

# DEUTSCHE MEDICINISCHE WOCHENSCHRIFT.

Mit Berücksichtigung des deutschen Medicinalwesens nach amtlichen Mittheilungen, der öffentlichen Gesundheitspflege und der Interessen des ärztlichen Standes.

Begründet von Dr. Paul Börner.

Vierzehnter Jahrgang.

Redacteur Sanitäts-Rath Dr. S. Guttman in Berlin W.

Verlag von Georg Thieme, Leipzig-Berlin.

## I. Aus dem chemischen Laboratorium des pathologischen Instituts zu Berlin.

### Ueber die antiseptische Wirkung des Chloroformwassers.

Von Prof. E. Salkowski.

Seit einigen Jahren bediene ich mich zu Conservirung von Harnen, die für den Zweck späterer Untersuchung aufgehoben werden sollen, des Zusatzes von ein wenig Chloroform. Schüttelt man den Harn in einer verkorkten Flasche stark mit Chloroform durch, so sättigt er sich mit demselben nach Maassgabe der sehr geringen Löslichkeit des Chloroforms in Wasser, der Ueberschuss von Chloroform sammelt sich auf dem Boden der Flasche, und der Harn bleibt nun beliebig lange haltbar und für alle Untersuchungen verwendbar: ammoniakalische Gährung tritt in einem solchen Harn nicht ein, der Harn bewahrt dauernd seine saure Reaction.

An diese Beobachtungen anknüpfend habe ich die Einwirkung des Chloroformwassers (5 cem Chloroform oder etwa 7,5 g auf 1 l Wasser, stark durchgeschüttelt, lösen sich bei Zimmertemperatur völlig auf) bezw. des Chloroforms auf geformte Fermente und einige pathogene Bakterienformen untersucht. Wiewohl es mir bisher an Zeit gemangelt hat, die Versuche über die Wirkungen des Chloroforms abzuschliessen, soweit die Verfolgung der Sache überhaupt in meiner Absicht liegt, dürfte doch die Mittheilung der bisher erhaltenen Resultate nicht ohne Interesse sein.

Was zunächst die Wirkung auf Fermentvorgänge betrifft, so verhindert das Chloroform, soweit meine Beobachtungen reichen, alle durch die Lebensthätigkeit von Mikroorganismen bedingten Fermentationsvorgänge, so die alkoholische Gährung, die ammoniakalische Harnstoffgährung, die fermentative Spaltung der Hippursäure, die Milchsäuregährung, die bacteritische Eiweissfäulniss, während es die Wirkung der nicht organisirten, löslichen Fermente — Enzyme —, also z. B. die Wirkung des Speichelfermentes, des Pepsins, des Trypsins, Invertins, der Diastase u. s. w. nicht stört; letzteres ist z. Th. schon bekannt.

Zur Entfaltung dieser Wirkung ist natürlich stets vorausgesetzt, dass das Chloroform nicht durch Verdunstung aus der Mischung entweicht; ist aber diese Bedingung erfüllt, was sich durch einen einfachen Korkstopfen oder gut schliessenden Glasstöpsel leicht erreichen lässt, so kann man der angegebenen Wirkung mindestens auf viele Monate, wahrscheinlich unbegrenzt lange sicher sein. Die meisten meiner Beobachtungen hierüber erstrecken sich auf etwa 9 Monate, einzelne aber auch auf ein, selbst mehrere Jahre.

Auf die Besonderheiten, welche die verschiedenen Gährungsvorgänge resp. die verschiedenen conservirten Substrate hierbei darbieten, gehe ich nicht näher ein, nur einige specielle Beobachtungen mögen hier Platz finden.

1. Milch bewahrt, in einer verkorkten Flasche mit etwas Chloroform durchgeschüttelt, ihre ursprüngliche neutrale resp. schwach alkalische Reaction dauernd. Nach einigen Monaten — ziemlich regelmässig 3 Monate — gesteht sie zu einer zitternden Gallerte, welche sich durch starkes Schütteln zerstören lässt: sie trennt sich dann in einen weissen Bodensatz von Casein + Fett und eine gelbliche, klare, darüber stehende Flüssigkeit, welche sich albuminhaltig erweist. Die gleichen Erscheinungen hat auch Meissner bei steril aufbewahrter Milch beobachtet. Meissner hat die Ausscheidung des Caseins auf ein langsam wirkendes Labferment bezogen. Ob

diese Erklärung zutreffend ist, mag hier dahingestellt bleiben. Ein solches lösliches Ferment würde von der Einwirkung des Chloroforms allerdings unberührt bleiben. Jedenfalls ist das Chloroform ein Mittel, auch minimale Mengen von Fermenten nachzuweisen, deren Wirkungen sich erst im Laufe von Monaten entfalten, da man durch Anwendung desselben in den Stand gesetzt ist, die Beobachtungen beliebig lange fortsetzen zu können, ohne durch die Intercurrenz von Mikroorganismen gestört zu werden. Vor anderen ähnlich wirkenden Substanzen hat das Chloroform die Vorzüge, dass es auf die Substrate des Thierkörpers nicht verändernd einwirkt, und die Entfernung desselben zum Zweck der Untersuchung der entstandenen Producte keinerlei Schwierigkeiten macht.

2. Rohrzucker- und Traubenzuckerlösungen mit Hefe und etwas Chloroform durchgeschüttelt, gähren nicht. Dagegen ist schon am nächsten Tage der Rohrzucker in Invertzucker übergegangen. Der Grund der Invertirung liegt darin, dass das invertirende Ferment der Hefe, als lösliches Ferment, vom Chloroform nicht angegriffen wird.

3. Eiweissreiche Transsudate, der so leicht faulende Fleischauszug etc., bleiben, mit einigen Tropfen Chloroform geschüttelt, selbst nach schwacher Alkalisierung ganz unverändert und erweisen sich beim Ueberimpfen auf Nährgelatine in Plattenculturen, sowie in geschlossenen Röhren vollkommen steril, während in demselben Fleischauszug, nicht mit Chloroform versetzt, nach 2 Tagen nach Ausweis der Culturen eine ungeheure Menge von Bakterien enthalten ist. Ja selbst gehacktes Fleisch lässt sich, mit Chloroform und Wasser durchgeschüttelt, in einer verschlossenen Flasche beliebig lange ohne wesentliche Aenderung conserviren. Allerdings treten gewisse Veränderungen, wenigstens häufig, ein, welche nicht auf die Wirkung von Mikroorganismen zu beziehen sind; so macht sich oft ein ranziger Geruch bemerkbar, welcher von der allmählichen Spaltung und Oxydation eines Theiles der Fette abhängt.

Das Chloroform ist aber nicht allein ein entwicklungshemmendes Mittel, sondern auch ein nicht zu unterschätzendes Desinfections- und Vernichtungsmittel bereits entwickelter Bakterienformen.

Intensiv stinkender, von Bakterien wimmelnder Fleischauszug erwies sich, mit einigen Tropfen Chloroform durchgeschüttelt, nach einstündigem Stehen steril, während von der Controlprobe reichliche Entwicklung auf Platten und im geschlossenen Reagensglas erhalten wurde.

Was die Wirkung auf pathogene Organismen anbetrifft, so habe ich bis jetzt nur Versuche mit Milzbrandbacillen und Cholera-bacillen angestellt, also mit Bakterienformen, welche der Einwirkung von antiseptischen Mitteln am leichtesten unterliegen. Die Versuche wurden nach Koch'schen Methoden ausgeführt.

1. Seidenfäden mit sporenfreien Milzbrandbacillen, entstammend der Milz eines eben an Milzbrand zu Grunde gegangenen Meerschweinchens, wurden 24 Stunden in Chloroformwasser gelegt, dann in Gelatine gebettet, theils auf Platten, theils in Reagensgläsern: sie erwiesen sich sämmtlich steril, während von den Controlfäden, die ebenso lange in sterilisirtem Wasser gelegen hatten, eine reichliche Entwicklung ausging. Die gleiche Wirkung hatte ein mit dem gleichen Volum Wasser versetztes Chloroformwasser, während stärker (auf  $\frac{1}{4}$ ) verdünntes Chloroformwasser keine Wirkung mehr zeigte: die Bacillen blieben entwicklungsfähig.

Es zeigte sich weiterhin, dass ein Verbleiben der Fäden während einer halben Stunde genügt, um die Bacillen zu tödten.

2. Von zerquetschter Milzbrandmilz wurden einige Tropfen auf sterilisirte Nährbouillon oder Wasser übertragen, ebenso auf Chloro-

formwasser resp. solche Bonillon, die vorher mit Chloroform durchgeschüttelt worden war. Nach 30 resp. 2 Minuten wurden von diesen Mischungen Plattenkulturen hergestellt. Die Mischungen, welche 30 Minuten gestanden hatten, erwiesen sich steril, die anderen nicht. Dasselbe gilt auch für auf die Hälfte verdünntes Chloroformwasser.

3. Die desinficirende Wirkung ist ebenso an Thieren nachweisbar. Von Milzbrandblut bzw. in anderen Fällen von zerquetschter Milzbrandmilz wurde je 1 Tropfen in etwa 8 ccm sterilisiertes Wasser gebracht (a), andererseits in ebensoviel Chloroformwasser (b). Von beiden Flüssigkeiten wurde nach etwa 1stündigem Stehen je einem Meerschweinchen etwa eine halbe Pravaz'sche Spritze injicirt. Ausnahmslos waren die Thiere, die a bekommen hatten, in längstens 48 Stunden todt an Milzbrand, die b bekommen hatten, blieben vollständig gesund. Entsprechende Resultate hatten die gleichzeitig ausgeführten Ueberimpfungen der zu der Injection bei den Meerschweinchen benutzten Flüssigkeit auf Nährgelatine durch Stich.

Die Ausführung dieser Versuche bietet übrigens, wie ich nicht versäumen will, hinzuzufügen, einige Schwierigkeiten wegen der Flüchtigkeit des Chloroforms. Es ist sorgfältig darauf zu achten, dass beim Mischen des Milzbrandblutes mit dem Chloroformwasser nicht einzelne Tropfen an die Wände des Glases geschleudert werden. Da das Chloroform leicht abdunstet, so würden die Bacillen in solchen Tröpfchen der Wirkung des Chloroforms nur unvollständig unterliegen. Die Anwendung von Blut empfiehlt sich mehr, als die von zerriebener Milz, weil in letzterem Falle die Anwesenheit von größeren Gewebspartikeln den Erfolg in Frage stellen könnte.

Dagegen erweisen sich Milzbrandsporen durchaus resistent gegen Chloroformwasser. Milzbrandsporen-haltige Seidenfäden, die 24 Stunden in Chloroformwasser gelegen hatten, tödteten, unter die Haut gebracht, Meerschweinchen in 48 Stunden und gaben, in Gelatine eingebettet, reichliche Entwicklung von Milzbrandfäden. Fäden, die 3 Tage gelegen hatten, zeigten eine etwas geringere Entwicklung als die Controllfäden, die 3 Tage in sterilisiertem Wasser gelegen hatten.

Ausserordentlich energisch ist die Wirkung des Chloroformwassers auf die Kommabacillen.

Wenn man eine frische Cholera bacillencultur mit dem gleichen Volum Chloroformwasser mischt, so ist die Flüssigkeit, wie ich mich durch zahlreiche, ausnahmslos in demselben Sinne ausgefallene Versuche überzeugt habe, schon nach einer Minute vollkommen desinficirt. Impft man von dieser Flüssigkeit 1%ige Peptonlösung, die für die Entwicklung der Cholera bacillen bekanntlich sehr geeignet ist, so bleibt dieselbe nach tagelanger Bebrütung absolut klar, während die Controlllösung, mit derselben Cholera cultur vor der Mischung mit Chloroformwasser geimpft, schon nach 24 Stunden intensiv getrübt ist. Dass es sich dabei wirklich um Entwicklung von Kommabacillen handelt, wird bewiesen einerseits durch Ueberimpfung der entwickelten Controllprobe auf Gelatine durch Stich: es tritt die charakteristische Entwicklung ein, andererseits durch den intensiven Ausfall der sog. Cholera reaction mit reiner Schwefelsäure. — Beides bleibt aus, wenn man zum Ueberimpfen auf Gelatine resp. zur Anstellung der Cholera reaction die mit der desinficirten Probe geimpfte Peptonlösung nimmt.

Die conservirenden und desinficirenden Eigenschaften des Chloroforms resp. des Chloroformwassers lassen sich in mannichfaltiger Weise verwerten.

1. In der Laboratoriumstechnik zur Conservirung von Harn, von Harnstofflösung, die zur Titerstellung der Quecksilberlösung dienen, von titrirten Oxalsäurelösungen<sup>1)</sup> etc., von wässrigen Fermentlösungen aller Art, von pathologischen, eiweisshaltigen Flüssigkeiten (mit Ausnahme von Blut, das allmählich gerinnt; eine geringe Eiweissausscheidung tritt auch bei Transsudaten ein), von Gewebsausgüssen und Extracten, die man aus irgend einem Grunde vor Eintrocknen resp. Fäulniss schützen will, zur Anstellung von Verdauungsversuchen, namentlich mit Trypsin u. s. w. Nach dieser Richtung hin wird von dem Chloroform in dem unter meiner Leitung stehenden Laboratorium seit längerer Zeit ein umfangreicher Gebrauch gemacht. Kein Antisepticum leistet hierbei auch nur annähernd dasselbe, bei keinem finden sich soviel günstige Eigenschaften vereinigt, vor Allem die wichtige Eigenschaft der Flüchtigkeit, welche die Entfernung des Chloroforms, wenn sie erforderlich, durch Erhitzen oder einen Luftstrom resp. durch beides zugleich gestattet, und die grosse chemische Indifferenz des Chloroforms. Die Sterilisirung durch Erhitzen kann hier durchaus nicht an die Stelle treten, weil die Erhitzung Fermente vernichtet, Eiweiss zur Gerinnung bringt, ja selbst Harnstoff zersetzt und im Harn Ausfällung von Phosphaten, somit für die Untersuchung sehr störende Veränderungen bedingt. — Die Vortheile, die man beispielsweise

durch Conserviren von Harn in Versuchsreihen erreicht, sind durchaus nicht zu unterschätzen; man ist dadurch in den Stand gesetzt, auffallende Versuchsergebnisse, die sich oft erst beim Ueberblicken der ganzen Versuchsreihe herausstellen, jederzeit auf's Neue zu controlliren. — Nur in den seltensten Fällen dürfte hier die Anwendung des Chloroforms contraindicirt sein.

Um die Conservirung zu bewirken, braucht man nur die betreffende Flüssigkeit mit einem kleinen Ueberschuss von Chloroform zu schütteln (also etwas mehr als 5 ccm auf 1 l) und in einer verschlossenen Flasche aufzubewahren. Der Erfolg ist ganz sicher, wenn das betreffende Material nicht schon inficirt war; ist es schon inficirt, so können gewisse Zersetzungen weitergehen. Harn z. B. kann eine weitere Zersetzung von Harnstoff zeigen, weil diese durch ein von den Bakterien producirtes, aber lösliches und daher der Wirkung des Chloroforms nicht unterliegendes Harnstoffferment bewirkt wird. Selbstverständlich kann das Chloroform die Erhitzung nicht ersetzen, wenn es sich um Zerstörung aller Fermente, auch der löslichen, handelt.

An Stelle von Glycerin lässt sich ferner Chloroformwasser zur Darstellung von absolut haltbaren Fermentlösungen (Pepsin, Trypsin, Invertin) benutzen. Die Gegenwart einer kleinen Quantität Chloroform beeinträchtigt die Wirksamkeit durchaus nicht, es lässt sich aber auch vor der Anwendung mit leichter Mühe durch einen Luftstrom beseitigen.

Auch in der pharmaceutischen Technik wird man vielfach von dem Chloroformwasser resp. dem Chloroform unter Schütteln vortheilhafte Anwendung machen können.

2. Sehr geeignet erscheint das Chloroformwasser auch zur Aufbewahrung nicht zu umfangreicher anatomischer Präparate. Abgesehen von dem Uebertritt von Blutfarbstoff in das Chloroformwasser ist die Conservirung eine sehr gute, auch die Beweglichkeit der Gelenke (an Extremitäten von Kaninchen) bleibt erhalten.

An die Stelle des Chloroformwassers kann in diesem Falle auch die freie Anhängung in Chloroformdampf treten. Es genügt hierzu, wenn man auf den Boden des Glases eine Anzahl mit Chloroform gut getränkter, etwa wallnussgrosser Stücke Bimstein legt. Stücke Fleisch von etwa 1/2 Kilo Gewicht haben sich so seit dem 3. October 1887 in gut verschlossenen Gläsern ohne Fäulniss gehalten, nur eine bräunliche Farbe angenommen. Uebrigens sind diese Versuche nicht abgeschlossen, es liegt auch ganz ausserhalb meines Interessenskreises, sie weiter zu verfolgen.

Bei einer weiteren Verfolgung der Sache wird es sich vor Allem darum handeln, den störenden Uebertritt von Blutfarbstoff in die Flüssigkeit zu vermeiden. Dies könnte vielleicht durch vorheriges kurzdanerndes Einlegen in starken Alkohol geschehen. Auch eine Combination der von Grawitz angegebenen Conservirungsflüssigkeit mit Chloroform möchte sich vortheilhaft erweisen, ebenso Mischungen von Alkohol und Chloroformwasser.

3. Was die Anwendung zu Heilzwecken betrifft, so kann ich nur auf einzelne Möglichkeiten hinweisen. Man könnte an die Sterilisirung der zu subcutanen Injectionen benutzten Lösungen denken, wiewohl dagegen spricht, dass das Chloroformwasser auf Sporen nicht einwirkt. Die irritirende Wirkung des Chloroformwassers scheint nicht zu stark zu sein, wenigstens wird es von Thieren subcutan gut vertragen. Auch die innerliche Anwendung des Chloroformwassers wäre wohl des Versuches werth, da wir an wirklich wirksamen und anwendbaren Mitteln zur Desinfection des Darmcanals bekanntlich keinen Ueberfluss haben. Wenn man von Versuchen an Thieren Rückschlüsse machen kann, so werden recht erhebliche Quantitäten Chloroformwasser ohne Schädigung vertragen; so erhielt ein Hund von 36,8 k Körpergewicht 4 Tage hintereinander je 200 ccm Chloroformwasser mit dem Futter, ohne dass sich seine Fresslust verminderte etc., ein Kaninchen von 2 k 20 ccm pro Tag. Selbstverständlich wären zu therapeutischen Zwecken zuerst kleine Dosen und Verdünnungen auf die Hälfte zu versuchen. Bei der energischen Einwirkung des Chloroformwassers auf die Cholera bacillen wäre ein solcher Versuch namentlich bei der Cholera wohl gerechtfertigt.

Nur unter Ausnahmeverhältnissen wäre an eine Verwerthung des Chloroformwassers als äusserliches Antisepticum zu denken, in dessen möchte es unter Ausnahmeverhältnissen von Werth sein, wenn man die Thatsache im Auge behält, dass man in dem fast stets zur Hand befindlichen Chloroform im Nothfall auch ein, wenn auch nicht hervorragend starkes, Antisepticum und Desinficiens besitzt. Die ausserordentliche Leichtigkeit der Herstellung des Chloroformwassers durch einfaches Durchschütteln von Wasser mit etwas Chloroform begünstigt diese Anwendung, die Flüchtigkeit des Chloroforms setzt ihr freilich eine Grenze. In sehr vielen Fällen ist auf den Verbleib einer gewissen Quantität des Desinficiens am Ort der Application Werth zu legen, davon ist beim Chloroform in der Regel nicht die Rede, weil es abdunstet.

Als zweckmässig erscheinende Anwendung möchte ich noch die als Mundwasser erwähnen (mit dem gleichen Volum Wasser ver-

<sup>1)</sup> Jedoch nicht für die Zwecke der Wasseranalyse; in diesem Falle gebe ich der Oxalsäurelösung einen Gehalt an Schwefelsäure von 50 ccm auf 1 Liter; sie erhält ihren Titer dann ganz unverändert.

dünnt), im Uebrigen kann es natürlich nicht meine Aufgabe sein, die Fälle, in denen die Anwendung des Chloroformwassers zu Heilzwecken innerlich oder äusserlich oder zu pharmaceutischen Zwecken etc. von Nutzen sein könnte, zu eruiren. Ebenso wenig betrachte ich es als meine Aufgabe, die Wirkung des Chloroformwassers auf eine grössere Zahl pathogener und nicht pathogener Bakterien zu erforschen, meine Absicht war es, an der Hand der mitgetheilten Beobachtungen auf dieses übersehene Antisepticum hinzuweisen und zur Prüfung desselben nach den verschiedensten Richtungen anzuregen.