Untersuchungen
über die bakterizide Wirkung der Radiumemanation
(sowie Beschreibung eines von Prof. K. Prytz konstruierten Apparates
zur Gewinnung der Emanation aus festen Radiumpräparaten).

Von

Privatdozent Dr. med. **Hans Jansen**
in Kopenhagen.

(Hierzu Taf. IV.)

Daß Radiumemanation bakterizide Eigenschaften besitzt, ist von Danysz¹, Kalmann², Dorn, Baumann und Valentiner³, Rheinbold⁴, Dautwitz⁵, Bouchard und Balthazard⁶ nachgewiesen. Kalmann und Rheinbold benutzten Quellwasser und Quellluft. Die anderen Verfasser bedienten sich der Emanation von Radiumpräparaten.

Die Wirkung ist an *Bac. prodigiosus*, *Bac. pyocyaneus*, *Bact. fluorescens*, Choleravibrionen, Milzbrand-, Typhus-, Mäuse-typhus- und Diphtheriebazillen erprobt.

Wachstumsbeschränkung wurde in allen Fällen konstatiert, in einzelnen, wo Emanation aus kräftig wirkenden Radiumpräparaten zur Verfügung

¹ Danysz, De l'action pathogène des rayons et des émanations émises par le radium sur différents tissus et différents organismes. *Compt. rend. de l'acad. des sciences*. 1903. T. CXXXVI. p. 461.

² Kalmann, Ein Beitrag zur Kenntnis der Radiumwirkung von Heilquellen. *Wiener klin. Wochenschrift*. 1905. Nr. 22.

³ Dorn, Baumann u. Valentiner, Einwirkung der Radiumemanation auf pathogene Bakterien. *Diese Zeitschrift*. 1905. Bd. LI.

⁴ Rheinbold, Zur bakteriziden Wirkung radioaktiven Mineralwassers. *Berl. klin. Wochenschrift*. 1906. Nr. 20.

⁵ Dautwitz, Beitrag zur biologischen Wirkung der radioaktiven Uranpecherzrückstände aus St. Joachimsthal in Böhmen. *Zeitschr. f. Heilkunde*. 1906. Bd. XXVII.

⁶ Bouchard et Balthazard, Action de l'émanation du radium sur les bactéries chromogènes. *Compt. rend. de l'acad. des sciences*. T. CXLII. p. 819.

stand, auch Tötung. Die meisten der angeführten Arbeiten sind kurze Mitteilungen über vereinzelte Versuche; nur in Dorn, Baumann und Valentiners Arbeit ist die Frage der bakteriziden Wirkung der Radiumemanation eingehender besprochen. Ihre Versuchsanordnung diente mir teilweise als Vorbild. Sie schalteten diejenigen Kulturen, welche dem Einfluß der Emanation ausgesetzt werden sollten, in ein geschlossenes System von Röhren ein. Die Luft in diesem System wurde mittels eines Doppelgebläses in Zirkulation gesetzt und über die auf schrägen Agar ausgestrichene Kultur hinabgeblasen oder durch eine Bouillonkultur getrieben. An einer Stelle im System befand sich das Radiumpräparat in gelöstem Zustande, und von diesem erhielt die Luft ihren Emanationsgehalt. Die Verfasser stellten nicht fest, wie groß derselbe in den einzelnen Versuchen war, überhaupt beschäftigten sie sich nicht damit, die zur Tötung erforderliche kleinste Dosis zu bestimmen; jedoch ist angeführt, daß 1 Liter der Luft innerhalb 1 Minute 3×10^7 E. S. E. abgeben konnte. (Bei Anwendung von 30 mg Radiumbromid, wovon die Emanation 8 Tage nicht entfernt worden war.)

Durch Aufblasen einer derart stark aktiven Luft mehrmals täglich während einiger Tage (2—3—4) wurden Kulturen von Typhus, Mäusetyphus, Cholera und Diphtherie, frisch gesät auf der Oberfläche schrägen Agars sterilisiert; es entstand aber konstant Wachstum im Kondensationswasser. Durchtreiben der radioaktiven Luft durch Typhusbouillonkulturen konnte die Anzahl der Bakterien auf $\frac{1}{3}$ hinabbringen (nachgewiesen durch Aussaat in Agar), es gelang jedoch nicht, die Bouillon zu sterilisieren.

Etwas ausführlichere Angaben über den Stärkegrad der angewendeten Emanation finden wir bei Bouchard und Balthazard, z. B. hörte die Pigmentbildung von *Bact. fluorescens* bei Einwirkung der sich in 1 Stunde aus 0.0006 mg Radiumbromid entfaltenden Emanation auf. Das Wachstum stockte erst bei einer Emanationsmenge (in 1 Stunde entwickelt) von 0.15 mg Radiumbromid. Kulturen von *Bac. pyocyaneus* wurden durch Einwirkung der in 4 Tagen aus 25 mg Radiumbromid entwickelten Emanation getötet. Leider geben die Verfasser keine nähere Beschreibung der Versuchsanordnung. Dies in Verbindung mit der indirekten Art der Angabe der Emanationsmenge erschwert einen Vergleich dieser Versuche mit den meinigen.

Außer den angeführten Arbeiten mit positivem Resultat gibt es aus dem Jahre 1908 eine einzelne von Suess¹ mit gänzlich negativem Befund.

¹ Suess, Über den Einfluß der Radiumemanation auf Tuberkelbazillen und auf experimentelle Tuberkulose. *Zeitschrift f. Tuberkulose*. 1908. Bd. XII. S. 480.

Indessen verfügt der Verfasser über gar keine Messungen der angewendeten Emanation; in Wirklichkeit weiß er nicht, ob seine Kulturen überhaupt von Emanation beeinflusst sind. Allenfalls kann diese nicht sonderlich stark gewesen sein, da das benutzte Präparat (0.1663^{mg} Radiumchlorid) nur eine Aktivität von 40000 Uraneinheiten auswies. Die wesentlichsten seiner Versuche gelten Tuberkelbazillenkulturen, welche er in 2 Tagen mit der emanationshaltigen Luft behandelte und darauf teils übersäte, teils auf Meerschweinchen einimpfte. Sie erwiesen sich als gänzlich ungeschwächt. Die Versuche wurden noch auf verschiedene Art variiert, im großen und ganzen aber mit demselben negativen Resultat.

Völlig negative Resultate erhielt auch Loewenthal-Braunschweig¹, der Aufschwemmungen von *Bac. prodigiosus* und von *Bact. coli*, sowie von Staphylokokken durch 1 bis 3 Stunden im Brutschrank mit Emanation vorbehandelte (Radiogenwasser mit einem Gehalt von 2000 Volt) und dann zur Aussaat brachte. Loewenthal erklärt die positiven Resultate anderer Autoren einmal mit den viel höheren Emanationsmengen, andererseits mit der dadurch bedingten Ozonentwicklung.

Abgesehen von den hier angeführten, vereinzelt Angaben sind, soviel ich weiß, bisher keine Untersuchungen veröffentlicht über das Verhältnis zwischen der Stärke der angewendeten Emanation und der erzielten Wirkung (auf Bakterien); ebenfalls kein Versuch mit systematisch vorgenommenen Messungen der angewendeten Emanation nach den nun gebräuchlichen Methoden. Da unsere eingehendere Kenntnis dieses Verhältnisses sowohl aus rein theoretischen Gründen wie im Hinblick auf eine eventuelle Anwendung in der Therapie der Radiumemanation von Wichtigkeit ist, habe ich diese Frage in Angriff genommen, was um so leichter fiel, da mir seitens des Hrn. Professors des hiesigen Polytechnikums K. Prytz ein von ihm konstruierter Apparat überlassen wurde, der sich ausgezeichnet zu Untersuchungen dieser Art eignete.

Ich habe versucht, folgende Fragen zu lösen:

1. Wie radiumemanationshaltig muß die Luft sein, um absolut tödend auf eine frisch gesäte Oberflächenkultur wirken zu können?
2. Von wie langer Dauer muß die Einwirkung sein?
3. Welches ist die geringste Dosis Emanation, die eine eben erkennbare Wirkung auf Bakterien hervorruft?

¹ Loewenthal-Braunschweig, Über die Wirkung der Radiumemanation auf den Menschen. 4. Mitteilung. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1910. Nr. 7.

Es ist nur versucht worden, diese Fragen hinsichtlich einer einzigen Bakterienart, nämlich *Bac. prodigiosus*, zu lösen.

Die benutzte Radiumemanation stammt von 16^{mg} Radiumbaryumbromid mit einer Aktivität von 500000 Uraneinheiten. Dieses Präparat liegt in einer aus einer Glas- und einer Ebonitplatte bestehenden Kapsel, welche durch eine Metallfassung zusammengeschoben gehalten wird. Professor Prytz konstruierte den angeführten Apparat, um die Emanation gewinnen zu können, ohne ein Öffnen der Kapsel zu benötigen. Der Apparat ist folgendermaßen eingerichtet (siehe Fig. 1).

Fig. 1.

Schematische Darstellung des Prytzschen Apparates.

A ist ein Metallbehälter mit dicken Wänden; die Vorderwand ist abschraubbar. Die Kapsel mit dem Radiumpräparat wird in diesen Behälter gelegt, und die Vorderwand luftdicht zugeschoben. Von dem Behälter gehen 2 Glasrohre luftdicht aus; das eine R_1 , steht in direkter Verbindung mit einer Prytz-Schlauchpumpe¹ (die saugende Mündung), das zweite Rohr R_2 geht erst aufwärts und darauf in ein 63^{cm} hohes, oben etwas erweitertes Rohr R_3 über; unten biegt dieses Rohr R_3 in einen kleineren Behälter ein, und dieser wird durch einen Schlauch mit der anderen Mündung der Schlauchpumpe in Verbindung gesetzt. Derart bildet das ganze einen geschlossenen Ring, und durch Drehen der Pumpe wird nur die im Behälter und in den Rohren eingeschlossene Luft in Zirkulation gesetzt.

Im Rohr R_3 befindet sich eine Quecksilbersäule.

In der Ruhestellung wird sie, wie auf der Zeichnung vermerkt, teils in dem unteren Bogen liegen, teils in dem Behälter, in welchem dieser Bogen mündet. Beim Pumpen wird die Luft aus dem Behälter A herausgesogen, das Quecksilber wird daher im Rohr R_3 steigen, bis es an die Erweiterung gelangt. Indem die Säule hier verkürzt wird, drängt die Luft unter derselben durch das Quecksilber hinauf, der negative Druck in A und über dem Quecksilber hört auf, und das Quecksilber fällt wiederum zu Boden im Rohr R_3 . Bei fortgesetztem Pumpen wiederholt sich dieser Vorgang unaufhörlich. Auf diese Weise stehen im Behälter A zahlreiche, aufeinanderfolgende Unterdrucke. Ihre Größe hängt von der Höhe der Quecksilbersäule ab; in der Regel betrug diese 22^{cm} .

¹ Beschrieben in *Zeitschrift für Instrumentenkunde*. 1905. S. 193.

Es soll noch hinzugefügt werden, daß sich am Übergang zwischen R_2 und R_3 ein Hahn H_1 mit dreiteiliger Bohrung und einem Seitenrohr befindet. Es lassen sich hier Proben der Apparatluft nehmen, und überdies kann man hierdurch das obere Ende von R_3 mit der saugenden Mündung der Schlauchpumpe in direkte Verbindung setzen und die Luft außen um den Behälter A zirkulieren lassen.

Fig. 2.
Photographie der Gesamtaufstellung.

Liegt die Radiumkapsel an ihrem Platz in A und es wird gepumpt, so geschieht folgendes: Bei jedem Unterdruck wird etwas von der inwendig das Radiumpräparat umgebenden emanationsgesättigten Luft durch die Schraubengewinde der Kapsel hinausgesogen. Da es beständig dieselbe Luft ist, welche zirkuliert, wird diese allmählich mit dem Pumpen emanationsreicher werden.

Wie emanationsreich die Apparatluft zu werden vermag, hängt in erster Instanz von dem Zustand des Radiumpräparates während des betreffenden Zeitpunktes ab. Bekanntlich spaltet Radium unaufhaltsam Emanation ab. Ein Teil derselben verläßt das Radiumpräparat, aber ein Teil häuft sich darin auf. Diese Anhäufung schreitet fort, bis ein gewisser Gleichgewichtszustand erreicht ist. Das Präparat ist dann maximal mit Emanation beladen. Wird diese Ladung verbraucht, so vergeht ungefähr 1 Monat, bevor die maximale Ladung wiederum erreicht ist. Von dieser angehäuften Emanation entnimmt man beim Pumpen mit dem Prytzschen Apparat und wird mithin die emanationsreichste Luft erhalten können, wenn das Präparat maximal beladen ist, und gradweise weniger, je mehr entnommen und je kürzere Zeit seit der letzten Abnahme verstrichen ist.

Wie lange in dem einzelnen Fall zur vollen Gewinnung der ganzen zur Verfügung stehenden Emanationsmenge gepumpt werden soll, ist einigermaßen von der Funktion der Pumpe, namentlich der Häufigkeit des Unterdruckes in der Minute und seiner Größe abhängig; in der Regel geht es aber recht schnell. Versuche ergaben, daß das größte Quantum der Emanation schon nach 4 bis 5 Minuten Pumpen entwichen war; wurde über 15 Minuten hinaus gepumpt, so nahm der Emanationsgehalt der Apparatluft nicht mehr wesentlich zu. Um ganz sicher zu sein, pumpte ich doch gewöhnlich 30 Minuten, wenn ich volle Wirkung wünschte.

Diese Beschreibung läßt uns verstehen, daß die zwischen zwei Entnahmen verstreichende Zeit für das Emanationsquantum von größerer Bedeutung ist, als die Dauer des Pumpens. Durch halbstündiges Pumpen nach z. B. 24 Stunden erhält man dasselbe Emanationsquantum in der Apparatluft, wie bei ununterbrochenem oder wiederholtem Pumpen während dieser 24 Stunden.

Bei der von mir benutzten Versuchsanordnung, wo eine Bakterienoberflächenkultur in den genannten Kreislauf eingeschaltet wurde, zeigte es sich nun, daß die Wirkung bei übrigens derselben Emanationsmenge bei mehrmaligem Pumpen während der Versuchsdauer größer als bei einmaligem Pumpen war. Zuzuschreiben ist diese Erscheinung wahrscheinlich dem direkten Aufblasen und dem Luftwechsel, wodurch die ganze, in der Apparatluft vorhandene Emanation die Kultur passierte, während beim Stehen nach dem Pumpen nur die über der Kultur stehende Emanation auf die Kultur wirkte.

Zum Drehen der Pumpe wurde ein elektrischer Motor benutzt. Die Geschwindigkeit wurde teils durch Rheostat, teils durch Schnürzugübertragung reguliert. Gewöhnlich machte das Rad der Schlauchpumpe etwa

100 Umdrehungen in der Minute, wobei sich das Quecksilber etwa 12 mal hob.

Als Objekt für die Einwirkung der Emanation habe ich *Bac. prodigiosus* benutzt. Ich wählte diese Bakterie, teils weil sie so leicht zu erkennen ist, was die Kontrolle der Reinheit der Kultur leicht macht, teils weil ich aus den so verwandten Versuchen über die bakteriziden Eigenschaften des Lichtes gewohnt gewesen bin mit dieser Bakterie zu arbeiten.

Die Emanation als solche entsendet nur α -Strahlen, welche bekanntlich sehr wenig penetrant sind. Es war demnach von vornherein zu erwarten, daß die bakteriziden Wirkungen der Emanation nicht recht tief gingen, was auch die Versuche von Dorn, Baumann und Valentiner bekräftigen; es zeigte sich bei diesen, daß nur die 2 oberen Millimeter einer Aussaat in Gelatine sterilisiert wurden, unter Einwirkung stark emanationshaltiger Luft über der Kultur. Ich benutzte deshalb Oberflächenkulturen auf folgende Weise.

In sterile Präparatgläser von etwa 10 cm Höhe, etwa 3 cm im Diameter, tat ich etwa 6 cm steriles Agar, welches ich in schräger Stellung gerinnen ließ, so daß die Fläche mit dem Boden einen Winkel von 45° bildete. Diese Fläche besäte ich mit einer 20 bis 24 Stunden alten Bouillonkultur des *Bac. prodigiosus*. Über die Fläche wurde eine bestimmte Anzahl Tropfen der verdünnten Kultur gegossen. Die sich am Fuße der Fläche sammelnde überschüssige Flüssigkeit saugte ich unter Anwendung einer sterilen Pasteurpipette fort. (Dies geschah aber nicht in den ersten Versuchen.)

Das Versuchsglas wurde darauf mit einem doppelt durchbohrten Gummipfropfen geschlossen. Durch das eine Loch führte ein Glasrohr tief hinab ins Glas, so daß die Mündung nur 1 bis 2 cm über der Mitte der Agarfläche zu liegen kam. Durch die andere Bohrung ging ein kurzes Rohr nur gerade hindurch. Die freien Enden der Rohre waren mit Gummischläuchen und Klemmhähnen versehen.

Das so präparierte Versuchsglas schaltete ich zwischen dem von der Schlauchpumpe führenden Ende und dem Emanator ein; der Luftstrom wurde durch das lange Rohr geleitet und also beim Pumpen direkt hinab über die Kultur geblasen. Die Luft passierte ein Wattefilter. Nach beendigtem Pumpen wurden die Klemmhähne zugeschraubt, und das Versuchsglas konnte herausgenommen und in den Thermostat gesetzt werden (24°). In einer bestimmten Reihe Versuche wurde die Emanation nach einer gewissen Zeit durch Durchsaugen frischer Luft entfernt, und den Gummipfropfen ersetzte ein Wattepfropfen. In mehreren Versuchen

wurden gleichzeitig zwei Versuchsgläser hintereinander eingeschaltet. Nach beendigter Behandlung wurde die Emanation aus dem einen, nicht aus dem anderen entfernt. In den Fällen wo im Laufe von 24 bis 48 Stunden wiederholt gepumpt wurde, blieben die Versuchsgläser im Apparat stehen, also bei Stubentemperatur.

Zu jedem Versuch wurde aus derselben Kulturverdünnung ein Kontrollglas auf vollkommen gleiche Weise zubereitet. Dieses wurde auch mit dichtschießendem Gummipfropfen versehen.

Die Messung des Emanationsgehaltes oder der Radioaktivität der Luft geschah mittels eines Sievekingschen Fontaktoskopes.¹ Da dieses Fontaktoskop sehr empfindlich ist, weil es zur Messung der recht kleinen Mengen Emanation dient, welche in Quellen vorkommen, durfte ich nur kleine und eventuell verdünnte Proben der Luft des Apparates einführen.

Diese Luftproben wurden durch Saugen mit einer Lüerschen 10^{ccm} Glasspritze durch das Seitenrohr *S* und den Hahn *H* entnommen. In der Regel wurde 1^{ccm} der Apparatluft in der Spritze mit 9^{ccm} gewöhnlicher Luft verdünnt und davon nur die Hälfte in das Fontaktoskop eingeführt, also nur $\frac{1}{2}$ ^{ccm} Apparatluft. Bei weniger aktiver Luft wurde 1 oder sogar 2 bis 4^{ccm} der unverdünnten Apparatluft eingeblasen.

Die Luftprobe wurde durch das Mundstück unten am Fontaktoskop eingeblasen, das mit aufgesetztem und geladenem Elektroskop dastand. Die Aluminiumblätter begannen augenblicklich zusammenzufallen, und in der Regel wurde das Elektroskop in weniger als 1 Minute entladen. An der eingeteilten Skala des Elektroskops ließ sich z. B. der Zusammenfall in $\frac{1}{2}$ Minute ablesen. Nach einer Tabelle wurden die erhaltenen Werte in Volt umgesetzt und diese durch Multiplizieren zur Gültigkeit für 1^{ccm} und 1 Stunde umgerechnet. Die derart gefundenen Zahlgrößen lagen in der Regel hoch in den Tausenden.

Gegenüber diesen schnellen Entladungen spielte der Normalverlust des Elektroskops gar keine Rolle, weshalb ich ihn gewöhnlich bei der Ausrechnung unberücksichtigt ließ — er soll subtrahiert werden. Ich überzeugte mich nur immer, ob die Blätter vor dem Versuche in Ruhe waren. Durch schnelles Arbeiten und sofortige Entfernung der zugeführten Emanation durch Auffüllen von Wasser, gelang es mir trotz sehr zahlreicher Messungen, den Normalverlust des Apparates auf einem Minimum zu halten (um 50 Volt per Stunde herum).

¹ Sieveking, Über einen neuen Apparat zur Bestimmung der Radioaktivität der Thermalquellen. *Phys. Zeitschrift*. 1905. Bd. VI. S. 700.

Die gefundenen Werte von mehr als 10000 Voltverlust rundete ich auf ganze Tausend ab, da die Differenzen von einigen Hundert absolut keine Rolle spielten, und die Messungen selbst — der hohen Zahlen wegen — die Möglichkeit für Fehler derselben Größe nicht ausschlossen. Diese abgerundeten Angaben von Voltverlust per 1^{cem} und Stunde, habe ich schließlich in Machееinheiten umgerechnet, d. h.: elektrostatische Einheiten multipliziert mit 1000. Dies geschah nach der Formel: $\frac{V}{300} \cdot \frac{13 \cdot 8}{3600} = \text{E. S. E.}$, wo 13·8 eine für das betreffende Fontaktoskop geltende konstante Größe ist, 300 = 1 E. S. E., 3600 = Sekunden 1 Stunde. Durch dieses Umrechnen erhalten die Zahlen konstanten Wert, unabhängig vom Meßinstrument.

Die Untersuchungen über die 3 in der Einleitung aufgeworfenen Fragen sind durcheinander im Laufe der letzten 1 $\frac{1}{2}$ Jahre ausgeführt. Hier habe ich jedoch die Versuche in drei Gruppen, den drei Fragen entsprechend, geordnet und sie tabellarisch aufgestellt. In einigen Fällen sind Versuche der Gruppen I und II gleichzeitig gemacht, indem ich gleichzeitig zwei Versuchsgläser in die Pumpe einschaltete. Die Emanation wurde dann nach einiger Zeit von dem einen Glas entfernt, nicht von dem anderen. So gehören folgende Versuche zusammen: Gruppe I, Nr. 5 und II, Nr. 6, Gruppe I, Nr. 8 und II, Nr. 7.

Gruppe I (siehe S. 144). Vor allem besagen diese Versuche, daß *Bac. prodigiosus* von Radiumemanation getötet werden kann. Jedoch ist die sterilisierende Fähigkeit der Emanation — in den angewendeten Stärken — nicht sonderlich groß. Die Emanation vermochte nur mit der ganz dünnen Schicht frisch gesäter Kulturen fertig zu werden. Es gelang nicht, das Kondensationswasser zu sterilisieren (analog den Versuchen von Dorn, Baumann und Valentiner). Die gerade erforderliche Dosis zur Sterilisation der Agarfläche lag bei 345 Machееinheiten (27000 Voltfall pro Stunde) pro 1^{cem} Luft; sie genügte aber nur, wenn das Pumpen (Aufblasen) einigemale wiederholt wurde, selbst wenn die Dosis schließlich etwas sank, während bei einer einzelnen Pumpperiode die Randpartien nicht vollständig sterilisiert wurden. Die sicher tödliche Dosis für eine Oberflächenkultur von *Bac. prodigiosus* kann man nach diesen Versuchen auf ca. 400 Machееinheiten (ca. 32000 Voltfall pro Stunde) pro 1^{cem} der Luft setzen, welcher die Kultur exponiert ist.

[Zu jedem dieser Versuche wurde ein Kontrollglas ganz gleich dem Versuchsglas zubereitet. Verschließung mit Gummipfropfen. In allen Fällen entstand gleichmäßiges Wachstum mit blaß graulichrotem Pigment über der ganzen Fläche. (Die Unvollständigkeit der Pigmentation ist dem hermetischen Abschluß zuzuschreiben.)]

Gruppe I.

Untersuchungen über Frage 1: wie radiumemanationshaltig die Luft sein muß, um auf eine frisch gesäte Oberflächenkultur von *Bac. prodigiosus* absolut tödend wirken zu können. Die Emanation blieb in diesen Versuchen über der Kultur stehen. Die Versuche sind nach der Stärke der Einwirkung geordnet.

Nr	Versuchstag	Pumpen		Emanationsdosis pr. com Luft		Resultat	
		Male	im ganzen	Vollfall pro Stunde	Macheinheit	2 Tage nach der Aussaat	3 Tage nach der Aussaat
1	2. X. 1909	1	30 Min.	20 000	255	Oberstes Drittel der Agarfläche steril; der Rest von einer teils ungefärbten, teils schwach pigmentierten Haut bedeckt	Auf der gestern sterilen Fläche verteilt stehende unpigmentierte Kolonien
2	22. III. 1909	1	15 Min.	24 000	306	Die sterile Fläche etwas größer, sonst wie 1	Oberhälfte hielt sich steril
3	17. III. 1909	1	30 Min.	25 000	319	Oberer $\frac{3}{4}$ Teil d. Fläche steril. Fast die ganze Fläche steril, nur unten ein unpigmentiert. Besatz v. ca. 2^{mm}	Vom Kondensationswasser eine dünne Haut nach oben über den unteren Teil der Fläche
4	2. IV. 1909	1	15 Min.	27 000	345		
5	26. XI. 1909	7 auf 1 Tag verteilt	1 $\frac{3}{4}$ Std.	22 000 ¹ 27 000 ² 12 000 ³	291 345 153	Die ganze Fläche steril, aber Wachstum im Kondensationswasser	Die ganze Fläche steril, aber Wachstum im Kondensationswasser
6	26. XI. 1908	8 verteilt auf 3 Tage	1 $\frac{1}{4}$ Std.	nicht gemessen (sicher > 30 000)			
7	11. XI. 1908	9 verteilt auf 3 Tage	2 Std.	ca. 32 000	ca. 400	Die ganze Fläche steril, kein Kondensationswasser	Die ganze Fläche steril, aber Wachstum im Kondensationswasser
8	29. XI. 1909	6 verteilt auf 2 Tage	1 $\frac{1}{2}$ Std.	48 000 ⁴ 90 000 ⁵ 42 000 ⁶	613 1150 553		Einige minimale häutenartige Flecken am Rande (Wachstum?) Die Fläche selbst unverändert steril

¹ Messung nach 2., ² nach 5. und ³ nach 6. Pumpen. Das Sinken auf 12 000 ist dem Umstand zuzuschreiben, daß in der kurzen Zeit zwischen den zwei Luftprobenentnahmen nicht genügend Emanation zum Ersatz der entfernten gebildet war. ⁴ Messung 30. XI. nach 3., ⁵ 1. XII. nach 5. und ⁶ einige Stunden später nach 6. Pumpen. Das Sinken ist auf Probeentnahme zurückzuführen.

Kultur
nicht in dem
Thermostat
desgl.

Gruppe II.
 Untersuchungen über Frage 2: wie lange die Einwirkung der Radiumemanation (in Dosen von 319 bis 1150 Macheinheiten pro cem Luft) erforderlich ist, um eben sichtbare Wirkung, bzw. Tötung von Bac. prodigosus hervorzurufen. Die Emanation wurde also in diesen Versuchen früher oder später von der Kultur entfernt und die Gläser mit Wattepfropfen versehen. Die Versuche sind nach der Dauer der Einwirkung geordnet.

Nr.	Versuchs- tag 1909	Pumpen		Emanationsdosis pr. cem Luft		Emanation entfernt nach Ablauf von	R e s u l t a t		
		Male	im ganzen	Voltrfall pro Stunde	Mache- einheiten		2 Tage n. d. Aussaat	3 Tage n. d. Aussaat	
1	26. III.	1	30 Min.	60 000	766	0 Stunden	Wachstum wie in der Kontrolle.		
2	14. IV.	1	10 Min.	25 000	319	1 1/2 "	Wachstum nicht ganz so dicht wie i. d. Kontrolle		
3	29. XII.	1	30 Min.	88 000	1124	3 "	Nicht zusammenhängendes Wachstum, aber dicht- stehende Kolonien über der ganzen Fläche		
4	15. XII.	2 verteilt auf 6 Stunden	1 Std.	70 000	894	6 "	ca. 70 unpigmentierte Kolonien über die ganze Fläche verteilt, außerdem dichtstehende Randkolonien	Alle Kolonien nun rot	
5	11. XII.	3 verteilt auf 12 Stunden	1 1/2 Std.	44 000	562	12 "	Zahlreiche kleine unpigmen- tierte Kolonien auf der unteren Hälfte der Fläche, keine auf der oberen	Die Kolonien nun alle rot und größer, auch einzelne in der oberen Hälfte	
6	26. XI.	7 verteilt auf 1 Tag	1 3/4 Std.	22 000 27 000 12 000	281 345 153	24 "	Die ganze Fläche steril. Kein Kondensationswasser	Die Fläche hält sich steril, nur längs des Randes unten u. einen Teil auch oben eine Linie dünn. rot. Streifen	
7	29. XI.	6 verteilt auf 2 Tage	1 1/2 Std.	48 000 90 000 42 000	613 1150 553	48 "	Die ganze Fläche steril, aber etwas Wachstum auf der Seite des Agars, das sich etwas vom Glas herabgezogen hatte (vor dem Versuch).	Wie gestern (die Fläche hält sich in den folgenden Tagen steril).	
8	8. XII.	7 verteilt auf 2 Tage	1 3/4 Std.	85 000 ¹ 60 000 ²	1086 766	50 "			

¹ Messung 9. XII. nach 3. und ² 10. XII. nach 7. Pumpen.

Gruppe II (siehe S. 145). Das Resultat dieser Versuche ist, daß die Radiumemanation — in den angewendeten Dosen — keine momentane Wirkung besitzt. Im Gegenteil scheint ein relativ lang dauerndes Einwirken notwendig zu sein. Trotz 3stündiger Behandlung mit einer sehr stark radioaktiven Luft entstand nur eine eben sichtbare Wachstumsstockung. Wiederholtes Pumpen in 12 und 24 Stunden mit Dosen, welche absolute Tötung ergaben, wenn die Emanation über der Kultur stehen blieb, hatte hier, wo die Emanation entfernt wurde, nur eine teilweise Sterilisation zur Folge, indem einzelne Kolonien verteilt über die Agarfläche hervorkeimten. Erst nach 48stündiger Einwirkung einer Luft, deren Radioaktivität um 766 Machееinheiten pro Kubikzentimeter schwankte (60000 Voltfall in der Stunde), wurde absolute Sterilisation der ganzen Fläche erzielt.

Nach diesen Versuchen ist die Bedeutung einer lange dauernden Einwirkung zweifellos, und, falls die Kulturen während der Dauer der Behandlung mit Emanation nicht in geschlossenen Räumen gehalten würden, müßte die Einwirkung sich wahrscheinlich über eine noch längere Zeit erstrecken. Der Luftabschluß der Kulturen ist ja, woran man immer erinnern muß, ein leicht schädliches Moment, wie es auch an der schlechten Pigmentation in den Kontrollkulturen zu ersehen ist. Eine Nichteinschließung der Kulturen würde ungemeine Mengen Emanation erfordern.

[Zu jedem dieser Versuche wurde ein Kontrollglas, ganz gleich dem Versuchsglas, zubereitet. Sie waren mit Gummipfropfen geschlossen in derselben Zeit, wie die Emanation in den Versuchsgläsern stand. Es entstand in allen ungefähr gleichmäßiges Wachstum mit kräftig rotem Pigment über der ganzen Fläche.]

Gruppe III (siehe S. 147). Diese Versuche zeigen, daß die Aktivität stillstehender Luft zur Hervorrufung einer eben sichtbaren Wirkung wenigstens 127.5 Machееinheiten im Kubikzentimeter Luft (10000 Voltfall in der Stunde) repräsentieren muß.

[Die Versuche 7 und 8, eine Folge des Versagens der Pumpe, scheinen dafür zu sprechen, daß sich diese Dosis etwas reduzieren läßt, wenn die Luft wiederholt und längere Zeit über die Kultur geblasen wird.]

[Zu jedem dieser Versuche wurde ein Kontrollglas, ganz gleich dem Versuchsglas zubereitet. Abschluß mit Gummipfropfen. In allen Fällen ungefähr gleichmäßiges Wachstum mit blaß graulichrotem Pigment.]

Ferner geht teils aus diesen Versuchen (Nr. 5, 6, 7 und 8), teils aus den Versuchen 1 bis 5 in Gruppe I und 5 bis 6 in Gruppe II hervor, daß die Fähigkeit des *Bac. prodigiosus*, Pigment zu bilden, von der Radiumemanation beeinflußt wird. Wohl verringerte die Einschließung mit ihrer daraus folgenden weniger guten Aufnahme von

Gruppe III.

Untersuchungen über Frage 3: welches ist die geringste Dosis Emanation, die eine eben erkennbare Wirkung auf *Bacillus prodigiosus* hervorruft? Die Emanation blieb in diesen Versuchen über den Kulturen stehen. Die Versuche sind nach dem Stärkegrad der Einwirkung geordnet.

Nr.	Versuchstag	P u m p e n		Emanationsdosis pro ccm Luft		R e s u l t a t 2 Tage nach der Aussaat	B e m e r k u n g e n
		Male	im ganzen	Vollfall pro Stunde	Mache- einheiten		
1	10. XII. 1908	1	10 Min.	ca. 2 000	25·5	Wachstum wie in der Kontrolle.	—
2	23. IX. 1909	2	30 "	2 000	25·5	" " " "	—
3	17. XII. 1909	1	5 "	4 000	51	" " " "	—
4	4. I. 1910	1	15 "	6 500	82	" " " "	In diesen 2 Versuchen wurde die Luft, nachdem sie mit der passenden Menge Emanation vom Behälter A gesättigt war, durch Drehen des Hahnes H außen um den Behälter geführt.
5	10. I. 1910	1	15 "	10 000	127·5	Etwas dünneres Wachstum und schwächere Pigmentation als in der Kontrolle.	
6	13. I. 1910	1	15 "	12 500	159	Deutlich dünneres Wachstum als in der Kontrolle. Nur Andeutung von Pigment.	—
7	20. X. 1909	4 verteilt auf 1 Tag	1 1/2 Stunde	7 000	89	Bedeutend dünneres Wachstum als in der Kontrolle. Nur Pigment in einem Halbmond nach innen.	Daß die Dosis trotz des vielen Pumpens so klein wurde, ist dem Umstand zuzuschreiben, daß die Schlauchpumpe nicht gut fun- gierte und kaum ganz dicht war.
8	5. X. 1909	6 verteilt auf 12 Stunden	1 1/2 "	8 000	102	Zerstreut unpigmentierte Kolonien über dem größten Teil der Fläche. Nur in einem Halbmond nach unten, zusammenhängendes Wachstum.	

Sauerstoff die Pigmentbildung, was, wie erwähnt, in sämtlichen Kontrollgläsern zur Gruppe I und III zu sehen war; trat aber die Emanation hinzu, so konnte die Pigmentbildung vollständig aufhören, und man erhielt ganz farblose Kolonien oder Wachstumsinseln. Hörte die Einschließung auf, wie in Gruppe II, so hörte auch die Hemmung der Pigmentation auf; die Kolonien wurden allmählich vollkommen rot. Bouchard und Balthazard schreiben (in der früher zitierten Arbeit) über *Prodigiosus*, daß die trotz Einwirkung der Emanation auswachsenden Bakterien ungeschwächte Pigmentation besitzen. Bezüglich dieses Punktes kann ich diesen Verfassern nicht beistimmen.

Übrigens ist das gefundene Verhältnis ja keineswegs merkwürdig; denn, wie es scheint, wird jedes auf das Wachstumsverhältnis von *Bac. prodigiosus* hemmend einwirkende Agens auch auf dessen Pigmentation influieren; man weiß es von Wärme, Licht, Sauerstoffmangel, Giftstoffen u. dgl.

Die Versuchsergebnisse werden vorzüglich durch die beigefügten halb-schematischen Zeichnungen (vgl. Taf. IV, Fig. 1 bis 8) einer Anzahl Kulturen illustriert:

Fig. 1 und 4 zeigen zwei Kontrollkulturen, bzw. zur Gruppe I und Gruppe III, wo die Gläser verschlossen und die Pigmentierung deshalb weniger vollkommen, und zur Gruppe II gehörend, wo die Pigmentierung unbeschädigt war.

Fig. 2 zeigt Versuch 1, Gruppe I; man sieht das dünne hautähnliche Wachstum, das immer bei den Fällen mit nicht genügend intensiver Einwirkung entstand.

Fig. 3 zeigt die vollständige Sterilisation der Agarfläche, die in Versuch 8, Gruppe I durch 2 tägige Einwirkung von Luft mit ca. 60000 Emanationseinheiten pro Kubikzentimeter erreicht wurde.

Fig. 5, 6 und 7 gehören zu Gruppe II und zeigen die verschiedenen Stadien nach der Dauer der Einwirkung. Fig. 5 zeigt (Versuch Nr. 4), wie wenig eigentlich trotz 6 stündiger Einwirkung einer stark radioaktiven Luft erreicht ist. In Fig. 6 (Versuch Nr. 6) ist man zwar um etliches weiter gekommen, aber die Fläche ist doch noch lange nicht steril, trotz 24 stündiger Einwirkung. Erst nach 48 stündiger Einwirkung einer Luft mit ca. 60000 Emanationseinheiten pro Kubikzentimeter ist es gelungen, eine vollkommen sterile Fläche zu bekommen, wie es Fig. 7 (Versuch Nr. 7) zeigt, längs den Kanten aber sieht man noch Spuren von Wachstum.

Schließlich repräsentiert Fig. 8 ein Bild des wesentlichsten Versuches in Gruppe III, nämlich Nr. 5; wir sehen leichte Pigmentschwächung und vielleicht etwas dünneres Wachstum als Folge eines Gehalts von 10000 Emanationseinheiten pro Kubikzentimeter der über der Kultur stehenden Luft.

Um zu untersuchen, ob nicht die Versuchsanordnung (abgesehen von der besprochenen Einschließung) eine schädliche Einwirkung auf die Kultur hatte, machte ich folgende Kontrollversuche.

1. Durchsaugen gewöhnlicher Luft gleichzeitig mit dem Pumpen. Kulturen, wie gewöhnlich zubereitet, wurden mit einer Wasseraugpumpe in Verbindung gesetzt, so daß die Luft in das lange Rohr hineinging und direkt hinab auf die Kultur. Das Wachstum war ebenso üppig wie in nicht behandelten Gläsern, und doch war die Möglichkeit der Eintrocknung hier größer als im Versuch, wo mit abgeschlossener und überdies absichtlich feucht gehaltener Luftmenge gearbeitet wurde.

2. Einwirkung von Quecksilberdämpfen ebenso wie im Versuch.

A priori ist nichts darüber bekannt, inwiefern Quecksilberdämpfe bei Stubentemperatur schädlich auf Bakterien einwirken. Um es doch zu prüfen und überhaupt einige Kulturen einer ganz entsprechenden Behandlung nur mit Ausschließung der Radiumemanation auszusetzen, stellte ich mir einen Apparat zusammen gleich dem Prytzschen und mit einer anderen Schlauchpumpe, die mir gütigst von Finsens med. Lichtinstitut überlassen wurde. Die Kultur, welche in diesem Apparat im ganzen 2 Stunden behandelt wurde, auf ein paar Tage verteilt, wuchs vollständig unbeeinflusst aus. Dasselbe Resultat ergab ein Versuch, den ich einmal mit meinem gewöhnlichen Apparat vornehmen konnte, da er unbenutzt und ohne Radiumpräparat 4 Monate lang gestanden hatte. Nach einer gründlichen Auslüftung der Rohre zeigte die Apparatluft alsdann nur eine ganz verschwindende Aktivität.

Die in der Tabelle ausgeführten Resultate lassen sich deshalb nur dem Vorhandensein der Radiumemanation zuschreiben.

Die Wirkung beruht nicht auf einer Veränderung des Nährsubstrates. Dies bewiesen schon die zahlreichen Fälle, wo ein Teil der Agarfläche nach Beendigung des Versuches vom Kondensationswasser infiziert wurde. Außerdem ersah man es aus folgendem Versuch:

Ein Glas mit Agar, ebenso wie gewöhnlich zubereitet, aber ohne Bakterien, wurde gleichzeitig mit dem Versuchsglas des Versuches Nr. 8 Gruppe II in die Pumpe eingeschaltet; 24 Stunden nach der Entfernung der Emanation wurde die Agarfläche besät, und es entstand gänzlich ungeschwächtes Wachstum.

Wahrscheinlich ist die Bakterizidität eine direkte Wirkung und in erster Linie den von der Radiumemanation selbst entsandten α -Strahlen zuzuschreiben; hinzu tritt aber sicher auch eine Einwirkung der weniger aktiven festen Stoffe, Radium A, B, C, D, E und F, die sich wie ein Beschlag auf alle Wände des Behälters setzen und demnach auch auf die Kultur. Vielleicht erhält die Kultur etwas mehr dieses Beschlages, wenn die Luft geradezu über sie hinabgeblasen wird; man versteht dann leicht die Bedeutung des häufig wiederholten Pumpens. Eine indirekte Wirkung z. B. durch Ozonbildung aus dem Sauerstoff der Luft ist jedoch nicht auszuschließen; hierüber geben diese Versuche an und für sich keine Aufklärung.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. IV.)

Halbschematische Darstellung der Wirkungen von Radiumemanation
auf *Bacillus prodigiosus*.

Fig. 1 u. 4 dienen zur Kontrolle; in betreff der übrigen Figuren siehe S. 148.