Methode der bacteriologischen Luftuntersuchung.

Von

Percy F. Frankland, Ph. D.,

Demonstrator and Lecturer on Chemistry in the Normal School of Science and Royal School of Mines,
London.

(Hierzu Taf. VI).

Am Schluss seiner Abhandlung „Ueber eine neue Methode zum Nachweis von Bacterien in der Luft“,¹ welche in dem letzten Hefte dieser Zeitschrift erschienen ist, fügt Herr Dr. Petri eine nachträgliche Anmerkung über eine von mir auf ähnlichem Gebiete früher veröffentlichte Arbeit² hinzu. Es ist mir nicht möglich, diese Anmerkung ohne eine Erwiderung zu lassen, denn Dr. Petri macht darin die zweifellos auf einem Irrthum beruhende Bemerkung, dass im Winter 1885/86, als ich durch die gütige Genehmigung des Hrn. Geheimrath Prof. Koch den grossen Vortheil hatte, im Laboratorium des hygienischen Institutes zu Berlin zu arbeiten, er mir seine „Vorversuche“ gezeigt habe. Weiter hebt er es besonders hervor, dass dieser Umstand in meiner Arbeit nicht erwähnt ist, und erkennt es nur an, dass es mir gelungen ist, „die Anfänge meiner damaligen Versuche zu einer Methode auszuarbeiten.“

Herr Dr. Petri hat offenbar vergessen, dass in der kurzen Zeit, die ich mit ihm im Berliner Laboratorium zugebracht habe, er ganz besonders und sehr natürlich darauf verzichtet hat, mir seine Resultate zu beschreiben, da dieselben noch unveröffentlicht waren, und ich habe Berlin verlassen, ohne Weiteres zu wissen, als dass Herr Dr. Petri mit der Ausarbeitung einer neuen Methode der bacterioskopischen Luftuntersuchung beschäftigt sei, und dass er sich dabei einer Luftpumpe und ausgeglühten Sandes bediene. Da meine Kenntnisse nur diese sehr beschränkte Ausdehnung erreicht hatten, fing ich, als ich Anfang Januar

¹ *Diese Zeitschrift*. Bd. III. Hft. 1. S. 1—145.

² *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*. Vol. 178 (1887). B. 113—153.

1886 in London wieder ankam, eine längere Versuchsreihe über die Vertheilung der Mikroorganismen in der Atmosphäre an, und bediente mich bei meinen Experimenten ausschliesslich der wohlbekannten Methoden von Koch und Hesse. Die Ergebnisse dieser Untersuchung wurden vor der Royal Society¹ im Juni 1886 veröffentlicht. Da ich während dieser Untersuchung auf gewisse Unvollkommenheiten in der Hesse'schen Methode gestossen war, entschloss ich mich, eine eigene Methode auszuarbeiten, in der wo möglich diese Unvollkommenheiten beseitigt werden sollten. Als Ausgangspunkt meiner Methode nahm ich die vor Jahren von Miquel und Freudenreich gemachte Beobachtung, dass die Mikroben der Luft sich sehr erfolgreich auf kleine aus Glaswolle bestehende Filterpfröpfe ansammeln lassen, und mit solchen Filtern hatte ich schon im Herbst 1885, ehe ich Berlin besuchte, einige Experimente gemacht. Die Art und Weise, in der ich die Miquel'sche Methode weiter entwickelt habe und für den Gebrauch fester Nährböden umgearbeitet, ist mit allen Details in meiner vorerwähnten Abhandlung wiedergegeben. Die dort beschriebene Entwicklung sowohl, als die schliessliche Form, die mein Verfahren angenommen hat, beweisen in eclatantester Weise, wie gänzlich unabhängig von den Petri'schen Experimenten, auch wenn ich mit denselben vertraut gewesen, was nicht der Fall war, der Gang meiner Untersuchung gewesen ist. Wie ich in meiner Arbeit erwähnt, erhielt ich die allerwesentlichste Hülfe zur Vollendung meiner Methode durch die Veröffentlichung der Esmarch'schen Modification des Koch'schen Plattenverfahrens, die sich in so vielen Richtungen von ganz ausserordentlicher Nützlichkeit schon bewiesen hat.

Für diejenigen Leser, denen meine neue Methode der bacterioskopischen Luftuntersuchung noch nicht bekannt ist, füge ich hier eine kurze Schilderung dieser Methode bei, ehe ich weiter die Resultate der Petri'schen Arbeit erörtere.

Die Methode besteht wesentlich in der Aspiration eines bestimmten Volums Luft durch eine kleine Glasröhre, die mit zwei sterilen Filterpfröpfen versehen ist; die letzteren bestehen entweder aus Glaswolle allein, oder aus Glaswolle und feinem Glaspulver, oder aus Glaswolle mit Zucker überzogen, oder auch aus verzuckerter Glaswolle und Zuckerpulver. Diese Filterpfröpfe werden so in dem Röhrchen angebracht, dass das erste, durch welches die Luft zu streichen hat, durchlässiger ist als das zweite, welches nur zur Controle des ersten Filters dienen soll. Um dieses zu bewerkstelligen, wird das erste Filter-

¹ *Proceedings of the Royal Society.* Nr. 245 (1886). p. 509—526. — *Ebenda.* Vol. XLII (1886). p. 267—282.

pfröpfchen gewöhnlich nur aus Glaswolle construiert, während die Dichtigkeit des zweiten Filters durch eine dünne Schicht Glas- oder Zuckerpulver vergrößert wird. Nachdem das bestimmte Volum Luft mittelst einer geachteten Handluftpumpe durchgesaugt worden ist, werden die zwei Filterpfropfe jedes in einen eigenen Kolben übertragen, der mit einem passendem Quantum steriler, bei 30° C. verflüssigter Nährgelatine versehen ist. Der Filterpfropf wird dann mit der flüssigen Gelatine tüchtig

Fig. 1.

Das Filterröhrchen ($\frac{2}{3}$ der natürlichen Grösse).

- A Eintrittsstelle der durchgesaugten Luft.
- B Austrittsstelle der durchgesaugten Luft.
- a Erster Filterpfropf, aus Glaswolle bestehend.
- b Zweiter Filterpfropf, aus Glaswolle und Glaspulver bestehend.
- c Baumwollener Pfropf, um die Rückseite von b zu schützen.

Fig. 2.

Zusammenstellung des Apparates zur Entnahme der Luftprobe.

- AB Das Filterröhrchen.
- C Bleirohr von etwa 10 Fuss Länge.
- D Quecksilbermanometer.
- E Handluftpumpe.

umgeschüttelt, bis er vollständig auseinander gegangen ist, was sich sehr leicht bewerkstelligen lässt, auch ohne dass Schaum und Luftblasen sich bilden, wenn geschickt manipulirt wird. Alsdann wird das Gemisch aus dem zertrümmerten Filterpfropfen und der Nährgelatine als dünner und gleichmässiger Belag über der inneren Wand des Kolbens mittelst Umdrehung in einem kalten Wasserstrom zum Erstarren gebracht. Die inwendig belegten Kolben werden dann bei einer Temperatur von 22° C.

aufbewahrt, und die Colonieen, die aus den in den Filterpfropfen enthaltenen Keimen sich entwickeln, können dann leicht gezählt und untersucht werden.

Die umstehenden Figuren, sowie Taf. VI, dienen zur Erläuterung der obigen Beschreibung der Methode.

Es wurden eine grosse Anzahl Experimente ausgeführt, um die Genauigkeit der Methode zu prüfen. Bei dieser Prüfung stellte es sich heraus, dass in fast jedem Falle sämtliche Luftkeime von dem ersten Filterpfropf zurückgehalten wurden, und in den seltensten Ausnahmefällen lieferte der zweite Pfropf bei der Cultur mehr als eine einzige Colonie.

Bei Versuchen, die mit der Hesse'schen Methode angestellt wurden, zeigte es sich, dass im Freien öfters, besonders bei bewegter Luft, wenn zwei Hesse'sche Röhren neben einander aufgestellt werden, und durch die eine Luft wie gewöhnlich aspirirt wird, von der anderen aber, die als Controlröhre dient, nur die äussere Gummikappe abgenommen wird, ohne dass man Luft hindurchsaugt, auf der Controlröhre eine beträchtliche Anzahl Colonieen zur Entwicklung kamen.

Durch dieses Ergebniss wird die quantitative Zuverlässigkeit der Hesse'schen Methode bei bewegter Luft sehr beeinträchtigt, da man in solchem Falle es offenbar nicht nur mit den Mikrobien der aspirirten Luftmenge zu thun hat, sondern da man alsdann auch solche, die durch Luftzüge in die Röhre hineingeweht sind, mitrechnet. Bei meiner Methode hingegen gelangen, wenn eine ähnliche Probe angestellt wird, so dass neben einander zwei Röhrchen exponirt werden, die eine mit und die andere ohne Aspiration, nur äusserst selten irgend welche Keime in das ohne Aspiration arbeitende Control-Filterröhrchen, und in keinem Falle mehr als ein verschwindend kleiner Bruchtheil von der Zahl, die sich in dem mit Aspiration functionirenden Filterröhrchen ansammeln. Die Bewegung der Luft beeinträchtigt daher die Genauigkeit der Resultate bei meiner Methode gar nicht. Indessen bei stiller Luft stimmen die Resultate der beiden Methoden ganz frappant überein, ein Punkt, auf welchen ich später wieder zurückkomme.

Für meine Methode habe ich die folgenden Vorzüge in Anspruch genommen:

1. Die Methode besitzt alle die wohlbekannten Vorzüge, die mit dem Gebrauche fester Nährböden verknüpft sind.
2. Die Ergebnisse, durch Parallelversuche geprüft, erlangen einen hohen Grad quantitativer Genauigkeit.

3. Die Ergebnisse, durch Controlversuche geprüft, werden nicht merklich beeinträchtigt durch Luftzüge, die auf die Resultate mancher anderer Methoden einen so störenden Einfluss ausüben.

4. Die Zeitdauer der Gewinnung einer genügenden Luftprobe ist kurz — sehr viel kürzer wie bei der Hesse'schen Methode.

5. Da der ganze Filterpfropf, auf dem die Luftkeime gesammelt worden sind, ohne Theilung zur Cultur verwendet wird, so entstehen keine Ungenauigkeiten durch ungleiche Vertheilung und Multiplication eines Theilresultates, wie das bei dem Miquel'schen Verfahren der Fall ist.

6. Die Gefahr zufälliger Verunreinigung bei der Uebertragung der Filterpfropfe in die Culturkolben ist verschwindend klein.

7. Da die nöthigen Apparate sehr einfach und höchst transportabel sind, ist die Methode zu Experimenten an entlegenen Oertlichkeiten und beim Fehlen von Laboratoriumeinrichtungen sehr geeignet.

Ogleich ich nicht die Absicht habe, die höchst ausführliche und interessante Arbeit des Hrn. Dr. Petri hier eingehend zu besprechen, möchte ich doch einige Bemerkungen über die Deutung seiner Experimente und ihre Beziehung zu den meinigen mir erlauben.

Von besonderem Werth sind die vergleichenden Versuche, die er zwischen seiner Methode der Sandfiltration und der Hesse'schen angestellt hat, aber es ist etwas enttäuschend, dass er nicht auf die Ergebnisse dieses Vergleiches näher eingeht. Die vergleichenden Versuche Petri's zerfallen in zwei Abtheilungen:

1. solche, die in freier Luft vorgenommen wurden,
2. solche, die in geschlossenen Räumen, bez. im Stalle der Versuchsthiere, vorgenommen wurden.

Bei den Versuchen, die in freier Luft gemacht wurden, gehen die Ergebnisse der zwei Methoden weit auseinander und bei mehreren dieser Fälle weist die Hesse'sche Methode höhere Resultate auf als die Petri'sche. Dagegen bei den im Thierstalle vorgenommenen Versuchen stimmen die Ergebnisse der zwei Methoden ganz frappant überein. Diese Differenzen in den Ergebnissen an den zwei verschiedenen Versuchsplätzen sucht Petri dadurch zu erklären, dass die Luft des Thierstalles viel reicher an Mikroorganismen ist als die im Freien, und eine weitere Erklärung sucht er in der Annahme, dass unreinere und unbewegte Luft wahrscheinlich homogener ist als reinere und bewegte. Mit dieser Erklärung kann ich durchaus nicht übereinstimmen, und nach der Erfahrung, die ich in der viel ausgedehnteren zum Zwecke der Vergleichung zwischen der Hesse'schen und meiner Methode angestellten Versuchsreihe gemacht habe, ist es mir

viel wahrscheinlicher, dass die beobachteten Abweichungen ihre Erklärung in der Thatsache finden, dass die eine Versuchsreihe in bewegter freier Luft, und die andere in der stillen Luft eines geschlossenen Raumes ausgeführt worden ist; die erste Versuchsreihe wird also von der oben erwähnten Fehlerquelle bei der Hesse'schen Methode beeinflusst, während in der zweiten Versuchsreihe die Hesse'sche Methode correctere Resultate ergibt. In ganz ähnlicher Weise zeigen Parallel-Versuche nach der Hesse'schen und meiner Methode vorgenommen, Unterschied oder Uebereinstimmung der Resultate, je nachdem sie in bewegter oder ruhiger Luft angestellt wurden, unabhängig von der keimfreieren oder keimreicheren Beschaffenheit der Luft.

Nun nimmt Dr. Petri für seine Methode, und ich in noch höherem Grade für die meinige, den Vorzug in Anspruch, dass Dank dem heftigen Schütteln, dem die Filter beim Mischen mit der flüssigen Gelatine ausgesetzt werden, irgend welche Anhäufungen von Bacillen oder Mikrokokken, wie sie nach allgemeiner Annahme im Luftstaub vorkommen, mehr oder weniger auseinander gerissen werden, und dass folglich die bei Anwendung seiner oder meiner Methode erhaltenen Resultate diejenigen, welche man bei der Hesse'schen Methode bekommt, übertreffen sollten. In der That beweist der Umstand, dass die Resultate in denjenigen Fällen, welche allein bei der Hesse'schen Methode zuverlässige Ergebnisse liefern, also bei den Versuchen in ruhiger Luft, übereinstimmen, entweder dass die Luftmikrobien einzeln und nicht in Anhäufungen vorkommen; oder dass diese Anhäufungen so fest zusammenhängen, dass sie ganz unzertrennlich sind, selbst wenn man sie heftig mit flüssiger Gelatine schüttelt.

Schliesslich muss ich darauf hinweisen, dass bei meiner Methode eine vollkommene Vertheilung der Mikrobien in der Gelatine erreicht wird; denn wenn man nöthigenfalls einen grösseren Kolben nimmt und damit die Gelatinefläche vergrössert, so kann eine enorme Zahl Colonieen heranwachsen auf der ausgedehnten Fläche, die man so erhält, ohne dass sie einander beeinträchtigen.

Ein anderer sehr wichtiger Vorzug, den man bei der Züchtung in Kolben hat, besteht darin, dass, Dank der geringen und ausserordentlich gleichmässigen Decke des Gelatineüberzuges, alle Colonieen eine gleiche Chance der Entwicklung haben, was bei ihrer Vertheilung in einer dickeren Schicht von Nährsubstanz, wie sie bei Petri's Methode zur Anwendung kommt, nicht der Fall ist.

Andererseits ist allerdings bei der Züchtung im Kolben die mikroskopische Untersuchung der Colonieen unmöglich und ihre Entfernung

mittelst einer Nadel sehr schwierig. Aber wenn die Beschaffenheit der Organismen ohne Rücksicht auf ihre Zahl studirt werden soll, so genügt es bloss, Gelatineplatten oder -Schalen der zu untersuchenden Luft auszusetzen.

In dieser letzteren Weise habe ich eine beträchtliche Anzahl typischer Mikroorganismen, wie sie in der Luft vorkommen, gesammelt. Die Beschreibung derselben ist in den *Philosophical Transactions of the Royal Society* von diesem Jahre zu finden.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. VI.)

Zwei Kölbchen, die zur bacteriologischen Luftuntersuchung gedient haben. Auf dem Boden und theilweise an der Wandung der Kölbchen die Reste des Filterpfropfens; auf der ausgebreiteten Gelatineschicht haben sich verschiedene Spaltpilz- und Schimmelpilzcolonieen entwickelt.