Ueber die Einwirkung der Radiumemanation auf pathogene Bakterien.

Von

E. Dorn, E. Baumann und S. Valentiner.

Nach den Versuchen von Bouchard, Curie und Balthazard¹, sowie von Dorn und Wallstabe² werden kleinere Thiere durch Einathmen von Radiumemanation getödtet.

Es legt dies die Frage nahe, ob die Emanation eine ähnliche zerstörende Wirkung auf Bakterien, insbesondere pathogene, ausübt.³

Bei unseren Versuchen in dieser Richtung dienten zur Gewinnung der Emanation zunächst vier Lösungen von Radium-Baryumchlorid in kleinen Gaswaschflaschen nach H. Erdmann. Die Flaschen 1, 2, 3 enthielten relativ bedeutende — leider nicht mehr genau festzustellende — Mengen der Activität 240, 240, 1000⁴, die Flasche 4 0.5^{grm} der Activität 3000.

Weit kräftiger wirkten 30^{mg} reines Radiumbromid von Giesel, die, in wenigen Tropfen Wasser gelöst, in einem kleinen offenen Fläschchen auf dem Boden eines Reagensglases sich befanden. Den verschliessenden Gummistopfen durchsetzte ein nahe zum Boden reichendes und ein kurzes Röhrchen.

Sollte Luft oder Flüssigkeit in einem Versuchsraum mit Emanation beladen werden, so wurde dieser durch einen Gummistopfen mit langem

¹ *Comptes rendus*. 1904. T. CXXXVIII. p. 1384.

² *Physikal. Zeitschr.* 1904. Bd. V. S. 568.

³ Nachträglich ersehen wir, dass einige Versuche über Bakterien von Danysz und Curie ausgeführt sind. *Comptes rendus*. 1903. T. CXXXVI. p. 461.

⁴ Bezogen auf Uran.

und kurzem Glasröhrchen verschlossen. Zur Vermeidung einer Verunreinigung durch Luftkeime waren vor beide Röhrchen Wattefilter gelegt; diese, sowie die sämtlichen zwischen ihnen befindlichen Glas- und Gummitheile waren vorher in der Hitze sterilisirt.

Aus dem so geschützten Versuchsgefäß, der Emanationsquelle und einem kleinen Gummigebläse, das einerseits drückte und andererseits saugte, wurde ein nach aussen abgeschlossener Kreis hergestellt, in dem man dieselbe Luftmenge beliebig circuliren lassen konnte.

Der Emanationsgehalt der „Versuchsluft“ wird nicht immer der gleiche gewesen sein, vielmehr nach dem Verhältniss von Entnahme und Neubildung in der activen Substanz variirt haben.

Um indessen wenigstens einen Anhalt für die Stärke der Emanation bei den Versuchen zu gewinnen, wurde in der eben beschriebenen Weise die Luft in einem Erlenmeyer'schen Kölbchen von 63^{cm} Inhalt — was nahe den Verhältnissen der eigentlichen Versuche entsprach — mit Emanation beladen. Nach einem hier nicht näher zu erörternden Verfahren wurde gefunden, dass 1 Liter dieser Luft in 1 Minute $5 \cdot 8 \cdot 10^6$ bzw. $3 \cdot 0 \cdot 10^7$ elektrostatische Einheiten der Elektrizitätsmenge entladen hätte, je nachdem die Flaschen 1, 2, 3, 4 oder die 30^{mg} Radiumbromid (beides nach etwa 8 tägiger Ruhe) zur Activirung benutzt waren.

Eine Vergleichung der Activität beider Präparate durch Entladung eines Braun'schen Elektrometers führte auf eine nahe übereinstimmende Verhältnisszahl (5).

I. Für die meisten Versuche haben wir Typhusbacillen verwandt, die durch ihr gutes und rasches Wachsthum eine schnelle Entscheidung über das Ergebniss ermöglichen.

1. Agar, in einem Reagensglas von etwa 15^{cm} Länge und 2^{cm} Durchmesser schräg erstarrt, wurde mit einer Oese Typhusbouilloncultur gleichmässig bestrichen und sofort der Einwirkung der Emanation ausgesetzt, wobei das Gebläse 10 bis 12 Minuten im Gange erhalten wurde. Während der Versuchsdauer — in der Regel 2 bis 3 Tage — wurde das Durchblasen täglich 1 bis 2 Mal ausgeführt.

Bei Tage wurde das Präparat — und ebenso ein mit der gleichen Typhuscultur bestrichenes Controlrohr — in einem Wasserbade auf 36° C. erhalten, über Nacht auf Zimmertemperatur.

Die sämtlichen Versuche dieser Art — 11 an Zahl — führten qualitativ zu dem gleichen Ergebniss: während im Controlrohr schon nach 24 Stunden starkes Wachsthum bemerkbar war, zeigte sich im Versuchrohr auf dem Agar sehr wenig oder gar nichts, nur in dem am Boden sich ansammelnden Condenswasser, sowie an den von herabtropfendem

Condenswasser benetzten Stellen des Agar trat Entwicklung der Typhusbacillen ein.

Am wirksamsten erwiesen sich die 30 ^{mg} reines Radiumbromid in zwei Versuchen vom 4. bis 7. und 5. bis 11. November 1904. Insbesondere bei letzterem blieb der Agar von Bacillencolonieen frei, selbst nachdem die Versuchsröhre vom Emanationsapparat gelöst und 4 Tage in den Brüttschrank gesetzt war.

Nahe gleich war der Erfolg bei zwei Versuchen (8. bis 11. October) mit den Radiumchloridlösungen 1, 2, 3, welche durch längeres Stehen Emanation angesammelt hatten; recht gut wirkten auch die Lösungen 1, 2, 3, 4 auf drei Präparate (30. September bis 4. October). Mit drei anderen verlief der Versuch (vielleicht nicht ganz einwandfrei) mit schwächerer Wirkung, die geringste wurde erzielt mit Lösung 4, nachdem kurz vorher das Salz umkrystallisiert war, offenbar weil noch nicht genug Emanation sich entwickelt hatte. Uebrigens wurde bei einem sonst genau gleich geführten Versuch mit Durchblasen von emanationsfreier Luft die Entwicklung von Typhusbacillen auf Agar nicht im Geringsten beeinträchtigt. Schon nach 24 Stunden war lebhaftes Wachsthum eingetreten.

Die Emanation besitzt hiernach zweifellos eine entwicklungshemmende bzw. keimtödtende Wirkung. In der Absicht, über den Mechanismus dieser Wirkung näheren Aufschluss zu erlangen, wurden die folgenden Versuche angestellt.

2. Das senkrecht gestellte Reagensglas wurde bis etwa $\frac{1}{3}$ seiner Höhe mit Gelatine gefüllt und diese durch ein Wasserbad von 37° C. flüssig erhalten. Durch das in die Gelatine tauchende, fast bis zum Boden reichende Zuführungsröhrchen wurde 15 Minuten lang der emanationshaltige Luftstrom in der früher angegebenen Weise hindurchgetrieben, sodann die Gelatine mit Typhusbouillon geimpft und nochmals 1 Minute Emanation hindurchgeblasen.

Dann wurde das Zuführungsröhrchen so weit emporgezogen, dass es nicht mehr in die Gelatine eintauchte, diese durch Temperaturniedrigung auf 15° zum Erstarren gebracht und wieder 10 bis 15 Minuten Emanation — nunmehr durch den Luftraum über der Gelatine — hindurchgeblasen.

Dies wurde während der folgenden Tage 1 bis 2 Mal täglich wiederholt.

Gleichzeitig wurde ein zweites Reagensglas mit Gelatine und Typhusimpfung mit emanationsfreier Luft ebenso behandelt.

Beide Präparate wurden durch schwarzes Papier gegen Licht geschützt.

Der letzte Versuch dieser Art vom 28. October bis 2. November, mit 30 ^{mg} Radiumbromid, mag beschrieben werden. Die Versuchsröhre, wie die Controlröhre zeigten beide merklich gleiche Trübung durch Typhuscolonieen bis nahe an die Oberfläche. Während aber beim Controlrohr

nach der Oberfläche zu das Wachstum am kräftigsten war, lag die Stelle stärkster Entwicklung im Versuchsrohr etwa 2^{mm} unter der Oberfläche, von da bis oben war die Gelatine fast klar. Entsprechende Wahrnehmungen, nur weniger deutlich, wurden gemacht bei zwei Versuchen mit Radiumchlorid 1, 2, 3 und einem Versuch mit allen vier Radiumchloridlösungen.

3a. Weiter wurde der Einfluss der Emanation auf Typhusbacillen in Bouillon folgendermaassen geprüft (9. bis 30. December). Durch sterilisirte Bouillon, welche das Reagensglas etwa zu einem Drittel füllte, wurde 5 Minuten Emanation geblasen, dann wurde eine Oese Typhusbouilloncultur eingeführt und weiter 10 bis 12 Tage lang täglich 2 bis 3 Mal 10 Minuten Emanation hindurchgetrieben. Zur Controle diente wieder ein gleiches mit Luft ohne Emanation behandeltes Reagensglas.

2 Mal, am 10. und 13. Tage, wurden gleiche Mengen der Bouillon zu Gelatineplatten gegossen. Die Zählung der in 3 Tagen gewachsenen Typhuskeime ergab in beiden Fällen für die mit Luft behandelten Culturen etwa das Zehnfache der in den „Emanationsplatten“ vorhandenen.

Bei der zuletzt benutzten Anordnung befand sich über der Bouillon ein ziemlich beträchtlicher Raum, angefüllt mit emanationshaltiger Luft.

3b. Wir änderten bei zwei nachträglich (im Mai und Juni 1905) angestellten Versuchen das Verfahren so ab, dass der Luftraum über der Flüssigkeit möglichst eingeschränkt wurde.

Zu dem Ende ersetzten wir das Reagensglas durch einen (nach oben sich verengenden) Erlenmeyerkolben von etwa 60^{ccm} Inhalt, den wir möglichst hoch mit der Bouillon füllten. Etwas Raum musste frei bleiben, da sonst die Flüssigkeit durch das kurze Röhrchen ausgetreten wäre.

Auch hier wurde 2 Mal täglich die von 30^{mg} Radiumbromid gewonnene Emanation je 10 Minuten durchgeblasen — ebenso reine Luft durch einen Controlkolben.

Ein Versuch verlief nicht ganz rein; beim zweiten wurde nach 7 Tagen je eine Oese in Gelatine geimpft und diese in Platten gegossen. 3 Tage später zeigte die „Emanationsplatte“ nur $\frac{1}{3}$ der Keime der „Luftplatte“.

Nach 10 Tagen wurde nochmals abgeimpft und Platten gegossen: nunmehr erschienen (wieder 3 Tage später) im Gesichtsfeld eines Mikroskopes bei der „Emanationsplatte“ 2 bis 4 Colonieen, bei der „Luftplatte“ aber zahllose.

4. Es mögen noch einige Versuche mitgetheilt werden, bei denen Typhusculturen der Strahlung¹ von 5^{mg} reinen Radiumbromides aus-

¹ Aeltere derartige Versuche s. u. A. bei Aschkinass und Caspari, *Archiv für die ges. Physiologie*. 1901. Bd. LXXXVI.

gesetzt wurden. Da die active Substanz in ein dünnwandiges Glasröhrchen eingeschmolzen war, so gelangten nur β - (und γ -) Strahlen zur Wirkung, Emanation und α -Strahlen waren ausgeschlossen.

Auf die in einer Petrischale befindliche Gelatineschicht, in welche vorher eine Oese Typhusbouilloncultur eingesät war, wurde ein feiner Drahting und auf diesen das Röhrchen mit dem Radiumbromid gelegt.

Das Präparat blieb nebst einer Controlschale bei Zimmertemperatur vom 28. September bis 3. October im Dunkeln. Nach diesen 5 Tagen waren in der Controlschale überall Colonieen zu bemerken; im Versuchsobject waren da, wo das Radiumbromid gelegen hatte, gar keine, unter dem übrigen Stück des Röhrchens nur vereinzelte Colonieen mit einem Mikroskop erkennbar.

Bei einem zweiten entsprechenden Versuch (5. bis 11. October, Temperatur 26°) liess sich am 5. Tage mit dem Mikroskop eine deutliche Grenze der Wirkung des Radiumröhrchens in 10 bis 15^{mm} Abstand von demselben feststellen, innerhalb deren nur einzelne Colonieen sich entwickelt hatten.

Abimpfungen auf Agar und Bouillon aus bestrahlten Stellen dieses Gelatinepräparates im Vergleich mit nicht bestrahlten zeigten deutlich, dass eine Abtödtung der Keime stattgefunden hatte.

Eine nur 24stündige Bestrahlung einer 3 Tage alten, kräftig angegangenen Typhuscultur auf Gelatine durch die 5^{ms} Radiumbromid genügte aber noch nicht zur Abtödtung. Denn Abimpfungen von bestrahlten Stellen auf Agar und in Bouillon zeigten deutliches Wachsthum, wenn auch schwächeres, als Controlimpfungen von unbestrahlten Partieen.

II. Ausser Typhusbacillen haben wir die Erreger von Mäusetyphus, Cholera und Diphtherie untersucht und zwar durchgängig unter Verwendung der 30^{ms} Radiumbromid.

1. Ueber Mäusetyphusbacillen liegen drei einwandfreie Versuche vor mit schräg erstarrtem Agar, auf den eine Oese der Cultur aufgestrichen wurde. (Vgl. I, 1.)

Bei zweien derselben (8. bis 11. und 15. bis 17. November) war auf dem Agar selbst nichts gewachsen, nur das Condenswasser zeigte Trübung; bei einem dritten (14. bis 15. November), wo der Agar frisch und feucht war, trat auch in dem mit Emanation behandelten Röhrchen Entwicklung ein.

2. Cholera vibrionen, ebenfalls auf Agar untersucht, ergaben in zwei Versuchen (23. bis 25. und 24. bis 28. November) auf dem Agar kein Wachsthum, aber Trübung des Condenswassers.

3. Zwei analoge Agarversuche mit Diphtheriebacillen (28. bis 30. November, 30. November bis 2. December, Temp. 36°) lieferten in einem Falle gar keine, im anderen schwache Entwicklung im Versuchsrohr, bei kräftiger im Controlrohr.

Auf Löffler'schem Serum, über welches die Emanation geblasen wurde, wuchsen Diphtheriebacillen 1 Mal (3. bis 5. December 1904) schwach, ein anderes Mal (5. bis 7. December 1904) überhaupt nicht, im Controlrohr beide Male stark.

III. Nach der gegenwärtig herrschenden Anschauung¹ durchläuft die Radiumemanation mehrere (6) Zustände und sendet bei den ersten Uebergängen α -Theilchen, bei den späteren auch β -Theilchen und γ -Strahlen aus.

Für den Einfluss auf Mikroorganismen kommen zunächst sicher die β -Theilchen in Betracht, denn das Radium wirkt auch durch die Wand einer einschliessenden Glasröhre hindurch, welche Alles ausser den β -Theilchen und den γ -Strahlen zurückhält. Letztere aber werden sehr wenig absorbiert, und da die absorbierten Energiemengen für die Wirkung maassgebend sind, so wird man den γ -Strahlen höchstens einen kleinen Theil derselben zuzuschreiben geneigt sein.

Die α -Theilchen enthalten den grössten Theil der von den radioactiven Substanzen ausgesandten Energie.² Sie besitzen aber eine geringe durchdringende Kraft: eine Schicht von 0.005 mm Aluminium hält bereits die Hälfte der α -Theilchen zurück³, und man wird die gleiche Absorption in etwa 0.01 mm Wasser erwarten dürfen.

Trotzdem erscheint es uns zweifelhaft, ob den α -Strahlen ein wesentlicher Theil der baktericiden Wirkung zukommt, denn sie machen z. B. auf eine photographische Platte nur wenig Eindruck.

Am ersten könnten sie noch bei der Abtödtung der Keime auf Agar betheiligt sein, da die aufgestrichene Bouilloncultuur nur eine sehr dünne Schicht bildet.

Für die Beurtheilung der Versuchsergebnisse ist noch von Bedeutung, dass Emanation in Wasser diffundirt⁴, und dass eine nur wenig geringere Diffusion in Gelatine, Agar und Serum wahrscheinlich ist. Bei Durchblasen und auch bei längerer Berührung theilt sich die Emanation zwischen Wasser und Luft so, dass bei Zimmertemperatur ersteres im gleichen

¹ Vgl. z. B. Rutherford, *Radioactivity*. p. 326.

² Rutherford, a. a. O. p. 150 ff.

³ Rutherford, a. a. O. p. 93.

⁴ Wallstabe, *Dissertation*. Halle 1903. — *Physikalische Zeitschrift*. 1903. Bd. IV. S. 721.

Volum etwa 0.3 vom Gehalt der letzteren besitzt. Bei höherer Temperatur ist dieser Bruchtheil für Wasser noch geringer. Die in den gelatinösen Massen oder der Bouillon befindliche Emanation wird auch strahlen, aber die Strahlung (bezw. die Theilchen) wird schon auf einer kurzen Strecke absorbiert werden — für die β -Theilchen vielleicht in 1 mm auf die Hälfte sinken.¹

Hiernach wird zunächst verständlich, warum bei den Versuchen unter I, 2 in der Hauptmasse der Gelatine die Typhusbacillen sich trotz des Durchblasens der Emanation (bei 37°) merklich ebenso entwickelten, wie in dem Controlrohr. Die nahezu keimfreie Oberflächenschicht von 2 mm Dicke ist auf Rechnung der von der Luft über der Gelatine ausgesandten β -Theilchen zu setzen; α -Theilchen würden nicht so tief eindringen.

Auch das relativ langsame Abtöden der Typhusbacillen in den fast ganz mit Bouillon gefüllten Erlenmeyerkolben erklärt sich leicht, besonders wenn man beachtet, dass im Laufe der Zeit eine Anreicherung des Emanationsgehaltes in dem nach aussen abgeschlossenen Apparat erfolgt.

Die Emanation selbst verhält sich wie ein träges Gas, kann also nicht physiologisch wirken. Auch für die späteren Umwandlungsproducte ist dies nicht anzunehmen, da sie zwar in Säuren, nicht aber in Wasser löslich sind.

Die benutzten radioactiven Substanzen sind Eigenthum des physikalischen Instituts.

Hr. Geheimrat Fraenkel hatte die Freundlichkeit, die Hilfsmittel des hygienischen Instituts uns zur Verfügung zu stellen, wofür ihm auch an dieser Stelle gedankt sei.

¹ Geschätzt nach Rutherford, S. 93.