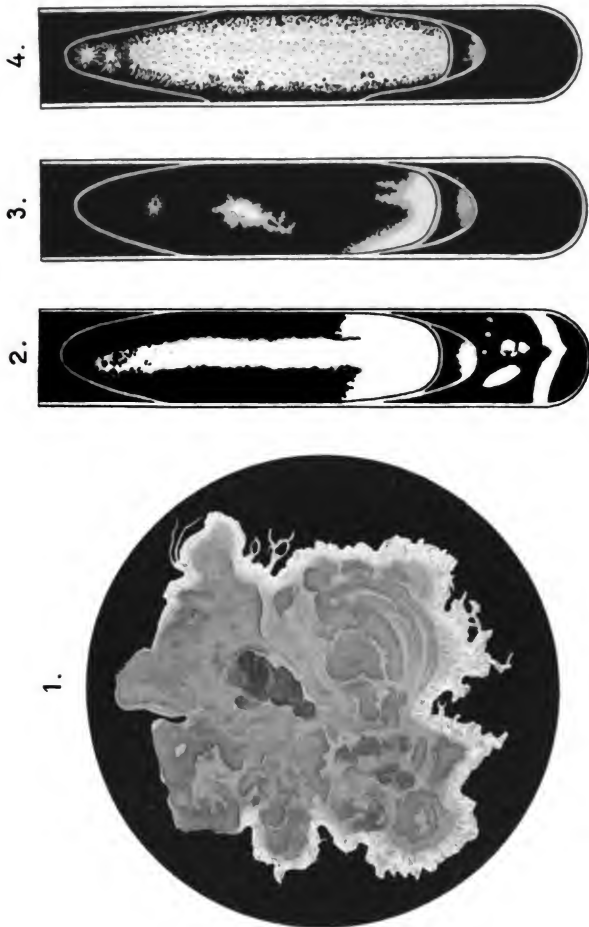
## Erklärung der Abbildungen.

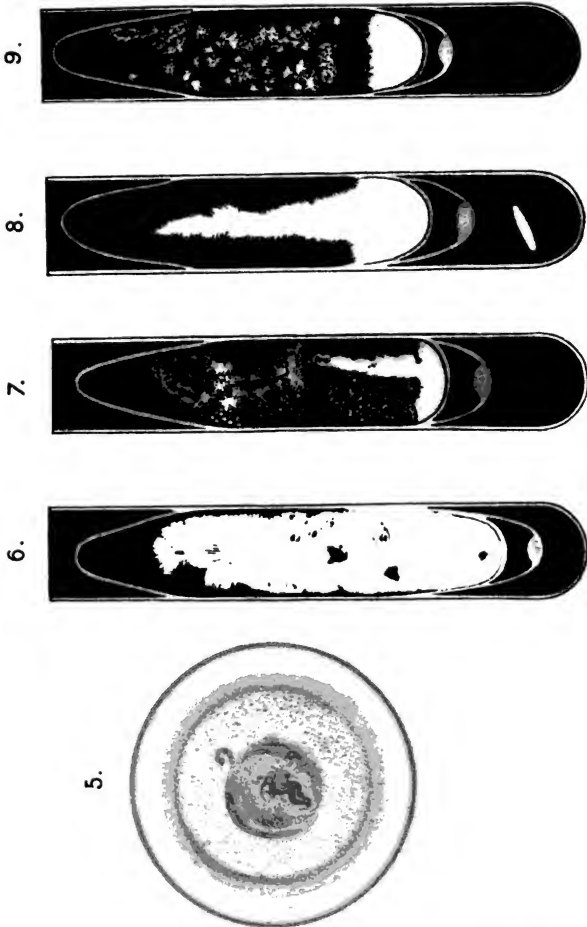
### Tafel I.

- Fig. 1. *Clostridium butyricum*, 10 Tage alte Kolonie auf Gelatineplatte unter Wasserstoff. Vergrößerung = 50 linear.
- Fig. 2. Dasselbe, 2 $\frac{1}{2}$  Tage alte 2proz. Traubenzucker-Agarstrichkultur bei 34° C. und unter Wasserstoff. Vergrößerung = 0 linear.
- Fig. 3. Dasselbe, 16 Tage alte 2proz. Traubenzucker-Agarstrichkultur bei Zimmertemperatur und im Vacuum bei 0,008 ccm Sauerstoffgehalt in 2620 ccm Glockenrauminhalt (S. Versuch 968 in Tabelle VIII f.). Vergrößerung = 0 linear.
- Fig. 4. *Bacillus sporogenes*, Nährboden u. s. w. wie bei Fig. 3.

### Tafel II.

- Fig. 5. *Bacillus X*, 3 Tage alte Kolonie auf Gelatineplatte bei Luftzutritt. Vergrößerung = 50 linear.
- Fig. 6. *Bacillus anthracis symptomatici*, 2 $\frac{1}{2}$  Tage alte 2proz. Traubenzucker-Agarstrichkultur bei 34° C. und unter Wasserstoff. Vergrößerung = 0 linear.
- Fig. 7. Derselbe, 12 Tage alte 2proz. Traubenzucker-Agarstrichkultur bei Zimmertemperatur und im Vacuum bei 0,000 000 44 ccm Sauerstoff- und 620 ccm Wasserstoffgehalt in 2275 ccm Glockenrauminhalt (vgl. Versuch 969 in Tabelle VIII f.). Vergrößerung = 0 linear.
- Fig. 8. *Bacillus oedematis maligni*, Nährboden u. s. w. wie bei Fig. 6.
- Fig. 9. Derselbe, Nährboden u. s. w. wie bei Fig. 7.





1.1

Archiv für Hygiene

v. 42-43

1902

BORROWER'S NAME

May 11 1883

*Neil K. Homage*

7 16 64 W

UNIVERSITY OF MINNESOTA  
biom.per bd.42-43  
stack no.27

Archiv für Hygiene und Bakteriologie.



3 1951 002 726 616 3



Minnesota Library Access Center

9ZAR05D19S02TEC