[Aus dem Privatlaboratorium im Alexanderhaus, Sanatorium
der Evang. Kurgemeinde in Davos.]

Tuberkelbacillenzüchtung aus Bakteriengemischen und Formaldehyddesinfection.

Von

Dr. Carl Spengler.

Flügge empfiehlt seine Formaldehyd-Desinfectionsmethode, welche er zuletzt detaillirt im *Klinischen Jahrbuch*¹ beschrieben hat, als zuverlässig gegenüber „Diphtheriebacillen, Pestbacillen, Tuberkelbacillen, Milzbrandsporen, Influenza-Cholerabakterien, Streptokokken“. Die Wirkung des Formaldehyds sei mangelhaft und unsicher gegenüber dem *Staphylococcus pyogenes aureus*, ferner gegenüber sehr widerstandsfähigen Sporen von Saprophyten.

Aus diesen Darlegungen würde folgen, dass überall da, wo *Staphylococcus aureus* abgetödtet ist, alle Keime, welche uns bei der Wohnungsdesinfection interessiren können, auch abgetödtet sein müssten.

Wie wir sehen werden, trifft dies nicht zu. Die Resistenzverhältnisse der Bakterien gegen Formaldehyd liegen wesentlich anders, als Flügge annimmt. Die Tuberkelbacillen sind ganz ungleich widerstandsfähiger als *Staphylococcus aureus*, sogar resistenter als sporenhaltige Bakterien, die in fauligem Sputum angetroffen werden. Es ist deshalb die Flügge'sche und jede andere Formaldehyd-Desinfectionsmethode ebenfalls, wenn bei ihrer Prüfung der *Staphylococcus aureus* und nicht der Tuberkelbacillus als Testobject benutzt wurde, als unbrauchbar zur Desinfection von Phthisikerräumen zu erklären.

Durch tägliche Untersuchung von desinficirtem Sputum, das auf Leinwand, Flanell oder anderen beliebigen Stoffen festgeklebt und eingetrocknet

¹ Die Wohnungsdesinfection durch Formaldehyd auf Grund praktischer Erfahrungen. Abdruck aus dem *Klinischen Jahrbuch*. Im Auftrage des königl. preuss. Hrn. Ministers der geistlichen, Unterrichts- und Medicinalangelegenheiten u. s. w. Bd. VII. Jena 1900.

ist, und nach der Desinfection, auf feste Nährböden übertragen, zur Quellung gebracht wird, kann man sich leicht davon überzeugen, dass die Tuberkelbacillen in diesen gequollenen Krusten sich lebhaft zu entwickeln pflegen, wenn *Staphylococcus aureus* abgetödtet ist. Lebhaftige Entwicklung der Tuberkelbacillen findet auch dann noch beinahe ausnahmslos statt, wenn die für den aureus ausreichende Abtödtungszeit und Formaldehydmenge weit überschritten wurden. Eine Vernichtung der Tuberkelbacillen auch in dünnen, trocknen Sputumlagen und selbst im feuchten Sputum etwas dickerer Lage (1 bis 2^{mm}) ist nach Flügge's Methode vollkommen ausgeschlossen. Deshalb eignet sich die Formaldehyddesinfection auch zur Züchtung der T.-B. aus Bakteriengemischen.

Es kommt häufig vor, dass die Tuberkelbacillen, welche sich innerhalb der ersten 8 Tage deutlich, oder auch sehr stark angereichert hatten, in der 2. oder 3. Woche in den Sputummassen absterben und spurlos aus ihnen verschwinden. Diese Erscheinung hat nichts mit der Formaldehydwirkung zu thun. Sie gehört zu den alltäglichen Beobachtungen bei den Reinzüchtungsversuchen nach Kitasato¹ und auch nach meiner Waschedimentirmethode², wenn nicht rechtzeitige Uebertragungen auf frische Nährböden vorgenommen werden. Kitasato schloss aus diesen negativen Culturresultaten, weil er keine primären Thierexperimente vornahm, die normal färbbaren Tuberkelbacillen des Sputums seien meist abgestorben. Ich habe bei der Nachprüfung von Kitasato's Methode mit dem gleichen Sputum, das, frisch gewaschen, zu Sputumausstrichen und Thierimpfungen benutzt wurde, positive Thierexperimente und negative Culturresultate erzielt.

Dabei stellte ich in der ersten Woche deutliche Tuberkelbacillen-Anreicherung in den Culturen fest und dennoch war nach 3 Wochen kein Tuberkelbacillus mehr in den Sputumausstrichen zu finden. Es sterben eben, wie ich schon früher mitgetheilt habe, die Tuberkelbacillen durch das Freiwerden und die Diffusion von Kernsäuren beim Kernzerfall ab. Die baktericide Wirkung der Nucleinsäuren ist von H. Kossel³ für Cholera- und andere Bacillen und für Kokken festgestellt worden. Für die Tuberkelbacillen habe ich sowohl die baktericide Wirkung der a- als auch der b-Säure und der Mischung der beiden Säuren in den verschiedensten Verhältnissen untersucht und festgestellt.

¹ S. Kitasato, Gewinnung von Reinculturen von Tuberkelbacillen u. s. w. *Diese Zeitschrift*. 1892. Bd. II.

² C. Spengler, Zur Diagnose und Prognose der Misch- und Begleitinfektion bei Lungentuberculose. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1901. Bd. XXX.

³ H. Kossel, Ueber die Einwirkung der Nucleinsäure auf Bakterien. *Verhandlungen der physiologischen Gesellschaft zu Berlin*. Jahrg. 1893—1894. 2. Febr. 1894.

In Uebereinstimmung damit steht, dass man mit einem kernarmen oder kernfreien Sputum, d. h. mit einem leukocytenfreien, viel leichter Tuberkelbacillen-Culturen erzielt. Allerdings giebt es auch hier scheinbare Ausnahmen, auf die ich hier nicht näher eingehe.

Meine zahlreichen Anreicherungsversuche der Tuberkelbacillen im Sputum beweisen, dass alle normal färbaren Tuberkelbacillen des Sputums lebens- und entwicklungsfähig sind. Auch die pathologischen Formen sind es, nur in geringerem Grade. Und da es mit Hülfe von Formalin ausnahmslos gelingt, die Misch- und Begleitbakterien jeden Sputums abzutöden, ohne den Tuberkelbacillen ihre Entwicklungsfähigkeit zu nehmen, kann ich das auch für die Sputa behaupten, welche von Phthisikern mit Mischinfection stammen. Bei solchen gelang es früher nicht, Sicheres über die Virulenz der Tuberkelbacillen zu erfahren, da es unmöglich war, die Tuberkelbacillen aus solchen Sputis rein zu züchten und das Thierexperiment scheitert häufig an der Secundärinfection.

Zu ganz den gleichen Schlüssen über die Lebensfähigkeit der Sputum-Tuberkelbacillen ist auch Hesse¹ durch die Anreicherungen derselben auf seinem neuen Nährboden gekommen.

Die Schwierigkeiten der Tuberkelbacillen-Züchtung aus dem gemischt infectirten Sputum sind indess auch durch das Formalin und die öfteren Umzüchtungen nicht ganz beseitigt. Immerhin kann man sich unter Zuhülfenahme des Hesse'schen oder meines Nährbodens auf diese Weise von der Lebensfähigkeit der Tuberkelbacillen jeden Sputums überzeugen. Eine Anreicherung der Tuberkelbacillen gelingt immer, die Züchtung dagegen zuweilen nur unter Vornahme gewisser Modificationen des Züchtungsverfahrens.

Für die Untersuchungen über Formaldehyddesinfection ist es zweckmässig, statt des Hesse'schen einen Nährboden zu benutzen, welcher dem Wachsthum der Tuberkelbacillen und der Secundärbakterien vortheilhaft ist. Ein solcher ist der von mir benutzte Somatose-Heyden-Glycerinagar.²

Nährstoff Heyden	5.0	} 1000,0 Aq. destill.
Somatose	5.0	
NaCl	5.0	
Glycerin	30.0	
Agar	15.0	
Krystallsoda	2—4 grm.	

¹ Bezirksarzt Dr. W. Hesse, Ein neues Verfahren zur Züchtung des Tuberkelbacillus. *Diese Zeitschrift*. 1899. Bd. XXXI.

² Das Wachsthum der Secundärbakterien ist bei diesen hohen Alkalitätsgraden kein optimales, dasjenige der Tuberkelbacillen dagegen ein weit besseres, als auf irgend einem der uns bekannten Nährböden, weil letztere zu schwach alkalisch für die Tuberkelbacillen sind.

Züchtung der Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen nach Formalinabtötung der Begleit- und Mischbakterien.

Sehr zahlreiche Versuche führte ich mit Formalin (Schering) aus, welches in Petri'schen Doppelschalen und hauptsächlich bei mittleren Temperaturen zur Verdunstung gebracht wurde, um eine sichere Abtötung der Begleit- und Mischbakterien ohne nennenswerthe Schädigung der Tuberkelbacillen zu erzielen.

In der That gelingt es so in einfachster Weise, ohne Voraussetzung besonderer technischer Fertigkeiten, die Tuberkelbacillen aus den meisten Sputen, ferner aus gemischt inficirtem Caverneninhalte, Eiter u. s. w. rein zu cultiviren. Selbst aus gemischt inficirtem Sputum mit wenig Tuberkelbacillen sind Züchtungen zuweilen noch möglich.

Anreicherungen gelingen dagegen ausnahmslos, so dass man nie im Zweifel darüber bleibt, ob die Tuberkelbacillen eines Phthisikersputums lebensfähig seien oder nicht.

Sogar die Anzüchtung von Tuberkelstäbchen aus Tuberkelbacillensplittern¹ in reinen Splittersputen, die kein einziges untrügliches Stäbchen aufweisen und bisher nicht als tuberculöse, infectiöse Sputa angesehen werden konnten, ist eine relativ leichte Aufgabe.

Als Tuberkelbacillensplitter bezeichne ich die meist „venös“ bis schwärzlich gefärbten, aus dem Kettenverband herausgetretenen isolirten, oder in Gruppen zusammenliegenden Tuberkelbacillenkörner, welche im Kettenverband, die Stäbchennatur des Tuberkelbacillus noch markirend, uns lange bekannt und als Involutionsformen bezeichnet worden sind.

Man beobachtet Splitterbildung aus normalen Stäbchen hauptsächlich bei Tuberculösen, welche unter fortschreitender Besserung ihres Zustandes mittlere T.-R.-Dosen erreichen und zwar unter lebhaften Localreactionen an der Injectionsstelle, welche stets von correspondirenden an den Krankheitsherden begleitet werden. Letztere sind leukocyitärer Natur und lassen sich mikroskopisch im Sputum nachweisen. Ferner finden sich Splitter bei gesund aussehenden Menschen, die gelegentlich einmal etwas Auswurf, im Uebrigen aber das Befinden vollkommen gesunder Menschen haben können, die aber auf Tuberculin excessiv reagiren, und zwar allgemein und local.

Splitterbefund im Sputum deutet, wenn er ausgeprägt ist, stets auf ungünstige Lebensbedingungen der Tuberkelbacillen auf dem Wirtorganismus, auf energische Abwehr der Infection durch den Körper, also

¹ Carl Spengler, Ueber das Koch'sche T.-R. u. Tuberkelbacillensplitter. *Wiener med. Wochenschrift* 1902. Nr. 14

weniger auf den passiven, kernfesten Zustand der Immunität¹, als vielmehr auf den activen der Heilung; dieser charakterisirt sich durch locale Hyperleukocytose und Leukolyse mit Schädigung, bezw. Abtödtung der Tuberkelbacillen unter Splitterbildung.

Ich bin damit beschäftigt, noch einfachere, schneller als in Tagen, schon in Stunden, zum Ziele führende Methoden zum Auswachsen von Tuberkelstäbchen aus Splittern zu finden. Wiederholt ist das bereits gelungen, so dass eventuell eine brauchbare Methode daraus wird.

Die Formalinmethode ist indess schon so zuverlässig, dass sie mit dem Thierexperiment concurriren kann. Unter besonderen Umständen übertrifft sie dasselbe wahrscheinlich. Es kommt nämlich vor, dass Thiere nach Verimpfung von Sputum mit normal färbbaren Tuberkelbacillen gesund bleiben. Normal gefärbte Tuberkelbacillen des Sputums sind aber immer entwicklungsfähig, also auch sicher infectiös, wenn die Infektionsbedingungen sich günstiger gestalten.

Das Thierexperiment wird man mit Vorthail secundär mit partiell sterilisirtem Sputum und nach 1 bis 2 tägiger Tuberkelbacillen-Anreicherung vornehmen, wenn eine Abtödtung der Splitter und einzelner Stäbchen in den Ausstrichen zu befürchten ist. Der Vorthail der Ausschaltung von Secundärinfectionen ist dabei nicht zu unterschätzen. Auch die Sedimentirungen können secundär unter weiterem Pankreatinzusatz und Alkalisirung vorgenommen werden.

Die Züchtungsmethode ist kurz folgende:

Eine Petrischale wird mit einer oder auch einer doppelten Lage Filtrirpapier ausgekleidet. Auf den Boden der unteren Schale legt man ein denselben bedeckendes Blatt gewöhnlichen oder gehärteten Filtrirpapiers. Dieses nimmt das Sputum auf und zwar ca. 3^{cm} eines Ballens, welcher etwa in einer Dicke von 2 bis 2½^{mm} ausgebreitet wird.

Auf diese Schale wird nun ein den Schalenrand allseitig um einige Centimeter überragendes Filtrirpapierblatt gelegt und der Schalendeckel mit etwas Druck so auf die untere Schale gestülpt, dass das Papier sich dem Deckelinnern allseitig innig anschmiegt. Ueberragende Papiertheile schneidet man ab.

Die Schalenauskleidung dient zur Aufnahme des Formalins. Sie verhindert auch, dass unter dem Deckel sich ansammelnde Condenswassertropfchen auf das Sputum zurückträufeln.

Einer besonderen Abdichtung der Schale bedarf es nicht; eine gewisse Ventilation scheint im Gegentheil vortheilhaft. Zu gross darf sie natürlich auch nicht sein. Dafür sorgt bei Verwendung der alten Petrischalen

¹ Carl Spengler, Zur Tuberculin-Discussion in der Gesellschaft der Charité-Aerzte zu Berlin. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1898. Nr. 21.

die zwischen die beiden Schalen befindliche Lage Filtrirpapier in ausreichender Weise.

Die versuchsfertige Schale wird in eine Temperatur von 20 bis 25° C. gebracht. In solchen Temperaturlagen bewegen sich die Luftschichten auf dem Brutapparat oder die Luft in dessen nächster Nähe.

Bei diesen Temperaturen erfolgt die Abtödtung aller Sputumbakterien, ausgenommen der Tuberkelbacillen, innerhalb von 1 bis 3 Stunden bei Verwendung von 3 bis 5 Tropfen Formalin in einem Raum von ca. 100 ^{cem}, den die Petri'schen Doppelschalen ungefähr fassen.

Die Tuberkelbacillen - Anreicherung macht raschere Fortschritte in einem Sputum, welches man mit Pankreatinpulver zart bestreut und dann mit ihm vermenget hatte, als ohne Pankreatinzusatz. Ich empfehle deshalb, das Sputum vor der Formalindesinfection in dünner Lage zu bestreuen. Das Pankreatin verdaut die schleimigen Massen des Auswurfs in den Culturen und beseitigt dadurch ein nicht unwesentliches Hemmniss für das Tuberkelbacillenwachsthum; die die Tuberkelbacillen - Entwicklung hemmende Wirkung des Schleimes geht auch daraus hervor, dass die Tuberkelbacillenzüchtungen direct aus der Lunge leichter gelingen, als aus Sputum desselben Individuums. Von den vielen Hunderten von Formalinversuchen führe ich hier nur einige an.

Sie reichen hin, dasjenige, was ich über die Resistenz der verschiedenen Bakterienarten gegen Formalin gesagt habe, zu bestätigen und setzen jeden Bakteriologen in Stand, darnach Züchtungen der Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen, bezw. Anreicherungen vorzunehmen.

1. Versuch. 5 Tropfen Formalin wirken $\frac{3}{4}$ Stunden bei 18° C. Verwendete Sputummenge 2 $\frac{1}{2}$ ^{cem}. Das Sputum enthält Tuberkelbacillen, culturell Staphylococcus aureus und Streptokokken.

Relative Feuchtigkeit der Zimmerluft 65 Procent.

Das Sputum, welches von vornherein nicht sehr feucht war, ist während der $\frac{3}{4}$ stündigen Exposition erheblich eingetrocknet. Der Schalen- deckel ist mit feinen Condenswassertröpfchen dicht besetzt.

Mikroskopischer Befund nach der Exposition: Das Präparat ist partiell säurefest, die Tuberkelbacillen sind dunkelviolet, die Begleitbakterien dunkelblauschwarz, die Zellkerne tief dunkelviolet. Dieser Befund ist bemerkenswerth, denn man kann aus ihm — aus der Stärke der Beizwirkung durch die Formaldehyddämpfe — mit Sicherheit schliessen:

1. Dass die Tuberkelbacillen an Entwicklungsfähigkeit etwas eingebüsst haben. Das ist der Fall, wenn sie dunkelviolet erscheinen. „Arteriell“ oder leicht „venös“ sich färbende Tuberkelbacillen besitzen dagegen noch volle Entwicklungsfähigkeit.

2. Dass die Begleit- bezw. Mischbakterien todt sind. Das ist ohne Ausnahme der Fall, sobald die Formalinwirkung so intensiv war, dass sie tief dunkelblau, bezw. schwärzlichblau sich tingiren, also wesentlich intensiver als unter gewöhnlichen Umständen.

3. Dass die Zellkernbeizung so weit gediehen ist, die Zellkerne vor raschem Zerfall in den Culturen zu schützen.

Cultureresultat: (Das Sputum wurde, wie stets, in dicker Lage auf der Glycerinagarfläche ausgebreitet.) Culturen zeigen nach 48 Stunden und auch späterhin und auch in Ueberimpfungen keine Colonieen von Strepto- oder Staphylokokken. Nach 14 Tagen Colonieen von Tuberkelbacillen. Das Tuberkelbacillenwachsthum war in den ersten Tagen deutlich verzögert.

Es wird nicht mit allen Sputen, besonders nicht mit ganz feuchten, oder bei Verwendung grösserer Quantitäten, als 3^{cem} gelingen, in $\frac{3}{4}$ Stunden mit 5 Tropfen Formalin Staphylococcus aureus sicher abzutöden. Hier ist es gelungen, weil das Sputum für den Raum von 100^{cem} nicht zu viel Feuchtigkeit hatte.

2. Versuch. 10 Tropfen Formalin (frisch, sauer). Sputum enthält Tuberkelbacillen 2 (vergl. meine Scala a. a. O.). Culturell: Staphylococcus aureus und Streptococcus. Es ist geballt und mässig feucht. Expositionszeit: 1 Stunde, Temperatur 23° C. Relative Feuchtigkeit im Zimmer 55 Procent.

Cultureresultat: Staphylococcus aureus und Streptococcus todt. Reincultur von Tuberkelbacillen.

3. Versuch. 10 Tropfen Formalin. Sputum enthält: Tuberkelbacillen 1—2, Z.-K. 2, B.-B. 0—1. Expositionszeit: 1 $\frac{1}{2}$ Stunden, Temperatur 22 $\frac{1}{2}$ ° C. Relative Feuchtigkeit nicht notirt.

Cultureresultat: Staphylococcus aureus und Streptococcus todt. Reincultur von Tuberkelbacillen auf Glycerinagar und Blutserum. Das Wachsthum der Tuberkelbacillen war ein stark verzögertes.

4. Versuch. Das Sputum enthält Tuberkelbacillen, culturell Staphylokokken und Streptokokken. 20 Tropfen Formalin. Expositionszeit: 2 Stunden, Temperatur 29° C. Relative Feuchtigkeit 45 Procent. Nach der Desinfection erhaltenes Cultureresultat: Begleitbakterien todt. Tuberkelbacillen entwickeln sich auf Somatose-Heyden in Reincultur.

5. Versuch. Formalinzüchtung der Tuberkelbacillen aus gemischt inficirtem Caverneninhalte, von abgestrichenen gemischt inficirten Käsemassen von excidirten tuberculösen Lungentheilen eines an acuter Mischphthise Verstorbenen. Neben den Tuberkelbacillen, die zahlreich vorhanden sind, lassen sich culturell Staphylokokken und Streptokokken nachweisen.

In jede Petrischale kam ungefähr die gleiche Quantität der tuberculösen Lungenmassen, ca. 2 $\frac{1}{2}$ bis 3^{cem} und excidirte tuberculöse Lungenstücke von der Grösse 3:5.5^{mm}. 10 Tropfen Formalin wirken 3 Stunden lang bei 25° C. auf die Käsemassen und den Caverneninhalt und die Lungen-

stücke: dann werden die Objecte auf Schrägagar gebracht. Reincultur von Tuberkelbacillen aus allen Theilen. (In einem einzigen Röhrchen war eine Verunreinigung.)

Die Tuberkelbacillen wurden auch rein gezüchtet aus den excidirten tuberculösen Lungentheilen, in deren Tuberkel eine Anreicherung der Tuberkelbacillen stattfand, so dass die oberflächlichen tuberculösen Herde weicher wurden und abgestrichen und übertragen werden konnten.

Formalin-Pankreatinzüchtung der Tuberkelbacillen.

1. Versuch. 3^{cm} gemischt infectirten Sputums (Tuberkelbacillen, Staphylokokken und Streptokokken) werden in 2^{mm} dicker Lage ausgebreitet, mit Pankreatinpulver bestreut und innig vermengt 2 Stunden lang bei 25° C. 5 Tropfen Formalin exponirt. (Das Pankreatinpulver ist discontinuirlich bei Trockenhitze sterilisirt.) Ausstriche dick angelegt. Keine Entwicklung von Begleitbakterien, dagegen lebhaftes der Tuberkelbacillen. In der Stammcultur und in den Ueberimpfungen Reincultur von Tuberkelbacillen.

2. Versuch. Auf 3^{cm} fäuliges, mit Pankreatinpulver vermengtes tuberculöses Sputum wirken 5 Tropfen Formalin 2 Stunden lang bei 27° C.

In den Ausstrichen kein Wachsthum von Secundärbakterien. (In der Controlcultur waren Tuberkelbacillen, Staphylokokken, Streptokokken und Sporen bildende Fäulnisbakterien.)

Sowohl in der Stammcultur als in den Ueberimpfungen Reincultur von Tuberkelbacillen.

3. Versuch. Ein in Wasser untersinkender Sputumballen wird in gewöhnlichem Leitungswasser sorgfältig geschwenkt und von seinen ihm anhaftenden Schleimtheilen befreit. Er enthält Strepto- und Staphylokokken (wie immer culturell nachgewiesen) und wenige Tuberkelbacillen neben vereinzelt Splitterhäufchen, viel elastisches Gewebe und tuberculöses Granulationsgewebe neben vereinzelt Leukocyten.

Der ausgebreitete Ballen wird mit Pankreatin vermengt 1½ Stunden lang bei 24° C. 3 Tropfen Formalin exponirt.

In den Ausstrichen keine Begleitbakterien. Schon nach 2 Tagen sehr starke Tuberkelbacillenanreicherung und grosse Splitterhaufen.

In den Stammasstrichen und in den Ueberimpfungen Reincultur von Tuberkelbacillen.

Formalin-Pankreatinanzüchtung von Tuberkelbacillen aus Splittern. (Reines Splittersputum.)

3 Tropfen Formalin wirken bei 25° C. 1½ Stunden auf 3^{cm} in 1½^{mm} dicker Lage ausgebreitetes, mit Pankreatinpulver vermengtes Sputum. Das Sputum enthält neben Splittern Staphylo- und Streptokokken. In den Ausstrichen keine Secundärbakterienentwicklung. Mikroskopisch sind solche nachzuweisen. Es handelt sich aber um abgetödtete Keime, die in ihrem coloristischen Verhalten sich kaum von lebenden unterscheiden lassen.

Nach 2 Tagen in den meisten Gesichtsfeldern Splitterhäufchen. Die einzelnen Splitter haben den Farbstoff ebenso gut zurückgehalten, wie „venös“ gefärbte Tuberkelbacillen. Ferner findet man in sehr vielen Gesichtsfeldern normal färbbare, ausgewachsene Tuberkelbacillen. Oft sitzen die Stäbchen einem Splitter auf, wie der Kirschenstiel der Kirsche. Der Splitter ist meist doppelt so dick, wie das Stäbchen. Definitive Reinculturen konnten nicht gewonnen werden. Mit dem Einsetzen des Kernzerfalles des kernreichen Sputums starben Splitter und Tuberkelbacillen in der Cultur ab. Immerhin war der tuberculöse und infectiöse Charakter des Sputums durch die Anzüchtung erwiesen.

Diese Versuchsergebnisse ändern sich unter Vornahme aller möglichen Versuchsmodifikationen nur unwesentlich. Je mehr die Temperatur der Körpertemperatur sich nähert, ohne zu rasch trocknend auf die Substrate zu wirken, desto intensiver werden Tuberkelbacillen geschädigt. Das Resistenzverhältniss der Bakterien unter einander ändert sich damit aber keineswegs.

Für die Züchtungen empfiehlt es sich, möglichst kleine Formalindosen zu wählen, welche die Begleitbakterien unter Schonung der Tuberkelbacillen vernichten. Rationell sind deshalb die Uebertragungen des exponirten Sputums in einstündigen Intervallen.

Mit 3 bis 5 Tropfen Formalin pro Petrischale erreicht man so zu sagen ausnahmslos die gewünschte partielle Sputumsterilisirung, vorausgesetzt, dass man nicht zu grosse Sputummengen und nicht dünnflüssiges Sputum wählt.

Auf diese Weise gelingen auch die Anreicherungen und Anzüchtungen von Tuberkelbacillen aus Splittern, wie der letzte Versuch zeigt. Die Splitter sind indess weniger resistent als Tuberkelbacillen selbst. Dies gilt jedenfalls für diejenigen Splitter, welche nur noch andeutungsweise säurefest, der schützenden Wachshülle, welche die charakteristische Färbung giebt, verlustig gegangen sind.

Bei der Herstellung der Culturen vermeide man die Berührung der trocken gebliebenen Partien des Filtrirpapiers, auf welchem das Sputum ausgebreitet wurde, da nur feuchte sicher steril werden. Es ist ferner angezeigt, besonders bei sehr kernreichen Sputis, Sputumtheile auf der Agarzunge und so auf der Glaswand der Culturröhrchen zu fixiren, dass nur eine Verbindungsbrücke mit dem feuchten Nährboden bestehen bleibt. Es findet dann nämlich in manchen Fällen hier noch lebhaftere Tuberkelbacillenanreicherung statt, wenn die Tuberkelbacillen des Agarbelages selbst in Folge besonders ungünstiger Verhältnisse von Kernaufflösung und Nucleinsäurediffusion abgetödtet wurden. In den angereicherten Glaswandpartikeln hat man unter solchen Umständen einen Beweis dafür, dass die Tuberkelbacillen lebend sind, aber unter lebhafter Leukolyse auf der Nährbodenfläche zu Grunde gehen.

Die Tuberkelbacillenvernichtung und Auflösung in den Culturen geht ausnahmslos genau parallel der Leukolyse, vorausgesetzt, dass nicht sofortige Säurebindung stattfindet. Säurebindung findet meist statt, wenn die Ausstriche nicht sehr dick gemacht und rechtzeitig übergeimpft werden, oder wenn man einen Sputumbrocken so in das Condenswasser taucht, dass der grösste Theil, ca. $\frac{3}{4}$ desselben, untergetaucht ist und $\frac{1}{4}$ aus der Flüssigkeit herausragt. Das Sputum wird dabei lebhaft von dem alkalischen Condenswasser durchfeuchtet und die Säure kommt nicht voll zur Wirkung. Nach 2 bis 3 Tagen kommt es zur Tuberkelbacillenvermehrung, so dass man nun in Intervallen Ueberimpfungen auf die Agarfläche machen kann.

Ueber den Kernreichthum eines Sputums kann man sich täuschen, wenn man denselben nach einem Ziehl'schen Präparat oder auch nach mehreren solchen beurtheilt. Es giebt Sputa, welche frei von zelligen Elementen zu sein scheinen. Es färben sich weder nach Ziehl, noch nach Pfeiffer Leukocyten. Nach vollendeter Formalindesinfection und event. ein- oder mehrtägigem Aufenthalt des ausgestrichenen Sputums im Brutschrank erweist sich das Sputum als aussergewöhnlich leukocytenreich. Im Allgemeinen begegnet man solchen Sputen nur bei Tuberculinpatienten und ich muss annehmen, dass diese der Färbung unzugänglichen Zellen ihre volle Vitalität noch besitzen und sich deshalb nicht färben. Die Reactionszellen sind nämlich mononucleäre Elemente, aus denen erst nach und nach polynucleäre werden. Diese letzteren färben sich immer und werden auch als dem Untergang geweihte Elemente aufgefasst.

Mit solchen leukocytenreichen und für die Züchtungen sehr ungeeigneten Sputen verfährt man mit Rücksicht auf die drohende Abtödtung der Tuberkelbacillen beim Kernzerfall und der Säurediffusion in der Weise, dass Ueberimpfungen von dick angelegten Stammasstrichen gemacht werden, sobald man keine lebhafte Vermehrung oder gar beginnende Abtödtung der Tuberkelbacillen beobachtet oder man macht den Condenswasserversuch. Schliesslich bleibt auch noch die Verwendung der angereicherten Glaswandpartikel übrig. Selbst in diesen angereicherten Partikeln sterben die Tuberkelbacillen oft noch ab, wenn sich in dem auf der Nährbodenfläche ausgebreiteten Belag nun rasche Leukolyse¹ einstellt.

Dass das abtödtende Agens Nucleinsäuren sind, lässt sich durch Triacet nachweisen. So erklärt sich auch der Parallelismus zwischen Leukolyse und Tuberkelbacillenauflösung einerseits und zwischen Kernconservirung und Tuberkelbacillenanreicherung andererseits, wie in den

¹ Zum Studium der baktericiden, leukolytischen Vorgänge empfehle ich die Verwendung von neutral reagirendem Agar.

Glaswandpartikeln, die zur Kernlösung und Säurediffusion zu wenig Feuchtigkeit zugeführt bekommen.

Die Tuberkelbacillenzüchtung gehört — nach dieser Methode ausgeführt — zu den einfachsten Aufgaben des Bakteriologen, während man ihre Züchtung früher selbst aus rein tuberculösen Substraten für ein besonderes Kunststück hielt.

Der Hesse'sche Nährboden hat uns unzweifelhaft in der Züchtung der Tuberkelbacillen einen Schritt weiter gebracht. Indessen möchte ich ihn doch nicht als einen electiven bezeichnen. Es wachsen auch andere Bakterien als Tuberkelbacillen auf ihm. Das Wachstum ist allerdings ein verzögertes.

Vor Hesse will Hueppe¹ durch eine Plattenmethode Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen des Sputums rein gezüchtet haben.

Anfangs verwendete er bei 58 bis 60° discontinuirlich sterilisirtes, 1 Procent Agar enthaltendes Blutserum. Später impfte er steril aufgefangenes oder sterilisirtes, auf 37° erwärmtes Blutserum, machte Verdünnungen und goss dann Platten mit verflüssigtem und wieder bis zur Verflüssigungsgrenze abgekühltem Agar.

Ich habe diese Methode vor bald 10 Jahren im Auftrage von Geheimrath Koch genau nach Hueppe's Angaben und ferner unter Vornahme aller möglichen Modificationen nachgeprüft: immer mit dem gleichen negativen Erfolg.

Die Methode wäre an sich hübsch erdacht, sie leidet aber an einem principiellen Fehler. Untergetauchte Tuberkelbacillen-Reinculturen starben ohne Ausnahme ab. Auch im Sputum, welches ganz untergetaucht bleibt, sterben die Tuberkelbacillen ab. Nur vorübergehende Entwicklung kommt im Sputum vor. Lebhaft ist sie dann, wenn nur Partieen des partiell sterilisirten Sputums untergetaucht sind, und ein Theil aus der Flüssigkeit hervorragt und wenn rechtzeitig Ueberimpfungen vorgenommen werden. Diese günstigen Verhältnisse kommen aber für die Hueppe'schen Platten gar nicht in Frage.

Denn die Sputumpartikel werden bei der Hueppe'schen Methode von einer Agarschicht umschlossen und dann überholen die Begleitbakterien die Tuberkelbacillen im Wachstum und vernichten sie. Schon dieser letzte Umstand allein wird Jedem, der sich mit Plattenculturen aus Sputum beschäftigt hat, die Erfolglosigkeit des Hueppe'schen Verfahrens als selbstverständlich erscheinen lassen.

Die Züchtungen gelingen auch in Sauerstoffatmosphäre niemals. Das Verfahren ist unbrauchbar.

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. 1887. Bd. I. S. 20.

Schlussätze.

Aus den Anreicherungen und Züchtungen der Tuberkelbacillen aus Sputum müssen wir schliessen, dass alle normal färbbaren Tuberkelbacillen im phthisischen Auswurf leben und entwicklungsfähig sind. Auch die pathologischen Formen sind es, mit Ausnahme vielleicht der zarten fliiformen Stäbchen. Auch die Tuberkelbacillensplitter, welche noch eine gewisse Säurefestigkeit besitzen, ihrer Wachshülle nicht ganz verlustig gegangen sind, sind entwicklungsfähig. Sie wachsen unter günstigen Bedingungen zu normalen Stäbchen aus. Das Auftreten von Körnung im Tuberkelbacillus und die Bildung von freien Splittern deutet stets auf ungünstige Entwicklungsbedingungen.

Die Tuberkelbacillen leukocytenreicher Sputa sterben oft in den Sputumausstrichen ab und werden rasch aufgelöst, wenn nicht durch rechtzeitige Ueberimpfungen auf frische, stark alkalische Nährböden unter energischem Verreiben der Sputumtheile auf der Nährbodenfläche oder durch Glaswandagar-Ausstriche dem Säuretod vorgebeugt wird.

Die Säuren, welche hier zur Wirkung gelangen, sind hauptsächlich bei der Kernauflösung diffundirende Kernsäuren. Abtödtung und Auflösung der Tuberkelbacillen gehen vollkommen parallel der Cariolyse und Säurediffusion. Sie fehlen in kernfreien, alkalischen Sputis und da, wo kein Kernzerfall und in Folge mangelnder Feuchtigkeitzufuhr keine Säurediffusion zu Stande kommen.

Das tuberculöse Granulationsgewebe vermag die Tuberkelbacillentwicklung nicht zu hemmen, weil die Kerne arm an Kernsäuren sind.

Wie in der Cultur, so vollzieht sich auch im reagierenden Organismus, sei es spontan oder nach Tuberculineactionen, die Tuberkelbacillenabtödtung durch Hyperleukocytose und nachfolgende Leukolyse.

Die Metschnikoff'sche Phagocytose spielt bei der Tuberculose keine Rolle. Es müssten sonst die Tuberkelbacillen gerade da, wo die Zellen erhalten bleiben, vernichtet werden. Es ist aber gerade das Gegentheil der Fall, so dass nicht daran zu zweifeln ist, dass der Organismus sich chemischer Mittel zur Abwehr der Tuberculose bedient, nämlich der Kernsäuren.

Die Formalinmethode ist ein werthvolles diagnostisches und prognostisches Hilfsmittel, da man jederzeit in einfachster Weise sich durch Anreicherungs- bzw. Züchtungsversuche über die vorhandene Vitalität der Tuberkelbacillen orientiren und therapeutische Maassnahmen controliren kann.

Die Methode concurrirt in ihrer Zuverlässigkeit mit dem Thierexperiment und sie ermöglicht letzteres mit Ausschluss der störenden Zufälle der Secundärinfection.

Die Sedimentirverfahren werden mit Vorthail durch die Anreicherung und eventuelle Züchtung ersetzt, eventuell kann eine secundäre Sedimentirung vorgenommen werden.

Kritik der Flügge'schen Desinfectionsmethode.

Vor Jahresfrist habe ich im Centralblatt für Bakteriologie¹ die Voraussetzungen, unter denen Formaldehyd desinficire, kurz skizzirt, denn es schien mir gefahrvoll, sich einer Desinfectionsmethode anzuvertrauen, welche die wichtigste Bakterienart, die Tuberkelbacillen, nicht abzutöden vermochte. Meine damaligen Behauptungen und Entgegnungen sind jetzt, nach einem Jahre, in einem Punkte, aber in einem sehr wichtigen bestätigt worden, und zwar aus dem Flügge'schen Institut selbst, gegen welches meine Thesen vornehmlich gerichtet waren. Man hat dort ebenfalls gefunden, dass das Formaldehyd trockenes Sputum mangelhaft desinficire und dass eine Durchfeuchtung nothwendig wäre.²

An der Breslauer Methode ist indess nichts geändert worden, soviel mir bekannt, obgleich dies in einfacher Weise unter Beibehaltung der Apparate und ohne in Betracht kommende Mehrkosten möglich gewesen wäre.

Das Verfahren Flügge's besteht, wie bekannt, darin, dass mit der Vergasung von Paraformpastillen gleichzeitig die Verdampfung von Wasser vor sich geht. Diese gleichzeitige Wasserverdampfung soll nach Flügge das gasige Formaldehyd vor Polymerisirung, vor Paraformbildung und dem Unwirksamwerden der Gasdesinfection bewahren.

Es bildet sich nun aber bei trockener Vergasung in einem nicht mit Wasserdampf gesättigten Raume niemals Paraform, wie mir zahlreiche Versuche in Trockenatmosphäre gezeigt haben. Selbst bei Vergasung von 105 Pastillen pro Cubikmeter Raum in einer Atmosphäre mit nur 5 Procent relativer Feuchtigkeit wird kein Paraform gebildet. Das Formaldehyd wirkt ausserdem bei Trockenvergasung feuchten Infectionssubstraten gegenüber intensiver baktericid, als bei feuchter Vergasung. Das widerlegt ebenfalls die Flügge'sche Ansicht vom Unwirksamwerden des Formaldehyds durch Paraformbildung bei der Paraformvergasung ohne gleichzeitige Wasserverdampfung. Diese Flügge'sche Maassnahme ist nach dieser Seite hin also vollkommen überflüssig. Sie ist aber nicht nur über-

¹ *Centralblatt für Bakteriologie*. 1900. Bd. XXVIII.

² Franz Steinitz, Die Beseitigung und Desinfection des phthisischen Sputums. *Diese Zeitschrift*. 1901. Bd. XXXVIII. S. 141—142.

flüssig, sondern sie schädigt die Formaldehydwirkung direct, und zwar in zweierlei Art. Erstens bildet sich in dem mit Wasserdampf gesättigten Raum, weil die Condenswassertröpfchen Formaldehydgas absorbiren, wässeriges Formalin. Dieses desinficirt auch, aber nur oberflächlich. Das ist die eine Art der Entwerthung der Gasdesinfection. Der Ueberschuss von Formaldehyd bei der Bildung von 40procentiger Formaldehydlösung wird Paraform. Das ist die zweite Art der Entwerthung.

Flügge erreicht somit durch die Einführung der Wasserverdampfung das Gegentheil von dem, was er erstrebte. Seine Maassnahme entspringt der richtigen, aber falsch interpretirten Beobachtung, dass Formaldehydgas nur feuchte Objecte desinficire und trockene Infectionsstoffe nahezu unberührt lasse. Diese Thatsache hat aber nichts mit Paraformbildung zu thun, sie wird durch das Wesen der Formaldehydwirkung bedingt. Formaldehyd wirkt nur dann voll abtödtend auf Bakterien, wenn ihnen Feuchtigkeit entzogen werden kann. Das Gas dringt in den Bakterienleib ein und muss in loco eine wässerige Lösung bilden können, dann erfolgt Abtödtung. Dass die baktericide Wirkung in dieser Weise vor sich geht, lässt sich durch Fuchsfärbung — Ziehl'sche Färbung — jeweilen leicht nachweisen. Es stellt sich Beizung, Gewebehärtung mit partieller Säurefestigkeit ein. Das Princip der Wasserverdampfung wäre vollkommen richtig, wenn sie lediglich den Zweck verfolgte, die Infectionssubstrate vor Beginn der Pastillenvergasung zu durchfeuchten.¹ Ich habe dies schon früher in der erwähnten Arbeit ausgesprochen. Schon die in dünner Lage eingetrockneten Sputumtheile bieten der Durchfeuchtung erhebliche Schwierigkeiten; die Geschwindigkeit der Durchfeuchtung wechselt ferner, wie mir zahlreiche Versuche gezeigt haben, recht erheblich 1. mit dem Grade der vorhandenen Eintrocknung, 2. mit der Beschaffenheit des Sputums selbst, 3. mit den hydrophilen Eigenschaften der Stofftheile, auf welchen Sputum zur Eintrocknung gelangt, ob auf Holz, Eisen, Leinwand, Flanell, Glas u. s. w. und 4. mit der Temperatur und relativen Feuchtigkeit des Raumes. Die Wasserverdampfung Flügge's müsste, wenn wir alle diese Punkte in's Auge fassen, im Minimum 24 Stunden vor Beginn der Pastillenvergasung im abgedichteten Raum vorgenommen werden, um durchfeuchtend zu wirken, und selbst nach so langer Zeit sind trockene Sputumschichten in wasserdampfgesättigter Atmosphäre nicht immer feucht genug für die Desinfection geworden, wenn pro 100^{cbm} Raum 3 Liter Wasser verdampft

¹ Nach diesem Princip verfährt Oberstabsarzt Dr. Lübbert, Chefarzt in Deutsch-Südwestafrika, und erzielte gute Desinfectionsresultate. Vgl. *Deutsche militär-ärztliche Zeitschrift*. August 1901. — Die Resultate müssten noch besser sein, wenn der Raum bei Beginn der Vergasung nicht mehr wasserdampfgesättigt wäre.

wurden. So ist denn auch bei der einzeitigen Methode Flügge's natürlich an eine Durchfeuchtung von Sputumtheilen während einer 7stündigen Desinfection gar nicht zu denken. Zur Durchfeuchtung feiner Stäubchen wird sie wohl ausreichen. Wir können aber nicht mit der Möglichkeit oder gar Wahrscheinlichkeit rechnen, dass in einem Phthisikerraum die infectiösen Keime nur in Gestalt feinsten Sputumstäubchen vorkommen. Angenommen, dies wäre der Fall, so müsste auch für diese optimalen Verhältnisse erst noch der Beweis erbracht werden, dass die Tuberkelbacillen in feinsten Theilchen auch wirklich abgetödtet werden. Ich muss dies einstweilen bezweifeln, denn die Abtödtung gelingt nicht sehr viel leichter in dünnen und feinsten Sputumlagen, als in dickeren; in feuchten eher, als in trockenen.

Die Formaldehyddesinfection muss aber noch einen weiteren Factor berücksichtigen, den die Flügge'sche Methode ebenfalls vernachlässigt, nämlich die Temperatur des Desinfectionsraumes. Mit Erhöhung der Temperatur steigert sich die Desinfectionskraft des Formaldehyds wesentlich. Im kalten Raum mit niederer Temperatur (Versuchstypus III) werden auch leicht abtödtbare Bakterien, wie Streptokokken, nur von grösseren, als den gebräuchlichen Formaldehydquantitäten berührt. Die Winterdesinfectionen in mangelhaft vorgeheizten Räumen sind deshalb auch den Sommerdesinfectionen gegenüber minderwerthig. Hierauf hat vor Jahren Copen-Jones in einem Bericht an den Davoser Aerzterverein hingewiesen und die kalten Zimmerwände für den ungünstigen Ausfall der Formaldehyddesinfection verantwortlich gemacht.

Ein Desinfectionsverfahren, welches in den allerverschiedensten Klimaten und bei allen möglichen Temperaturen zur Anwendung kommt, und dessen Wirksamkeit von der Temperatur so sehr abhängt, kann nicht umhin, auch diesem Moment Rücksicht zu tragen, wenn es berechtigten Anspruch auf Zuverlässigkeit erheben will.

Um den Forderungen der Chemie und der Bakteriologie gerecht zu werden, müsste das Verfahren etwa folgendermaassen gehandhabt werden:

1. Wasserverdampfung mit dem Flügge'schen Apparat ca. 24 Stunden vor Beginn der Pastillenvergasung, und zwar im abgedichteten Raum.

2. Im Winter und an kalten Tagen überhaupt, wenn das Thermometer unter 18° C. zeigt, Vorheizung des Desinfectionsraumes auf ca. 18 bis 20° C. Vor Beginn der Vergasung muss die Heizung vollendet und die Ofenklappen müssen geschlossen sein, um Abfluss von Formaldehydgasen durch den Kamin zu verhindern.

3. Pastillenvergasung in dem nicht mit Wasserdampf gesättigten Raum. Die Desinfection soll 24 Stunden dauern. Pro Cubikmeter müssen grössere, mindestens doppelt so grosse Paraformmengen als bisher vergast werden.

Meines Erachtens werden auch durch dieses modificirte und wirksamere Verfahren Tuberkelbacillen nicht mit Sicherheit, selbst nicht in kleineren Sputumtheilchen, vernichtet. In ihrer Vitalität dürften sie dagegen erheblich geschädigt werden.

Für alle sichtbaren Sputumtheile empfiehlt sich dringend Sublimatdesinfection mit starken Lösungen (20 proc.). Die Phthisikerräume müssen ferner nach der Formaldehyddesinfection einer gründlichen manuellen Reinigung durch Schmierseife und eventuell Lysol unterzogen werden.

Das Sublimat ist kein so hervorragendes Sputumdesinfectionsmittel, wie gewöhnlich angenommen wird. Die Tuberkelbacillen widerstehen in einem Ballen von der Grösse 6:8 mm der abtödtenden Wirkung einer 1 pro mille Lösung bis zu 6 Tagen.

Wir haben darnach alle Ursache, den bestehenden Desinfectionsmethoden nicht all' zu grosses Vertrauen entgegenzubringen und Grund genug, nach neuen Körpern zu suchen, welche den Tuberkelbacillen gegenüber als wirksamer sich erweisen.

Es ist viel schlimmer, sich sorglos in einem angeblich desinficirten Phthisikerzimmer aufzuhalten, als in einem Raum, dessen Infectiosität uns wahrscheinlich ist.

Hier anschliessend möchte ich meine Untersuchungsmethoden und für die einzelnen Versuchstypen einige Beispiele mittheilen, um die vorstehenden Thesen zu stützen.

Zahlreiche Versuche wurden vorgenommen in künstlichen Desinfectionsräumen von bestimmtem Rauminhalt, und so eingerichtet, dass an einem Thermometer der jeweilige Stand der Temperatur, an einem Haarhygrometer die relative Feuchtigkeit abgelesen und der Process der Pastillenvergasung und der Wasserverdampfung durch ein Fenster beobachtet werden konnten.

Die Desinfectionskammern gestatten die Heizung von aussen oder von innen. Sie sind eisern und doppelwandig. Die Pastillenvergasung und die Wasserverdampfung konnten in der einen Kammer gleichzeitig oder nach einander und mit beliebiger Erhöhung der Temperatur des Innenraumes vorgenommen werden. Beide Kammern erlaubten eine hermetische Abdichtung. Wenn Flammen im Inneren brannten, musste bis zur Vollendung der Vergasung und Wasserverdampfung etwas Luft zugeführt werden, dann wurde hermetisch abgeschlossen. Es wurde ferner das amtlich hier eingeführte Flügge'sche Verfahren in geheizten und ungeheizten Räumen geprüft, als einzeitige Methode nach Flügge's Vorschrift, und in meiner zweizeitigen Modification mit und ohne Heizung des Desinfectionsraumes. Viele Hunderte von Versuchen wurden ferner ausgeführt mit

Schering'schem Formalin, welches in Doppelschalen bei 18 bis 27° C. und auch bei höheren Temperaturen verdunstete.

Als Testobjecte kamen, den Forderungen der Praxis gemäss, hauptsächlich Tuberkelbacillen haltige Sputa mit Streptokokken und Staphylococcus aureus zur Verwendung. Auch faulige Sputa, Sputa mit Influenzabacillen, mit Tetrigenus u. s. w. wurden benützt. Sie wurden theils feucht, theils trocken, theils an Glas, an Leinwand-, Flanell-, Filtrirpapier-, Holzstückchen u. s. w., in dünner oder dicker Schicht eingetrocknet, exponirt. Die Temperaturen in den Desinfectionsräumen schwankten zwischen 11 und 70° C. Die relative Feuchtigkeit bewegte sich zwischen 5 und 100%, die Paraformmenge pro Cubikmeter Raum zwischen 2 und 105 g^{rm}, die Formalinmengen, welche zur Verdunstung kamen, zwischen 1/2 und 10 Liter und darüber.

Auf Glas festgetrocknete Sputumkrusten kratzte ich nach Vollendung des Versuches mit sterilen Instrumenten ab und übertrug sie auf Glycerinagar (Hesse's bzw. meinen Somatose-Heyden-Nährboden).

Die Leinwand-, Flanellfetz u. s. w. übertrug ich auf den gleichen, frisch hergestellten, möglichst feuchten Nährboden und machte nach erfolgter Quellung der Krusten Abimpfungen zum Nachweis der Lebensfähigkeit der Begleit- bzw. Mischbakterien. Die Anreicherung der Tuberkelbacillen beobachtet man durch mikroskopische Untersuchung der quellenenden Krusten. 24 Stunden lang verbleiben die Röhrchen ohne Kappenverschluss im Brutschrank, dann erhalten alle Röhrchen durchlochte Kappen. Noch feuchte Sputa werden am besten zunächst in dicker Lage auf der Agarfläche ausgebreitet. Nach 2 bis 3 Tagen beginnt man mit Ueberimpfungen, welche, wie die Stammcultur, jeden 2. bis 3. Tag mikroskopisch auf das Verhalten der Tuberkelbacillen zu prüfen sind.

Alle diese Versuche haben ohne Ausnahme ergeben, dass die Tuberkelbacillen des Sputum — selbst durch Vergasung von solchen Riesenmengen wie 105 g^{rm} Paraform pro Cubikmeter Raum — in 24 Stunden nicht abgetödtet werden¹, wenn die Sputumschichten auch so dünn eingetrocknet waren, dass sie dem Auge und damit der Sublimatdesinfection leicht entgehen können, ferner dass die Abtödtung von allen Begleitbakterien und auch der Staphylococcus aureus im Vergleich zum Tuberkelbacillus leicht gelingt, zumal bei erhöhter Temperatur und in feuchten Substraten.

Versuchstypus I (mit hohen Temperaturen).

Versuch 1. Desinfection trockener Objecte mit 105 Paraformpastillen pro Cubikmeter Raum im trockenen Raum bei hoher Temperatur.

¹ Siehe Versuchstypus I, 3 und 4.

Die relative Feuchtigkeit im Desinfectionsraum beträgt im Maximum 30⁰/₀ bei 18⁰ C. Sie sinkt mit Erhöhung der Temperatur auf 70⁰ C. naturgemäss sehr bedeutend, der ungefähren Schätzung nach auf 5⁰/₀. Gemessen konnte sie leider nicht werden.¹

Das Sputum ist eingetrocknet

1. auf Flanell,
2. auf Leinwand,
3. auf Filtrirpapier,
4. in etwas dickerer Schicht auf Glas.

Die Temperatur des Raumes wird innerhalb von 30 Minuten wie im nachstehenden Versuch von 16 auf 68⁰ C. erhöht. In der gleichen Zeit ist auch die Pastillenvergasung auf einem flachen Platinschälchen, welches auf dem Boden der aus Eisenblech gearbeiteten und mit Gas von aussen geheizten Kammer sich befindet, vollendet. Die Kammer ist hermetisch abgedichtet. Dauer der Desinfection 24¹/₂ Stunden. ¹/₂ Stunde bei aufsteigender Temperatur von 16 auf 68⁰ C., ca. 2 Stunden von 68 auf 16⁰ C. fallend, der Rest der Zeit bei 16 bis 17⁰ C.

Nach Vollendung des Versuchs wird die Sterilisationskammer geöffnet und auf die ev. Bildung von Paraform untersucht. Es zeigt sich keine Spur davon. Der Formaldehydgeruch in der Kammer ist sehr intensiv. Die Fetzen haben sich in der hochgradig trockenen Atmosphäre aufgelöst. Sie werden auf feuchten Nähragar gelegt und einige Tage bis zur erfolgten Quellung des sehr stark eingetrockneten Sputums unter Kappenabschluss der Röhren bei Brüttemperatur gehalten.

Die Ueberimpfungen zeigen, dass Staphylokokken und Streptokokken abgetödtet wurden. In 1 und 2 sind auch die Tuberkelbacillen vernichtet, in 3, dem auf Filtrirpapier eingetrockneten Sputum, zeigt sich vorübergehend eine deutliche Tuberkelbacillientwicklung, noch deutlicher ist letztere im Sputum 4, in welchem auch noch in der Ueberimpfung lebhaftige Entwicklung erfolgte. Die weiteren Ueberimpfungen versagen dagegen. Das Sputum war sehr kernreich, und man konnte den parallelen Verlauf von Leukolyse, Säurediffusion und Tuberkelbacillenabtödtung genau verfolgen.

Die Tuberkelbacillenvernichtung war nicht das Werk des Formaldehyds, wie bei 1 und 2, sonst müsste sie sich wie hier gleich gezeigt haben. Bei 3 und 4 gelang sie deshalb nicht, weil diese Sputa am längsten Trockentemperaturen exponirt und auch in dickerer Schicht als 1 und 2 eingetrocknet waren. Die Sputumauftragungen hatte ich so gewählt, wie sie etwa beim Abwischen eines auf Bettzeug geschleuderten Ballens vorkommen, wenn letzterer mit Papier oder dem Taschentuch,

¹ Bei 37⁰ beträgt die relative Feuchtigkeit noch 10 bis 15 Procent, so dass die Schätzung von 5 Procent bei 70⁰ kaum zu hoch sein dürfte.

welches die Kranken meist benützen, um das anstössige Objekt möglichst den Augen ihrer Umgebung zu entziehen, entfernt wird. Hydrophile poröse Wäsche saugt hierbei immer eine ganz erkleckliche Menge des eitrigen Ballens auf und beim Abwischen pressen die Kranken ein noch grösseres Quantum in die Stoffe hinein. Es entzieht sich ein solcher Sputumfleck, wenn er ganz trocken geworden ist, gar zu leicht dem Auge und bleibt dann undesinficirt. Die Beschmutzung von Glastheilen mit Sputum kommt in praxi auch vor, und sie kann ebenfalls Infectionen vermitteln, wenn auch nicht so leicht, wie die Verunreinigung von biegsamen Stofftheilen. Beim Biegen einer eingetrockneten Kruste bricht letztere, und es spritzen infectiöse Theilchen grösseren und kleineren Kalibers auf grosse Distanzen. Sie werden dann zertreten und aufgewirbelt.

Versuch 2. Wirkung der Formaldehydgase von 40 Pastillen pro Cubikmeter Raum im trockenen Raum auf feuchte Sputa bei hoher Temperatur. Dauer des Versuches 30 Minuten.

Die Luft des Raumes wird während der Vergasung von 20 auf 70° C. erhöht.

Die Temperatur des mit Gas geheizten Trockenschrankes, welcher vollkommen abgedichtet ist, steigt folgendermaassen:

In	5 Minuten	von	20°	auf	32° C.,
"	10	"	"	32°	" 60° "
"	5	"	"	60°	" 65° "
"	10	"	"	65°	" 70° "

Als Testobject dient eine 3^{mm} dicke Sputumlage auf Filtrirpapier (ca. 3^{ccm} Sputum). Das Sputum enthält Tuberkelbacillen, Staphylococcus aureus, albus und Streptokokken.

Das Sputum ist nach Beendigung des Versuches — nach 30 Minuten — nahezu vollkommen eingetrocknet.

1. Ausstrich der noch feuchten Theile auf Somatoseglycerinagar.

2. Steril ausgeschnittene Theile werden ebenfalls auf Somatoseagar übertragen.

Im 1. Stammasstrich: Reinculturen von Tuberkelbacillen, ebenso aus den Ueberimpfungen.

Aus den Ueberimpfungen von 2. ebenfalls Reincultur von Tuberkelbacillen.

Keine Begleitbakterien zur Entwicklung gelangt.

Die Desinfectionsresultate von Versuch 1 und 2 sind in einem gewissen Sinne einander vergleichbar. Da bei 2 nach halbstündiger Einwirkung des Formaldehyds das feuchte Sputum bei Intaktheit der Tuberkelbacillen nahezu völlig eingetrocknet, also in den Zustand erhöhter Resistenz, wie die Sputa von Versuch 1, eingetreten war, hätte auch eine 24 stündige Desinfection den Tuberkelbacillen in dem in dickerer Schicht eingetrockneten Sputum sicherlich nichts mehr gethan. Andererseits sind die Begleit-

bakterien während der halbstündigen Trockendesinfection bei hoher Temperatur ebenso vernichtet worden, wie bei 1 nach 24 $\frac{1}{2}$ stündiger Dauer des Versuchs. Dieser Versuch zeigt, wie wichtig es ist, der Temperatur im Versuchsraum Rechnung zu tragen und dass die grössten Formalinmengen das Desinfectionsresultat mit Bezug auf die Tuberkelbacillen nicht wesentlich zu beeinflussen vermögen, ob ein Sputum nun feucht oder trocken exponirt worden sei. Die Resistenz der Tuberkelbacillen ist hier eine beinahe absolute, verhältnissmässig wenig von der Sputumumhüllung abhängige. Versuch 2 zeigt ferner, dass die Trockenvergasung sehr wirksam ist und keine Paraformbildung bedingt. Die Desinfection bei 2 würde bei einer 24 stündigen Versuchsdauer und bei mittlerer, z. B. Körpertemperatur, event. wirksamer ausfallen, weil die Sputumeintrocknung sich dabei verzögert haben würde, so dass dem Formaldehyd länger Gelegenheit geboten worden wäre, seine höchste Wirksamkeit zu entfalten.

Versuchstypus II (mit mittleren Temperaturen).

Versuch 1. Desinfection feuchten Sputums durch Vergasung von 40 Pastillen (à 1^{gmm} Paraform) pro Cubikmeter Raum unter gleichzeitiger Wasserverdampfung nach Flügge bei mittlerer Temperatur.

Temperatur bei Beginn 22° C.

Relative Feuchtigkeit des Raumes 50 Procent.

Als Testobject dient feuchtes Sputum in 2 Schalen, die auf dem Boden der künstlichen Desinfectionskammer aufgestellt sind. Die Sputumschicht hat eine Dicke von 2^{mm}. Das Sputum enthält Tuberkelbacillen in mässiger Menge, Staphylococcus aureus und albus und Streptokokken. Es ist auf Filtrirpapier ausgebreitet; die eine Schale ist offen, die andere mit Filtrirpapier bedeckt. Während der Vergasung der Pastillen und der Wasserverdampfung (30^{ccm} pro Cubikmeter) steigen die Temperatur innerhalb und die relative Feuchtigkeit, letztere bis zur Sättigung; die Temperatur bis 26° C.

Bis zur Vollendung der Vergasung wurde nicht hermetisch abgedichtet, sondern soviel Luft zugelassen, als nothwendig war, um die Flammen nicht erlöschen zu lassen.

Dann völlige Abdichtung.

Der Versuch ist nach 24 Stunden vollendet.

Das Thermometer ist auf 19° C. gefallen, die relative Feuchtigkeit beträgt 100%. Die Sputa sind zu Krusten eingetrocknet. Sie werden mit steriler Schere ausgeschnitten und auf Nährböden übertragen, die Sputumschicht nach oben. Nach 24 Stunden Aufenthaltes im Brütapparat haben die Krusten sich etwas aufgeweicht. Die mikroskopische Untersuchung nach 48 Stunden ergibt Anreicherung der Tuberkelbacillen. Theile des Sputums werden auf frische Nährböden ausgestrichen, um das weitere Wachsthum der Tuberkelbacillen und ev. der Begleit- bzw. Mischbakterien zu beobachten. Nach weiteren 24 Stunden in keinem Ausstrich Staphylokokken oder Streptokokken, dagegen massenhaft Tuberkelbacillen in dichten Haufen.

Die weitere Beobachtung der Stammculturen und deren Abimpfungen, die in Abständen von 2 Tagen jeweilen gemacht wurden, ergaben Reinculturen von Tuberkelbacillen in allen Röhrrchen.

Trotz des nahezu 10 fachen Multiplums der von Flügge für die Abtötung aller Bakterien als ausreichend bezeichneten Paraformmenge, trotz Anwendung feuchten Sputums und höherer Abtötungstemperatur und dreimal längerer Desinfectionszeit haben die Tuberkelbacillen ihre volle Lebens- und Entwicklungsfähigkeit bewahrt.

Versuch 2. Desinfection feuchten Sputums durch trockene Vergasung von 40 Pastillen pro Cubikmeter Raum bei mittlerer Temperatur.

Temperatur des Raumes bei Beginn des Versuchs 20° C.

Testobject: Feuchtes, Tuberkelbacillen, Staphylococcus aureus und Streptokokken haltiges Sputum wird in 2^{mm} dicker Lage auf Filtrirpapier gestrichen und feucht in einer Schale, die mit Filtrirpapier bedeckt ist, in den Raum gestellt. Die Desinfection dauert 25 Stunden.

Das Sputum ist darnach nahezu vollkommen eingetrocknet und morsch.

Im Ausstrich Tuberkelbacillen rothviolett, Begleitbakterien intensiv dunkelblau, tief blau gefärbte Zellkerne: für starke Formalinwirkung charakteristische Färbenuancen, aus denen man auf Abtötung der Begleitbakterien, auf Beizung der Kernelemente und auf erhaltene Entwicklungsfähigkeit der Tuberkelbacillen mit Sicherheit schliessen kann.

Nach 24 und 48 Stunden und auch in den folgenden Tagen keine Colonien von Staphylokokken oder Streptokokken, aber sehr lebhaftes Tuberkelbacillenwachsthum.

Der Desinfectionseffect bei Versuch 1 mit, und bei Versuch 2 ohne Wasserverdampfung ist übereinstimmend: Abtötung der Staphylokokken und Streptokokken, lebhafte Entwicklung der Tuberkelbacillen. Die Entwicklungsfähigkeit der letzteren war in Versuch 1 etwas geringer.

Dieser Versuch zeigt ebenfalls, dass die trockene Paraformvergasung feuchten Infectionssubstraten gegenüber ebenso wirksam ist, wie die Flügge'sche feuchte. Die Tuberkelbacillen wurden aber ebenso wenig beeinflusst, wie bei feuchter Vergasung.

Das nahezu übereinstimmende Resultat dieser beiden Versuche könnte zu Ungunsten der Trockenvergasung bei Anwesenheit feuchter Objecte und so gedeutet werden, als ob der Flügge'schen einzeitigen Methode die Mängel, welche ich ihr zur Last gelegt, nicht anhafteten. Diesem Vorwurf wäre entgegenzuhalten, dass bei Trockenvergasung von 40 Pastillen pro Cubikmeter Raum die Trockenwirkung durch das Gas eine zu rasche ist. Darunter leidet die Desinfection, weil auf der Höhe der Vergasung bereits eingetrocknete Objecte vorliegen.

Bei dem Flügge'schen Experiment verdampfte das Wasser rasch, die Vergasung vollzog sich dagegen langsam. Die Wasserverdampfung brachte hier deshalb den Vorthail verlangsamer Trocknung der Objecte und ausserdem störte sie die Gasdesinfection als solche nicht, weil sie der Gasentwicklung vorseilte. Einen analogen Effect würde man bei der Flügge'schen Methode erzielen, wenn man die Wassertrommel mit kochendem statt mit kaltem Wasser füllte.

Versuch 3. Wirkung des Formaldehyds bei mittlerer Temperatur auf in dünner Schicht eingetrocknetes Sputum, welches

- a) nach Flügge's einzeitiger,
- b) nach meiner zweizeitigen Methode an und durchfeuchtet wird.

Nach Flügge:

Vergasung von 10 Pastillen pro Cubikmeter Raum.

Verdampfung v. 30^{ccm} Wasser „ „ „ = 3 Liter pro 100^{cbm}.

Temperatur bei Beginn des Versuchs 19° C.

Relative Feuchtigkeit 70 Procent.

A. Testobjecte in einer Schale, welche mit einem Blatt Filtrirpapier bedeckt ist:

1. Sputum in dünner Schicht an Flanell angetrocknet,
2. „ „ „ „ „ Filtrirpapier „
3. „ „ „ „ „ Leinwand „

B. Dieselben Testobjecte in offener Schale.

Während der Pastillenvergasung und Wasserverdampfung steigt die Temperatur auf 25° C. Die Luft hat, solange sich die Temperatur auf dieser Höhe hält, nicht ganz 100 Procent Feuchtigkeit. Mit dem Sinken der Temperatur auf 19° nach dem Erlöschen der Flammen beträgt die relative Feuchtigkeit wieder 100 Procent. Dauer der Desinfection 24 Stunden.

Alle mit dem Sputum bestrichenen Fetzeln erscheinen nach Beendigung des Versuchs trocken, die bestrichenen Stellen des Leinwandläppchens zeigen leicht feuchte Partien.

Die Fetzchen werden alle auf Agarflächen zur Quellung übertragen (Kappenverschluss).

Nach 24 Stunden Ueberimpfungen.

Nach weiteren 24 und 48 Stunden u. s. w. weder Staphylokokken noch Streptokokken gewachsen, dagegen Tuberkelbacillen in voller Entwicklung auf den Fetzchen.

Also auch in sehr dünner, trockener Sputumschicht werden Tuberkelbacillen nicht abgetödtet, selbst bei erhöhter Temperatur nicht, und obgleich die Feuchtigkeitsverhältnisse so günstig waren, wie sie eine Flügge'sche Desinfection wohl kaum jemals in praxi zu bieten vermag. Die Versuchskammer besteht aus Eisenblech und Glas und absorbiert keine Feuchtigkeit. Trockene Holz- und Tapetenwände, die Fussböden, Kleider u. s. w. nehmen dagegen bei einer Desinfection sehr viel Wasser auf Kosten der

Durchfeuchtung der Desinfektionsstoffe auf, so dass 3 Liter pro 100 ^{cbm} Raum, wenigstens in unserer trockenen Atmosphäre, zur Durchfeuchtung nicht genügen.

Versuch 3b. Zweizeitige Desinfection trockener Objecte.

Es werden 40 ^{ccm} Wasser pro Cubikmeter Raum = 4 Liter pro 100 ^{cbm} verdampft. In diesem bei 16° C. mit Wasserdampf gesättigten Raum bleiben die Testläppchen (mit Sputum in dünner Schicht bestrichen und eingetrocknet) 24 Stunden lang. Dann beginnt unter Heizung des Raumes und Herabsetzung der relativen Feuchtigkeit auf ca. 90 Procent die Pastillenvergasung (10 Pastillen à 1 ^{gmm} Paraform pro Cubikmeter Raum).

Das eingetrocknete Sputum ist in 24 Stunden nur auf dem Leinwandläppchen deutlich durchfeuchtet.

Nach vollendeter Vergasung und Auslöschen der Flamme sinkt die Temperatur mit zunehmender relativer Feuchtigkeit auf 16° C. (rel. Feuchtigkeit 100 Procent).

Dauer der Desinfection 24 Stunden.

Das nach 24 Stunden auf den Läppchen in den Culturröhrchen etwas gequollene Sputum wird auf Nährböden übertragen. Sie bleiben alle steril. Streptokokken und Staphylokokken todt. Dagegen zeigen die Tuberkelbacillen auf den Läppchen selbst und in den Ueberimpfungen lebhaftes Wachstum.

Versuch 4. Desinfection eines auf 18° C. geheizten Toilettenzimmers mit ganz wenig Mobilien nach Flügge. 80 ^{cbm} Raum, 200 Pastillen (amtliche Desinfection). Dauer der Desinfection 20 Stunden.

Testobjecte: 1. Sputum mit Tuberkelbacillen, Staphylococcus aureus und Streptokokken. 2 ^{mm} dick auf eine doppelte Lage Filtrirpapier in einer Schale mit gelüftetem Schalendeckel, so dass kein Condenswasser auf das Sputum fallen kann.

2. Sputum in dünner Schicht auf einem Fetzen Filtrirpapier. Sputa feucht mit den gleichen Bakterien wie oben. Ebenfalls in einer Doppelschale mit gelüftetem Schalendeckel.

Ausstriche von 1.: Staphylokokken und Streptokokken abgetödtet. Tuberkelbacillen in lebhafter Entwicklung.

Ausstriche von 2. nach Quellung des Sputums. Es kommen keine Begleitbakterien, wohl aber Tuberkelbacillen zur Entwicklung.

Versuch 5. Zweizeitige Desinfection eines Schlafraumes mit viel Möbeln und sehr vielen Kleidern. 90 ^{cbm} Raum, 225 Pastillen. Der Raum ist vorgeheizt und hat bei dem Beginn der Wasserverdampfung mit dem Flügge'schen Apparat 16° C., nach Vollendung derselben, nach 70 Minuten und fortgesetztem Heizen 20° C. Beginn der Pastillenvergasung bei dieser Temperatur, kurze Zeit nach beendeter Wasserverdampfung.

Dauer der Desinfection 19 Stunden.

Testobjecte: Das gleiche Sputum wie im vorangegangenen Versuch und in übereinstimmender Weise verwendet.

Cultureresultat: Begleitbakterien ebenfalls abgetödtet, die Tuberkelbacillen sind noch lebensfähig, zeigen aber geringere Wachstumsenergie als bei der vorangehenden Paralleldesinfection nach Flügge.

Dieser zweizeitige Versuch weist eine deutliche Ueberlegenheit auf gegenüber dem einzeitigen Flügge'schen. Hier kam eine zu rasche Eintrocknung durch zu hohe Temperatur oder zu grosse Paraformmengen nicht in Frage. In Folge dessen erzielte man, wenn auch nur eine geringe, so doch eine schädigende Wirkung auf die Tuberkelbacillen.

Versuchstypus III (mit niederen Temperaturen).

1. Versuch. Desinfection eines Schlafraumes nach Flügge bei niederer Temperatur (11 bis 15° C.).

80^{cbm} Raum, 200 Pastillen (amtliche Desinfection). Verdampfung von 3 Liter Wasser.

Die Desinfection dauert 16 Stunden.

Die Temperatur des Raumes betrug im Beginn 11° C. und stieg während der Verbrennung des Spiritus im Bassin für Wasserverdampfung auf 15° C., um dann wieder zu sinken. Nach 16 Stunden, am Schluss der Desinfection, wurden noch 12° C. notirt.

Testobjecte: In Tischhöhe horizontal hingelegte Culturröhrchen mit 1^{ccm} tuberkulösem Sputum ca. Wattestöpsel entfernt.

Resultat der Desinfection: In allen Ausstrichen die gleiche Bakterienflora, wie in den Controlröhrchen: Staphylo- und Streptokokken.

Der Desinfectionseffect ist also bei dieser Temperatur gleich Null. Da Staphylokokken und Streptokokken nicht abgetödtet wurden, ist natürlich an einen Einfluss auf Tuberkelbacillen nicht zu denken.

2. Versuch. Desinfection feuchten, in dünner Schicht auf Filtrirpapier, Leinwandtheilchen und auf Glas aufgestrichenen Sputums im künstlichen Desinfectionsraum bei einer Temperatur von 2 bis 8° C. durch Vergasung von 40 Pastillen pro Cubikmeter Raum. Dauer der Desinfection 24 Stunden.

Die Anfangstemperatur betrug 2° C. Sie erhöhte sich während der Pastillenvergasung auf 8° C. und sank dann wieder ziemlich rasch auf 2° C.

Das Sputum enthält Tuberkelbacillen, Staphylokokken (vereinzelte Aureuscolonien und zahlreiche albus) und Streptokokken.

Nach vollendeter Desinfection werden die Stofftheilchen, auf denen das Sputum vollkommen eingetrocknet ist, auf Agar zur Quellung des Sputums übertragen (in die Nähe des Condenswassers). Der eingetrocknete Auswurf auf Glas wird steril abgekratzt und ebenfalls auf Schrägagar gelegt.

Nach 48 Stunden ist das Sputum feucht geworden und es werden nun Ueberimpfungen gemacht. Alle Ausstriche steril. In dem gequollenen Sputum auf den Stofftheilchen ziemlich lebhaft Tuberkelbacillenenwicklung. Reinculturen von Tuberkelbacillen gewonnen.

Dieser Desinfectionsversuch mit trockener Vergasung ist vollkommener ausgefallen, als in Anbetracht der niedrigen Temperatur erwartet werden durfte. Von Paraformbildung konnte auch hier nichts bemerkt werden. Auffallend ist, dass die Tuberkelbacillen geringere Entwicklungsfähigkeit zeigten, als nach den Versuchen mit hohen Temperaturen und gleichen

oder noch grösseren Paraformmengen. Es lässt sich diese Erscheinung nur durch die Annahme optimaler Wasserentziehung erklären. Hier bei den niederen Temperaturen erfolgte sie ausschliesslich sozusagen durch das Formaldehydgas, während bei hohen Temperaturen ein Theil der Eintrocknung der Temperatur zufällt. Das Gas findet keine Objecte mit optimalem Feuchtigkeitsgehalt, sondern bereits halb eingetrocknete Substrate. So zweckmässig es einerseits wäre, sehr hohe Temperaturen zu verwenden, so verbieten sich solche andererseits aus dem Grunde zu rascher Wasserentziehung durch die gesteigerte Temperatur. Die vorausgehende Wasserverdampfung würde ihren Werth einbüssen.

Schlussätze.

Die Formaldehyddesinfection Flügge's ist kein zuverlässiges Verfahren zur Desinfection von Phthisikerräumen.

Die Methode lässt sich vielmehr im Grossen wie im Kleinen dazu benutzen, die Tuberkelbacillen beliebig gemischt inficirten tuberkulösen Auswurfs in Reinculturen zu züchten, weil nur die in Se- und Excreten vorkommenden Begleit- und Mischbakterien, *Staphylococcus aureus* inclusive, durch Formaldehyd abgetödtet werden. Die Tuberkelbacillen bleiben leben und leiden nur in geringem Maaße durch das Formaldehydgas.

Durch Vergasung von Paraform gelingt die Tuberkelbacillenzüchtung in gleicher Weise, wie durch Verdunstung von Formalin. Eine Methode, welche unter den Umständen, wie sie der Desinfection in praxi dargeboten werden, Züchtungsverfahren ist, kann unter gleichen Bedingungen unmöglich Desinfectionsmethode sein.

Formaldehyd wirkt feuchten Infectionsstoffen gegenüber weit intensiver als trockenen. Bei erhöhter Temperatur ist die Desinfectionswirkung ebenfalls gesteigert.

Eine zu weit gesteigerte Temperatur setzt andererseits die Desinfectionskraft der Gase wieder herab und zwar durch vorzeitige Eintrocknung der Infectionssubstrate.

Das Formaldehyd desinficirt in der Weise, dass es in die feuchten Bakterienleiber eindringt und in loco eine wässrige Lösung bildet und die Keime vernichtet. Eine rationelle Desinfectionsmethode muss deshalb vor Beginn der Pastillenvergasung die Infectionsstoffe durchfeuchtet haben.

Flügge's einzeitige Methode soll in eine zweizeitige umgewandelt werden. Auch aus dem Grunde der Entwertung der Gasdesinfection bei gleichzeitiger Pastillenvergasung und Wasserverdampfung empfiehlt sich die zeitliche Trennung der beiden Proceduren.

Trockenvergasung bedingt keine Paraformbildung.