

[Aus dem Institut für Infectiouskrankheiten in Berlin.]
(Director: Geh. Med.-Rath Prof. Dr. R. Koch.)

Ueber das Hünemann'sche Verfahren der Wasser- desinfection nebst Bemerkungen über die bei der Prüfung derartiger Desinfectionsmittel anzuwendenden Untersuchungsmethoden.

Von

Stabsarzt Dr. Schüder.

Das Bestreben, ein als möglicher Weise gesundheitsschädlich anzusehendes Wasser durch Zusatz chemischer Mittel für den Genuss brauchbar zu machen, ist schon sehr alt. So erwähnt Kaufmann¹, dass die ägyptischen Fellachen das Wasser des Nils schon seit Jahrhunderten trinkbar machen durch Filtration und Sedimentirung, die, abgesehen von der in neuerer Zeit gebrauchten Alaunlösung durch zerstoßene Pfirsichkerne bewirkt wurde. — Der Zusatz chemischer Mittel soll entweder in dem zu reinigenden Wasser einen Niederschlag hervorrufen, welcher die organischen Fremdkörper und Bakterien mit niederreisst, oder die im Wasser enthaltenen Keime direct vernichten.

Die Zahl der im Laufe der Zeit zu diesen Zwecken angegebenen Mittel ist eine ausserordentlich grosse. Schumburg² hat von einer Reihe von Jahren im Auftrage der Medicinalabtheilung des Königl. Preuss. Kriegsministeriums allein über 20 derartiger, für die Wasserdesinfection angegebener Mittel geprüft mit fast ausschliesslich ungünstigem Ergebniss. Einzelne Mittel liessen gar keine, einzelne nur geringe Wirkung erkennen, andere brauchten sehr

¹ 68. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Frankfurt a/M., 21. bis 26. September 1896. (Citirt nach Schumburg.)

² *Veröffentlichungen auf dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens*. Hft. 15. S. 34 ff.

lange Zeit zur Entfaltung ihrer Wirksamkeit, so z. B. das von Kröhnke¹ angegebene Kupferchlorür und das namentlich von Althöfer² empfohlene Wasserstoffsperoxyd, welche 24 Stunden einwirken müssen; noch andere machten durch die grossen benötigten Mengen das Wasser zum Genuss unbrauchbar, wie z. B. der Kalk, der nach Liborius³ in einer Menge von 246 mg pro Liter und nach Pfuhl⁴ in einer Concentration von 10procentigem Kalkhydrat dem Wasser zugesetzt werden muss. —

Nun muss man aber von einem für die Trinkwasserdesinfection praktisch brauchbaren Mittel verlangen, dass es nicht nur sicher keimvernichtend, sondern auch möglichst schnell wirkt, leicht zu handhaben, nicht zu kostspielig ist, auch in grösseren Mengen mit dem Wasser genossen, nicht die Gesundheit schädigt, sowie das Wasser in Bezug auf Aussehen, Geruch und Geschmack nicht allzu sehr verändert.

Je mehr diesen Gesichtspunkten Rechnung getragen wurde — und das ist eigentlich bei allen neueren Untersuchungen der Fall gewesen — desto mehr verengte sich der Kreis der überhaupt für praktische Zwecke in Betracht kommenden Mittel für die chemische Desinfection des Trinkwassers und man kann behaupten, dass neuerdings eigentlich nur noch das Chlor und das Brom in Betracht kamen und in den Bereich der Untersuchungen gezogen sind.

Was zunächst das Chlor anlangt, so hat schon R. Koch in seiner grossen, in den Mittheilungen aus dem Reichsgesundheitsamt enthaltenen Desinfectionsarbeit⁵ auf die grosse baktericide Kraft der Chlorverbindungen hingewiesen und in einer Reihe von Arbeiten von Behring⁶, Sternberg⁷, Jäger⁸, Liborius⁹, Kitasato¹⁰, v. Esmarch¹¹, Pfuhl¹², Nissen¹³ sind diese Angaben bestätigt und erweitert. Im Jahre 1893 lenkte M. Traube¹⁴

¹ *Journal für Gasbeleuchtung und Wasserversorgung.* 10. Septbr. 1893.

² *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. VIII. S. 129.

³ *Diese Zeitschrift.* Bd. II. S. 15 ff.

⁴ *Ebenda.* Bd. XII. S. 509.

⁵ *Mittheilungen aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. I. S. 199 ff.

⁶ Ueber Desinfection, Desinfectionsmittel u. Desinfectionsmethoden. Behring's *Gesammelte Abhandlungen.* 1893. S. 311.

⁷ Preliminary Report made by the Committee of Desinfectants of the American Public Health Association. — Ref. Uffelmann's *Deutsche Vierteljahresschrift für öffentl. Gesundheitspflege.* 1886. Bd. XVIII. Suppl. S. 155.

⁸ *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. V. S. 247 ff.

⁹ *Diese Zeitschrift.* Bd. II. S. 15 ff.

¹⁰ *Ebenda.* Bd. III. S. 404 ff.

¹¹ *Ebenda.* Bd. V. S. 67 ff.

¹² *Ebenda.* Bd. VI. S. 97 ff.

¹³ *Ebenda.* Bd. VIII. S. 62 ff.

¹⁴ *Ebenda.* Bd. XVI. S. 149 ff.

zuerst die Aufmerksamkeit auf die Verwendung des Chlorkalks als Trinkwasserreinigungsmittel. Traube nahm sehr geringe Mengen (4.26 mg) Chlorkalk, enthaltend 1.065 mg wirksames Chlor auf den Liter und innerhalb von 2 Stunden, oder auch schon in kürzerer Zeit, sollten alle Mikroorganismen abgetödtet sein. Zur Entfernung des überschüssigen Chlorkalks genügte ein Zusatz von 2.09 mg Natriumsulfit. Traube arbeitete allerdings nicht mit pathogenen Keimen, sondern mit Bakterien aus faulender Fleischflüssigkeit. 1894 bestätigte Karlinski¹, dass 1 mg freies Chlor pro Liter Wasser zur Abtödtung aller Wasserbakterien, Cholera- und Typhusbacillen genügt, und dass bei der Combination des Chlors mit einem chemischen Filterverfahren grobe Verunreinigungen enthaltende und inficirte Wässer so gereinigt werden könnten, dass sie die strengsten Anforderungen an Gefährlosigkeit und Appetitlichkeit erfüllten. Des Weiteren bestätigte Kratschmer² 1894 durch seine Versuche, dass 3 mg Chlor auf 1 Liter Wasser sogar Milzbrandsporen abtödtete.

Lode³ und auch Bassenge⁴ haben 1895 das Traube'sche Verfahren geprüft und weiter auszubilden versucht. Lode zog auch *Bacterium coli*, Typhus, Cholera, Milzbrand, sowie künstlich und natürlich verunreinigtes Wasser in den Bereich seiner Versuche und fand, dass die von Traube angewandte Menge von 1 mg freien Chlors auf 1 Liter Wasser in kürzerer Zeit unzulänglich wirkt und ebenso auch noch nach 24 Stunden. Er erhöhte die Traube'sche Chlormenge um das 30fache, also auf 30 mg pro Liter und kürzte dafür die Einwirkungsdauer bis auf 10 Minuten ab, was einen grossen praktischen Gewinn bedeutete. Zur Bindung des unverbrauchten Chlors diente Calcium- oder Natriumsulfit. Lode wies gleichzeitig auf die mit der Zeit auftretende Werthverminderung des Chlorkalks und seine schwere Benetzbarkeit hin. Letzteren Uebelstand suchte er durch feines Verreiben in Wasser auf mechanischem Wege, wie auch durch Zersetzung des Chlorkalks mittels 0.25 gmm Citronensäure pro Liter auf chemischem Wege abzuhelfen. Lode erhielt allerdings kein klares Wasser, sondern ein durch Flocken von kohlensaurem Kalk getrübt und glaubt aus diesem Grunde eine nachträgliche Filtration in Aussicht zu nehmen, bezw. einen Zusatz von Salzsäure machen zu müssen. Bassenge gelangte ebenfalls zu einer günstigen Beurtheilung des Traube'schen Principis.

¹ Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Wien am 26. September 1894. *Wiener klin. Wochenschrift*. 1894. S. 915. Congressbericht.

² Nach Schumburg: *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens*. Hft. 18. S. 79.

³ *Archiv für Hygiene*. Bd. XXIV. S. 236 ff.

⁴ *Diese Zeitschrift*. Bd. XX. S. 227 ff.

Nach seinen Versuchen genügte ein Zusatz von 0.0978 ^{grm} activen Chlors, entsprechend 0.15 ^{grm} käuflichen Chlorkalks auf 1 Liter Wasser, um binnen 10 Min. sehr stark mit pathogenen Keimen verunreinigtes Wasser sicher keimfrei zu machen. Bei längerer Einwirkungsdauer, z. B. 2 Stunden, vermindert sich die nöthige Chlormenge auf 0.0108 ^{grm}. Das nicht verbrauchte Chlor macht Bassenge durch Calciumbisulfit (3 ^{cem} einer gesättigten Lösung = 0.02 ^{grm} freien Chlors) unschädlich, wodurch eine geringe Menge schwefelsauren Kalks als Niederschlag ausgefällt wird. Bassenge erachtet sein Verfahren als vollkommen sicher, um auf chemischem Wege sicher keimfreies Wasser herzustellen. Schumburg¹ hat 1897 auf Grund seiner Versuche das von Traube ersonnene und besonders von Bassenge ausgebildete Verfahren in seiner Wirkung als richtig und zuverlässig anerkannt und auch Löffler² sagt in dem Weyl'schen Handbuch für Hygiene, dass sich das Traube'sche Princip als überaus werthvoll für die Praxis erwiesen habe. Ballner³ bestätigt in einer Arbeit aus diesem Jahre, dass das Chlorkalkverfahren als genügend zuverlässig anzusehen sei.

Für das Brom hat 1894 Kratschmer⁴ eine dem Chlor ähnliche keimvernichtende Wirkung nachgewiesen, dann ist es 1896 gleichzeitig von Jaworowski⁵ und Schumburg⁶ zur Wasserdesinfection angewandt. Jaworowski setzte dem zu reinigenden Wasser soviel gesättigtes Bromwasser zu, dass es nach $\frac{1}{2}$ Stunde noch Bromgeruch aufweist. Das Brom wird dann mit basischem Wismuthsulfit und Wismuthoxydul beseitigt. Das Verfahren ist nach Schumburg⁷ gänzlich unbrauchbar, weil sich bei der Nachprüfung die entstandene braune, schlammige Trübung nach 24 Stunden noch nicht abgesetzt hatte. Schumburg war auf das Brom verfallen, einmal der dem Verfahren mit Chlorkalk selbst, sowie des Weiteren der Entfernung des überschüssigen Chlors anhaftenden Schwierigkeiten halber, andererseits weil Brom bei gewöhnlichem Druck bereits eine Flüssigkeit ist. Schumburg bildete sein Verfahren dahin aus, dass nach seinen Angaben⁸ mit 0.06 ^{grm} freien Broms auf 1 Liter Wasser in 5 Minuten fast sämtliche Wasserbakterien und sämtliche bisher im Wasser nachgewiesenen pathogenen Keime sicher abgetödtet werden

¹ *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15. S. 83.

² Jena 1896. S. 709.

³ *Wiener med. Wochenschrift.* 1901. Nr. 31, 33.

⁴ *Wiener klin. Wochenschrift.* 1894. S. 915.

⁵ *Ref. Pharmaceutische Centralhalle.* Bd. XXXVII. Nr. 51.

⁶ *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Hft. 15. S. 86.

⁷ *Ebenda.* S. 85.

⁸ *Deutsche med. Wochenschrift.* 1897. Nr. 10 u. 25. — *Deutsche militärärztl. Zeitschrift.* 1897. S. 289 ff.

können. Das Brom wird von ihm in Form einer Brom-Bromkalilösung angewandt, von der 0.2^{cem} 0.06^{gram} freies Brom enthalten. Das überschüssige Brom wird mit Natrium sulfurosum und Natrium carbonicum siccum ($0.095 + 0.94$) unschädlich gemacht. Ueber den Werth des Schumburg'schen Verfahrens äusserte sich zunächst 1900 A. Pfuhl¹ auf Grund seiner umfangreichen Nachprüfungen in sehr lobender Weise und stellt dasselbe unter den analogen Verfahren an die erste Stelle. Desgleichen äussert sich Ballner² 1901 dahin, dass das Bromverfahren in seiner sterilisirenden Wirkung als genügend zuverlässig anzusehen sei.

Schon ehe die Nachtheile in der Anwendung des Chlorkalks zur Wasserdesinfection Schumburg auf die Anwendung des Broms gebracht hatten, waren es 1894 Sickenberger und Kaufmann³ gewesen, welche an Stelle des Chlorkalks das unterchlorigsaure Natrium setzten und mit demselben Nilwasser sterilisirten. Sie wollen bei Zusatz von 5^{mg} reinen Chlors auf 1 Liter Wasser Vernichtung sämmtlicher Keime erzielt haben. Im Sommer d. J. haben nun Hünermann und Deiter⁴ ein Verfahren der Trinkwasserdesinfection mit Natriumhypochlorit erprobt und für durchaus brauchbar befunden, zugleich auch eine Lösung von Natriumhypochlorit mit einfachen Mitteln hergestellt, welche einen constanten Chlorgehalt ziemlich lange behält, wodurch das Verfahren an Billigkeit und Bequemlichkeit der Handhabung sehr gewinnt. Hünermann setzt von seiner NaOCl-Lösung soviel zum Wasser, dass auf den Liter 0.04^{gram} wirksames Chlor kommen, d. h. also 0.4^{cem} einer 10 procent. Lösung. Eine Einwirkungsdauer von 10 Minuten soll genügen, um alle im Wasser enthaltenen Typhus- und Colibacillen sowie Cholera-vibrionen mit Sicherheit abzutödten. Der Härtegrad und der Gehalt an organischer Substanz sollen die Desinfection nicht erheblich beeinträchtigen. Die Bindung des Chlors erfolgt nach vollendeter Desinfection mittels einer Lösung von Natriumsulfat (Na_2SO_3), von welchem 0.14^{gram} für 0.04^{gram} Chlor genügen. Eine Gesundheitsschädigung durch die angewandten Chemicalien soll nicht zu befürchten sein.

Nach dem Vorstehenden könnte es scheinen, als ob wir in dem Chlor in der Form des Chlorkalks oder unterchlorigsauren Natriums, bezw. im Brom in der Schumburg'schen Brom-Bromkalilösung geeignete Mittel zur Desinfection des Trinkwassers

¹ Diese Zeitschrift. 1900. Bd. XXXIII. S. 53 ff.

² Wiener med. Wochenschrift. 1901. Nr. 31—33.

³ Le Progrès. Journal Quotidien paraissant au Caire. 13. December 1894. (Citirt nach Bassenge.)

⁴ Deutsche med. Wochenschrift. 1901. Nr. 24. S. 391 u. 392.

besässen, welche allen an dieselben zu stellenden Anforderungen genügten. So segensreich dies auch sein würde in Wirklichkeit scheint es nicht der Fall zu sein.

Schon bei meiner Prüfung des Schumburg'schen Verfahrens¹ bin ich mit den Resultaten dieses Autors, sowie mit denen A. Pfuhl's in völligen Gegensatz gekommen, und, um es vorweg zu bemerken, bei der Prüfung des Hünemann'schen Verfahrens ist es mir nicht viel anders gegangen. Nach Abschluss meiner Versuche ersah ich aus einer im November d. J. erschienenen Arbeit von Rabs² über Trinkwasserdesinfection mittels Chlor, dass derselbe zunächst die von Lode mit Chlorkalk und Hünemann mit Natriumhypochlorit gemachten günstigen Erfahrungen vollständig bestätigt³, dass aber die Resultate mit dem Hünemann'schen Verfahren gegenüber Choleravibrionen sofort ganz andere wurden, sobald er statt der bisher üblichen Prüfungsmethoden auf die von mir s. Z. angegebene Weise⁴ untersuchte.

Ich glaube nicht zu weit zu gehen, wenn ich auf Grund der im Nachstehenden niedergelegten Beobachtungen die Befürchtung ausspreche, dass ausser dem Hünemann'schen auch die übrigen Verfahren der Trinkwasserdesinfection mittels Chlor zunächst noch als unzuverlässig in der sicheren Keimvernichtung anzusehen sind und eine wirklich praktische Bedeutung erst erlangen können, wenn sie eine Nachprüfung nach den am Schlusse von mir angegebenen Methoden bestehen würden. Die so günstigen bisherigen Resultate anderer Untersucher sind, wie ich vermuthe, durch die Unzulänglichkeit der angewendeten Untersuchungsmethoden vorgetäuscht. Zwei Fehler sind gemacht; einer von allen Untersuchern, dass sie viel zu kleine Mengen des infectirten und dann desinfectirten Wassers auf entwicklungsfähig gebliebene Keime untersuchten, der zweite, dass eine Anzahl Untersucher zum Nachweis der lebensfähig gebliebenen Keime ausschliesslich mit festen Nährböden arbeitete.

Die Prüfung des Hünemann'schen Verfahrens gestaltete sich nun folgendermaassen.

Es wurde die vom Autor übersandte Chlorklösung (10 Procent NaOCl) zu den Versuchen verwandt, nachdem jedes Mal vor ihrer Benützung der Chlorgehalt im chemischen Laboratorium festgestellt war. Zur Entfernung

¹ *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 307 ff.

² *Hygienische Rundschau.* 1901. Nr. 22. S. 1085.

³ *Ebenda.* S. 1086.

⁴ *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 312 u. 313.

des Chlors, nachdem dasselbe seine Wirkung gethan, wurde eine im chemischen Laboratorium hergestellte schweflige saure Natriumlösung (Na_2SO_3) benutzt. Bei jedem einzelnen Versuch wurde mittels Jodzinkstärkelösung festgestellt, ob etwa noch freies Chlor, welches auf die Platten mit übertragen eine Beeinträchtigung des Wachstums herbeiführen könnte, vorhanden war. Zutreffendenfalls wurde dasselbe durch Hinzufügen weiterer schwefligsaurer Natriumlösung beseitigt.

Sämmtliche Versuche wurden in gut verschliessbaren Glasgefässen angestellt, um einmal durch fleissiges Umschütteln während des Versuches eine gründliche Mischung des Chlors mit allen Theilen des zum Versuch dienenden Wassers zu erreichen, andererseits um ein Entweichen des Chlors noch während des Versuches zu verhindern. Allerdings wurden so für den Versuch etwas günstigere Bedingungen geschaffen, als dies bei der Anwendung des Verfahrens in der Praxis in den meisten Fällen wohl der Fall sein wird.

Zu den Versuchen wurde Wasser verschiedener Herkunft benutzt. Es wurde auf verschieden grosse Härte und wechselnden Gehalt an organischen Substanzen Werth gelegt, und so diente

1. destillirtes Wasser,
2. Brunnenwasser,
3. Wasser der hiesigen Wasserleitung.
4. Wasser aus dem Spandauer Schiffahrtscanal,

den Versuchszwecken.

Die keimvernichtende Kraft des Chlors wurde wie s. Z. die des Broms¹ in mehreren Versuchsreihen von mir festzustellen versucht, und zwar

1. in Wasser verschiedener Art ohne Zusatz pathogener Keime,
2. nach Zusatz von Cholera-vibrionen,
3. nach Zusatz von Typhusbacillen,
4. nach Zusatz von Ruhrbacillen.

Von den drei letzteren wurden stets 24 Stunden alte auf Agar bei 37° gewachsene Culturen benutzt. Die Culturen wurden sehr sorgfältig aufgeschwemmt und dann in dem zu inficirenden Wasser durch längeres, kräftiges Umschütteln so fein vertheilt, dass höchst selten nur noch feinste Partikelchen mit blossen Auge in dem Wasser wahrnehmbar waren. Im Allgemeinen wurde mit Zusatz geringerer Mengen pathogener Keime, als s. Z. bei der Prüfung des Schumburg'schen Verfahrens gearbeitet. Von einer Filtration der Aufschwemmungen wurde mit Ausnahme einiger Ver-

¹ Das Schumburg'sche Verfahren der Wasserreinigung mittels Brom. *Diese Zeitschrift.* Bd. XXXVII. S. 307 ff.

suche zu besonderem Zwecke aus den früher bei Prüfung des Schumburg'schen Bromverfahrens aus einander gesetzten Gründen¹ abgesehen.

Die nach Einwirkung des unterchlorigsauren Natrium zuzusetzende Lösung von schwefligsaurem Natrium wurde vor dem Gebrauch nicht sterilisirt, da wiederholt vorgenommene Plattenversuche ergaben, dass die Lösung sich keimfrei erhielt. Bei Anwendung steriler Pipetten war also nicht zu befürchten, dass dem zu den Versuchen dienenden Wasser noch nachträglich entwicklungsfähige Keime zugesetzt würden.

Die Mehrzahl der Versuche wurde wiederholt, der Controle halber. In den die Zusammenstellung der Versuche enthaltenden Tabellen sind die Wiederholungen der Versuche durch den der laufenden Nummer beigefügten Buchstaben a kenntlich gemacht.

¹ *Diese Zeitschrift*. Bd. XXXVII. S. 317 u. 318: „Mit solchen Verhältnissen wie bei den durch doppelte Filter filtrirten Aufschwemmungen, wo gewissermaassen die einzelnen Keime im Wasser schwebend dem Angriff des Broms ausgesetzt sind, wird in der Praxis selten zu rechnen sein. Es mag dies vielleicht vorkommen, wenn Wasser durch typhusbacillenhaltigen Harn verunreinigt ist, oder in einem Wasser eine grosse Vermehrung pathogener Keime an einzelnen Stellen stattgefunden hat. Bei den hauptsächlich im Wasser in Betracht kommenden pathogenen Keimen der Cholera, des Typhus, der Dysenterie geschieht die Infection des Wassers hauptsächlich durch Darmausleerungen, und in diesen befinden sich, wenn dieselben auch in Flüssen oder Gewässern stark verdünnt werden, die einzelnen Keime nicht immer so isolirt wie in einer filtrirten Culturaufschwemmung.

Aus diesen Gründen würde selbst der Nachweis, dass das Bromverfahren die pathogenen Keime in filtrirten Culturaufschwemmungen sicher vernichtet, noch nicht dafür beweiskräftig sein, dass dasselbe in auf natürliche Weise verunreinigtem Wasser der Fall ist.“

„Ausserdem habe ich bei meinen Untersuchungen gefunden, dass bei sorgfältiger Aufschwemmung von 24 Stunden alten Cholera-culturen und nach längerem, kräftigem Umschütteln dieser Aufschwemmung in dem zu inficirenden Kolben mit Wasser höchst selten mit blossen Auge noch erkennbare Partikelchen sich finden, und bei den Versuchen mit Typhus war dies überhaupt niemals der Fall.“ Und ferner:

„Ehe ich diese Versuche sammt den Ergebnissen auch in einer kleinen Tabelle zusammenstelle, möchte ich noch auf die weitere Schlussfolgerung Schumburg's aus seinem zuletzt erwähnten Versuch zurückkommen, dass man nämlich, wie schon andere Untersucher angegeben haben, zu Desinfectionszwecken zu benutzende Bakterienaufschwemmung filtriren soll. Ich meine, das Gegentheil ist richtig, denn wenn man den Werth eines Desinfectionsmittels erfahren will, soll man demselben die zu vernichtenden Bakterien nicht unter Umständen, wie dieselben am leichtesten zu vernichten sind, gegenüberstellen, sondern mindestens so, wie sie in der Praxis zu vernichten sind, nämlich in den verschiedenen Absonderungen der Erkrankten, oder eher noch unter erschwerten Umständen. Erst dann wird man sich über den Werth eines Desinfectionsmittels für die Praxis nicht täuschen.“

1.

Die erste Versuchsreihe erstreckte sich auf die Versuche, Wasser von verschieden grossem Keimgehalt von diesen Keimen mittels des Verfahrens zu befreien. Zur Ermittlung des Keimgehaltes diente vor und nach Anwendung des Chlorverfahrens das gewöhnliche Gelatineplattenverfahren. Während bei der Feststellung des Keimgehaltes vor dem Versuch je 1^{ccm} Wasser oder ein Theil davon benutzt wurde, dienten nach dem Versuch je 10^{ccm} in grossen Platten dazu, um weniger von Zufälligkeiten abhängig zu sein. Bei einem Vergleich der Zahlen in den beiden letzten Spalten der Tabelle I sind daher, um das richtige Reductionsverhältniss der Keimgehaltszahlen zu erhalten, die Zahlen in der vorletzten Spalte zehnmal grösser zu nehmen. Bei dem Versuch 5 sowie 5a wurde ein destillirtes Wasser genommen, welches schon länger im Laboratorium (in geschlossener Flasche) gestanden hatte, um recht viel Keime in demselben zu haben.

Tabelle I.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchs- menge Liter	Menge der zugesetzten 10 procentigen Hüner- mann'schen Lösung in ccm	Ein- wirkungs- dauer Minuten	Keimzahl des Wassers in 1 ^{ccm} vor dem Versuche	Keimzahl des Wassers in 10 ^{ccm} nach dem Versuche
1	destillirtes	1	0.4	10	224	1
1a	„	1	0.4	10	224	12
2	Leitung	1	0.4	10	45	0
2a	„	1	0.4	10	45	1
3	Brunnen	1	0.4	10	885	4
3a	„	1	0.4	10	885	0
4	Canal	1	0.4	10	487 000	21
4a	„	1	0.4	10	487 000	18
5	destillirtes	1	0.4	10	23 400	0
5a	„	1	0.4	10	23 400	0
6	Leitung	1	0.4	10	48	0
6a	„	1	0.4	10	48	0
7	Brunnen	1	0.4	10	870	0
7a	„	1	0.4	10	870	0
8	Canal	1	0.4	10	393 800	2
8a	„	1	0.4	10	393 800	1

Aus dieser Tabelle ergibt sich, dass der Hünermann'schen Lösung eine ganz bedeutende keimvernichtende Wirkung inne wohnt. Unter 16 Fällen gelang es acht Mal in je 10^{ccm} des behandelten Wassers keine auf Gelatine entwicklungsfähigen

Keime mehr nachzuweisen, während das Wasser vorher bis 234000 Keime in 10^{ccm} enthalten hatte. Ob das Wasser wirklich völlig keimfrei war, hätte sich nur entscheiden lassen, wenn die ganze zum Versuch benutzte Menge durchsucht wäre, was mittels Plattenverfahrens ziemlich umständlich gewesen, aber nach Analogie der Versuche mit Cholera, Typhus und Ruhr mittels Anreicherungsverfahrens nach Zusatz concentrirter, steriler Peptonlösung und Aufenthalt bei 22° durchzuführen gewesen wäre. — In den übrigen acht Versuchen, in denen die Platten nicht völlig steril blieben, ist jedenfalls auch eine so erhebliche Reduction der Keimzahl eingetreten (z. B. von 4870000 auf 21 bzw. 18 und 3938000 auf 2 bzw. 1), dass sie einer völligen Sterilisirung fast gleich zu achten ist, denn eine Abtödtung der im Wasser zuweilen vorhandenen sporenbildenden Bakterien ist billiger Weise nicht zu verlangen.

2.

In der nun folgenden Versuchsreihe wurde die keimvernichtende Kraft der Hünemann'schen Lösung auf Choleravibrionen in den gleichen Wasserarten erprobt. Von den frisch auf Agar 24 Stunden bei 37° gewachsenen Culturen wurden verschieden grosse Mengen: $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$ Cultur und je 3 und 1 Oese von Aufschwemmungen (1. Agarcultur in 10^{ccm} Wasser) dem zu untersuchenden Wasser zugesetzt. Das weitere Verfahren gestaltete sich genau so wie s. Z. bei den gleichen Untersuchungen mit der Schumburg'schen Brömlösung.¹

Die Resultate dieser Versuchsreihe enthält die folgende Tabelle II.

¹ Diese Zeitschrift. Bd. XXXVII. S. 312: „Zum Nachweis der im bromirten Wasser etwa noch lebend gebliebenen Vibrionen wurde das Pepton-Anreicherungsverfahren und die Cholerarothreaction benutzt. Anfangs wurden nebenher auch noch Gelatineplatten angelegt (Versuch 1 bis 12 der Tabelle II). Die angewandte Untersuchungsmethode erlaubte das ganze bromirte Wasser nach lebend gebliebenen Choleravibrionen abzusuchen, und hierauf ist das grösste Gewicht zu legen, wie die Versuche klar erkennen lassen. Im Einzelnen gestaltete sich das Verfahren so, dass, nachdem das Brom im Wasser durch den Zusatz der aufgelösten Tabletten unwirksam gemacht war, dem inficirten Wasser etwas gesättigte Sodalösung zugesetzt wurde, um für das Anreicherungsverfahren eine gute alkalische Reaction herzustellen. Dann wurde die ganze Wassermenge in kleine, 100 bis 200^{ccm} haltende Kölbchen vertheilt, und einem jeden soviel einer concentrirten Pepton-Kochsalzlösung zugesetzt, dass eine 1 procentige Pepton-Kochsalzlösung entstand. Die Kölbchen wurden 24 Stunden bei 37° gehalten und dann von der Oberfläche eines jeden 3 Oesen in Röhrchen mit 1 Procent Pepton-Kochsalzlösung übertragen, welche wiederum 24 Stunden bei 37° gehalten wurden. Nachdem die zweite Uebertragung stattgefunden, wurde mit den einzelnen Kölbchen die Cholerarothreaction angestellt, und wo eine solche nicht eintrat, wurde dieselbe mit dem entsprechenden Röhrchen am nächsten Tage noch einmal versucht. Diese Vorsicht

Tabelle II.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Ver- suchs- menge Liter	Zugesetzte Menge einer Agarcultur	Menge der zugesetzten 10procent. Hüner- mann's- chen Lösg. in ccm	Ein- wirkungs- dauer Minuten	Zahl der an- gesetzten Kölbchen	Zahl der die Roth- reaction gebenden Kölbchen
1	destillirtes	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	6	2
1a	"	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	8	7
2	Leitung	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	9	9
2a	"	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	9	8
3	Brunnen	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	7	0
3a	"	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	10	10
4	Canal	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	6	0
4a	"	1	$\frac{1}{2}$	0.4	10	8	8
5	destillirtes	1	$\frac{1}{4}$	0.4	10	8	8
6	Leitung	1	$\frac{1}{4}$	0.4	10	7	7
7	Brunnen	1	$\frac{1}{4}$	0.4	10	7	1
8	Canal	1	$\frac{1}{4}$	0.4	10	7	1
9	destillirtes	1	3 Oesen einer Aufschwem- mung in 10 ccm	0.4	10	8	0
9a	"	1	"	0.4	10	10	0
10	Leitung	1	"	0.4	10	7	0
10a	"	1	"	0.4	10	7	2
11	Brunnen	1	"	0.4	10	7	0
11a	"	1	"	0.4	10	8	2
12	Canal	1	"	0.4	10	8	4
12a	"	1	"	0.4	10	7	6
13	destillirtes	1	1 Oese einer Aufschwem- mung in 10 ccm	0.4	10	8	0
13a	"	1	"	0.4	10	10	0
14	Leitung	1	"	0.4	10	8	0
14a	"	1	"	0.4	10	8	1
15	Brunnen	1	"	0.4	10	9	2
15a	"	1	"	0.4	10	9	2
16	Canal	1	"	0.4	10	9	7
16a	"	1	"	0.4	10	8	4

erwies sich als durchaus erforderlich, denn es gelang mir verschiedene Male erst nach der zweiten Anreicherung, eine Rothreaction zu erzielen. Auch stellte es sich bald heraus, dass es zweckmässiger war, das zum Anreichern und zu Rothreaction bestimmte Wasser in eine Anzahl kleiner Kolben zu vertheilen, als eben mit der ganzen Wassermenge in einem grösseren Gefäss diesen Versuch zu machen.

Selbstverständlich wurde von jedem zum Versuch benutzten Wasser durch Controlkölbchen festgestellt, dass in demselben keine Rothbildner vorhanden waren.“

Die Resultate dieser Versuchsreihe sind recht wenig günstige. Unter 28 Versuchen gelang es nur neun Mal, die Cholera-vibrionen in der angegebenen Zeit von 10 Minuten im Wasser völlig abzutödten; und der Werth dieses Erfolges reducirt sich bei näherer Betrachtung nicht unerheblich. Nur zwei Mal nämlich ergab, nachdem im ersten Versuch die Cholera-vibrionen vernichtet waren, die Wiederholung des Versuches das gleiche Resultat (Nr. 9 und 9a, 13 und 13a); in den übrigen Fällen (3, 3a, 4, 4a, 10, 10a, 11, 11a, 14, 14a) ergaben die unter völlig gleichen Bedingungen angestellten Versuche ein Mal ein positives und dann ein negatives Resultat; ausserdem handelte es sich bei den beiden mit ihren Wiederholungen übereinstimmenden Versuchen um solche, die mit destillirtem Wasser angestellt waren, also die günstigsten Chancen für das Gelingen boten, aber am wenigsten mit den Anforderungen für die praktische Anwendung des Verfahrens in Einklang zu bringen sind.

In den letzten acht Versuchen waren nur sehr geringe Mengen Cholera-vibrionen (1 Oese einer Culturaufschwemmung in 10^{cem} Wasser, d. h. wenn man 1 Oese gleich 2^{mg} und den Cubikcentimeter zu 1^{grm} rechnet = $\frac{1}{5000}$ Cultur) dem Wasser zugesetzt, trotzdem versagte das Verfahren unter acht Malen fünf Mal.

Es ist auch nicht ausser Acht zu lassen, dass alle Versuche mit Cholera-culturen, die sehr lange auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet sind, angestellt wurden, welche vielleicht weniger widerstandsfähig sind, als solche, die bei praktischer Anwendung des Verfahrens in Frage kommen.

Im Uebrigen beweisen diese Versuche wiederum, worauf ich schon früher hingewiesen, dass in einem Theile des Wassers die Cholera-vibrionen (und natürlich auch andere zu Versuchen benutzte Bakterien) vernichtet sein können, in einem anderen aber nicht, und dass es daher zur Gewinnung einwandsfreier Resultate dringend nöthig ist, die gesammte inficirte und zum Versuch benutzte Wassermenge auf entwicklungsfähige Vibrionen bezw. Keime zu untersuchen.

Bei einem Vergleich der Resultate der ersten beiden Versuchsreihen muss es auffallen, dass das Verfahren den an und für sich verhältnissmässig leicht zu vernichtenden Cholera-vibrionen sich nicht so bewährte wie bei den gewöhnlichen Wasserbakterien. Dies kann ein Mal darin seinen Grund haben, wie Schumburg schon bei seinen Versuchen vermuthete¹, dass die Bakterien in den Agarculturaufschwemmungen nicht

¹ *Veröffentlichungen aus dem Gebiete des Militär-Sanitätswesens.* Heft 15. S. 106—107.

so fein vertheilt und der Einwirkung des Desinfectionsmittels nicht so sehr ausgesetzt seien wie z. B. die Wasserbakterien unter natürlichen Verhältnissen, andererseits kann aber der Grund darin liegen, dass die zum Nachweis der lebend, bezw. entwicklungsfähig gebliebenen Bakterien angewandten Methoden, im ersten Falle das gewöhnliche Plattenverfahren (allerdings mit je 10^{cem} Wasser), im anderen die Anreicherung der ganzen zum Versuche benutzten Wassermenge nicht gleichwerthige Resultate ergaben.

Um diese Frage zur Entscheidung zu bringen, wurde nach beiden Richtungen hin ein Versuch angestellt.

Zunächst wurden Versuche mit durch Filtrirpapier filtrierten Aufschwemmungen von Cholera-culturen gemacht. Ich bemerke hier aber nochmals ausdrücklich, dass dies nur zu eben erwähntem Zwecke geschah, dass aber aus diesen Versuchen, soweit sie günstig ausfielen, aus früher eingehend erörterten Gründen¹ gar nichts für die Brauchbarkeit des Hünermann'schen Verfahrens für die Praxis geschlossen werden darf. Die Versuche wurden im Uebrigen analog den in Tabelle II enthaltenen ausgeführt, und sind in der nächsten Tabelle zusammengestellt.

Tabelle III.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge Liter	Zugesetzte Culturmenge (filtrirt)	Menge der zugesetzten Hünermann'schen Lösung in cem	Einwirkungsdauer Minuten	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der die Rothreaction gebenden Kölbchen
1	destillirtes	1	1/2 Cultur	0.4	10	9	0
1a	„	1	1/2 „	0.4	10	9	1
2	Leitung	1	1/2 „	0.4	10	7	0
2a	„	1	1/2 „	0.4	10	8	1
3	Brunnen	1	1/2 „	0.4	10	10	0
3a	„	1	1/2 „	0.4	10	9	6
4	Canal	1	1/2 „	0.4	10	7	6
4a	„	1	1/2 „	0.4	10	10	4

Also auch die Choleravibrionen in filtrirten Aufschwemmungen wurden unter acht Mal nur drei Mal vernichtet (Nr. 1, 2, 3) und bei der Wiederholung der drei Versuche nicht völlig (1a bis 3a).

¹ Diese Zeitschrift. Bd. XXXVII. S. 318.

Hiernach ist es mir nicht wahrscheinlich, dass die Vertheilungsart der Keime im Wasser die merklichen Unterschiede zwischen den in der Tabelle I und II enthaltenen Resultaten verschuldet habe. Es handelte sich nun weiter um einen Vergleich der Leistungsfähigkeit des gewöhnlichen Plattenverfahrens mit grösseren Wassermengen, gegenüber dem Anreicherungsverfahren. Zu diesem Zweck wurden die Aufschwemmungen der Choleraculturen in sterilem Wasser gemacht und den sorgfältig sterilisirten und auf Keimfreiheit geprüften verschiedenen Wasserarten zugesetzt. Es geschah dies deshalb, um auf den Platten, soweit Colonieen wuchsen und zu zählen waren, nur Cholera zu haben. Nachdem das Hünemann'sche Verfahren durchgeführt war, wurden zunächst von jedem Liter Wasser mittels steriler Pipetten je vier Mal 10^{ccm} entnommen, in grossen Schalen zu Agarplatten verarbeitet, und 24 Stunden bei 37° belassen. Der Rest des Wassers (960^{ccm}) wurde mittels Anreicherungsverfahren und Cholerarotheaction wie bei den anderen Versuchen untersucht.

Am nächsten Tage wurden die auf den Platten zur Entwicklung gekommenen Keime der Sicherheit halber noch in Röhrchen mit Peptonlösung abgeimpft zur Anstellung der Rothreaction, obgleich, abgesehen von Luftkeimen, kaum etwas Anderes als Cholera auf den Platten zur Entwicklung kommen konnte. Das Resultat dieser in der nächsten Tabelle enthaltenen Versuchsreihe war ein recht überraschendes und lehrreiches:

Tabelle IV.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Eingesetzte Culturmenge	Menge der zugesetzt. Hünemann'schen Lösung in ccm	Einwirkungs-dauer in Min.	Zahl der angesetzten Kölbchen	Zahl der die Rothreaction gebenden Kölbchen	Zahl der Colonieen auf je vier Platten in 10 ccm	
								darunter Cholera-keime	andere Keime
1	destillirtes	1	1	0·4	10	9	9	0	2
2	Leitung	1	1/2	0·4	10	8	2	0	0
3	Brunnen	1	3 Oesen	0·4	10	8	1	0	4
4	Canal	1	3 „	0·4	10	10	7	0	0

Bei der näheren Prüfung der auf den Agarplatten gewachsenen Colonieen ergab sich, was schon mikroskopisch wahrscheinlich erschien, dass es sich nur um darauf gefallene Luftkeime und nicht auch nur bei einer einzigen Colonie um Cholera handelte!

Es stellte sich also heraus, dass in den vier Versuchen das Plattenverfahren bei 37° mit je 40^{cem} Wasser keine Cholera-vibrionen mehr zur Entwicklung kommen liess — selbst dort nicht, wo sämtliche Kolben Rothreaction gaben (Nr. 1) —, während mittelst der Anreicherungs-methode in jedem Falle noch entwicklungsfähige Vibrionen in mehr oder minder grosser Menge nachgewiesen werden konnten.

Hiermit ist die Ueberlegenheit des Anreicherungsverfahrens über das bisher so viel geübte Plattenverfahren und die eventuelle Unzulänglichkeit des letzteren für derartige Untersuchungen, wie die vorliegenden, besiegelt.

Diese Resultate lassen mir nachträglich noch die Differenzen zwischen meinen Resultaten und denen Schumburg's und A. Pfuhl's bei den Untersuchungen über die Einwirkung des Bromverfahrens auf Cholera-vibrionen im Wasser, welche ich damals¹ mit den verschieden grossen zum Nachweis derselben benutzten Mengen des bromirten Wassers zu erklären suchte, in anderem Lichte erscheinen. Vielleicht sind es damals nicht einzig und allein die verschiedenen Versuchsmengen (1^{cem} und die ganze zum Versuch benutzte Wassermenge) gewesen, sondern auch der Unterschied zwischen dem Plattenverfahren und der Anreicherungs-methode, welche solche grosse Differenzen in den Resultaten zeitigten.

Das Ergebniss der letzten Versuche veranlasste mich, nun doch nochmals auf die erste Versuchsreihe zurückzugreifen und den dort schon angedeuteten Versuch anzustellen, in Wasser, welches nach dem Plattenverfahren keimfrei erschien, mittels des Anreicherungsverfahrens noch nach entwicklungsfähigen Keimen zu suchen.

Es wurde genau wie in der ersten Versuchsreihe gearbeitet, und nur nach Entnahme der 10^{cem} für die Platten mittels steriler Pipette der ganzen übrigen Wassermenge eine sterile, concentrirte Kochsalz-Peptonlösung zugesetzt und dieselbe bei 22° gehalten. Täglich wurden dann Gelatineplatten mit je 1.0 und 0.1^{cem} angelegt und bei 22° aufbewahrt.

Wie die Tabelle V zeigt, waren beim Versuch 3 und 4 schon mit dem Plattenverfahren entwicklungsfähige Keime nachgewiesen, und konnte daher nur noch für Versuch 1 und 2 das Anreicherungsverfahren zum Vergleich herangezogen werden.

Das Resultat stand in völliger Uebereinstimmung mit dem der Versuche mit Cholera.

¹ Diese Zeitschrift. Bd. XXXVII. S. 317.

Tabelle V.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge Liter	Menge der zugesetzten Hünemann'schen Lösung in ccm	Einwirkungsdauer Minuten	Zahl der zur Entwicklung gekommenen Colonieen auf Gelatineplatte mit 10 ^{ccm}	Platten nach dem Anreicherungsverfahren
1	destillirtes	1	0.4	10	0	übersät mit Colonieen
2	Leitung	1	0.4	10	0	„
3	Brunnen	1	0.4	10	5	—
4	Canal	1	0.4	10	3	—

Schon die Platten, welche 24 Stunden nach der Anreicherung angelegt waren, waren nach weiteren 24 Stunden mit Colonieen übersät.

Das nach dem Plattenverfahren keimfrei erscheinende Wasser beherbergte also doch noch entwicklungsfähige Keime.

Dieses Resultat lässt das an und für sich so günstige der Tabelle I denn doch noch in anderem Lichte erscheinen, indem Zweifel, ob bei den Versuchen völlige Keimfreiheit bezw. eine so hochgradige Reduction der Keimzahl, wie sie das Plattenverfahren ergeben, in Wirklichkeit erreicht ist, wohl mehr als berechtigt sind.

3.

Für die dritte Versuchsreihe dienten Typhusbacillen als Versuchsobject. Die Versuchsanordnung war die, dass die zu inficirenden Wasserarten vorher sorgfältigst sterilisirt wurden, um später bei der Identificirung der gewachsenen Colonieen keine Schwierigkeiten in Folge anderer, aus dem Wasser stammender und noch zur Entwicklung gekommener Keime zu haben. Das Agglutinationsverfahren mit einem Serum 1:100 verdünnt, diente zur Erkennung der gewachsenen Typhusbacillen. Zunächst wurde zum Nachweis der lebend gebliebenen Typhuskeime nur das Agarplattenverfahren mit je 10^{ccm} Wasser angewandt, als aber schon in den Versuchen Nr. 1, 3a, 4, 7 u. 8 nur wenige und bei Nr. 5 u. 6 gar keine Typhuscolonieen auf den gewöhnlichen Agarplatten zur Entwicklung kamen, wurde bei den Versuchen Nr. 9 bis 16a das Anreicherungsverfahren mittels steriler Pepton-Kochsalzlösung bei 37° 24 Stunden angewandt und dann erst das Plattenverfahren. Zu letzterem wurde ausserdem nicht der gewöhnliche Agar benutzt, sondern ein besonderer Nährboden, welcher die Typhuscolonieen ganz charakteristisch wachsen lässt¹, so dass dieselben schon

¹ Ueber denselben wird in nächster Zeit von Stabsarzt Dr. v. Drigalski und Dr. Conradi, welchen die Herstellung gelungen, berichtet werden. — Anmerkung

makroskopisch deutlich von anderen zu unterscheiden sind. Es wurden die Untersuchungen dadurch sehr erleichtert, aber trotzdem nicht verabsäumt, in jedem Falle auch noch die Agglutinationsprobe zu machen.

Die Benutzung dieses Nährbodens bot noch den weiteren Vortheil, dass in jedem Fall zu sehen war, ob es gelungen war, die Versuche von Anfang bis zu Ende steril, d. h. unter Ausschluss aller anderen, als der Typhusbakterien durchzuführen. Wie ich gleich bemerken will, ist dies unter den 12 Versuchen 11 Mal vollkommen gelungen, und bei der einen Ausnahme waren neben den bei Weitem überwiegenden Typhuscolonieen einige wenige andere Colonieen zur Entwicklung gekommen, welche wegen ihrer minimalen Anzahl nicht stören konnten.

Vor dem Anreicherungsverfahren und der Anwendung des besonderen Nährbodens wurden zu Vergleichszwecken stets auch noch gewöhnliche Agarplatten mit 10^{cem} Wasser angelegt.

Eine Uebersicht über die gewonnenen Resultate giebt die nächste Tabelle VI. Der Vollständigkeit der Versuche halber sind auch Versuche mit filtrirter Culturaufschwemmung hinzugefügt (Nr. 17 bis 20).

Lässt man bei Betrachtung des Inhalts der Tabelle zunächst die letzte Spalte ausser Acht, so würde eine erhebliche Einwirkung des Verfahrens auf Typhusbacillen nicht zu verkennen sein. Unter 28 Versuchen waren 9 Mal Typhusbacillen in 10^{cem} Wasser mittels des Plattenverfahrens überhaupt nicht mehr und 11 Mal nur in einzelnen Exemplaren nachzuweisen, während 7 Mal, darunter 2 Mal bei filtrirter Culturaufschwemmung (Nr. 18 u. 20), noch zahlreiche Typhusbacillen lebend geblieben waren.

Sobald man aber die in der letzten Spalte der Tabelle enthaltenen Ergebnisse mit in Rechnung zieht, ändert sich das Bild vollkommen. Nach Anwendung des Anreicherungsverfahrens ist unter 16 Versuchen nicht ein einziges Mal die völlige Vernichtung der Typhuskeime gelungen — während es nach dem gewöhnlichen Plattenverfahren unter diesen 16 Versuchen 7 Mal der Fall gewesen sein sollte — auch dann nicht, wenn zur Einsaat nur eine geringe Menge Typhusbacillen (3 Oesen einer Aufschwemmung im Condenswasser der Cultur) benutzt worden war. —

Die Versuche bestätigen, abgesehen von der ungenügenden Wirkung des Verfahrens Typhusbacillen gegenüber, ebenso wie die vorhergehenden die Unzulänglichkeit des bisher geübten Plattenverfahrens für derartige Untersuchungen.

Tabelle VI.

Laufende Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge in Liter	Zugesetzte Culturmenge	Menge der zugesetzten Hünemann'schen Lösung in ccm	Einwirkungs-dauer in Minuten	Typhus-Colonienzahl auf Agarplatten mit je 10 ^{ccm} Wasser	Typhuscolon. auf Platten, 3. u. 4. Verdünnung von je 0.1 Wasser nach dem Anreicherungsverfahren
1	destillirtes	1	1/4 Cultur	0.4	10	3	—
1a	„	1	1/4 „	0.4	10	sehr zahlreich	—
2	Leitung	1	1/4 „	0.4	10	„ „	—
2a	„	1	1/4 „	0.4	10	Platte verdorben	—
3	Brunnen	1	1/4 „	0.4	10	sehr zahlreich	—
3a	„	1	1/4 „	0.4	10	2	—
4	Canal	1	1/4 „	0.4	10	7	—
4a	„	1	1/4 „	0.4	10	sehr zahlreich	—
5	destillirtes	1	1 Oese Cultur	0.4	10	0	—
6	Leitung	1	1 „ „	0.4	10	0	—
7	Brunnen	1	1 „ „	0.4	10	2	—
8	Canal	1	1 „ „	0.4	10	1	—
9	destillirtes	1	1/4 Cultur	0.4	10	2	übersät mit Colonien
10	Leitung	1	1/4 „	0.4	10	3	„
11	Brunnen	1	1/4 „	0.4	10	5	„
12	Canal	1	1/4 „	0.4	10	2	„
13	destillirtes	1	3 Oesen Condenswasser-Aufschwemmung	0.4	10	0	„
13a	„	1	„	0.4	10	0	„
14	Leitung	1	„	0.4	10	0	„
14a	„	1	„	0.4	10	0	„
15	Brunnen	1	„	0.4	10	7	„
15a	„	1	„	0.4	10	0	„
16	Canal	1	„	0.4	10	sehr zahlreich	„
16a	„	1	„	0.4	10	0	„
17	destillirtes	1	1/4 Cultur filtrirt	0.4	10	0	„
18	Leitung	1	1/4 „	0.4	10	zahlreich	„
19	Brunnen	1	1/4 „	0.4	10	3	„
20	Canal	1	1/4 „	0.4	10	sehr zahlreich	„

4.

In der vierten und letzten Versuchsreihe dienten Ruhrbacillen¹ als Versuchsobject. Es wurde in gleicher Weise mit sterilen Materialien gearbeitet wie bei den Versuchen mit Typhus, und neben dem Plattenverfahren das Anreicherungsverfahren mit nachfolgender Benutzung von Platten aus einem besonderen Nährboden¹ für Ruhrbacillen, sowie der Agglutinationsprobe angewendet.

Das Ergebniss war folgendes:

Tabelle VII.

Lfd. Nr.	Art des Wassers	Versuchsmenge i. L.	Zugesetzte Culturmenge	Menge der zugesetzten Hünemann'schen Lösung in cem	Einwirkungs-dauer in Min.	Ruhrcolonienzahl auf Agarplatten mit 10 ^{cem}	Ruhrcolonienzahl auf Platten, 3. Verdünnung mit 0.1 ^{cem} nach dem Anreicherungsverfahren
1	destillirtes	1	1/4 Cultur	0.4	10	0	sehr zahlreich
1a	„	1	1/4 „	0.4	10	0	übersät
2	Leitung	1	1/4 „	0.4	10	0	„
2a	„	1	1/4 „	0.4	10	0	„
3	Brunnen	1	1/4 „	0.4	10	0	„
3a	„	1	1/4 „	0.4	10	0	„
4	Canal	1	1/4 „	0.4	10	0	„
4a	„	1	1/4 „	0.4	10	0	keine

Das Resultat ist also analog den vorhergehenden Versuchen. Die Ruhrbacillen werden nicht mit Sicherheit abgetödtet. Trotzdem mittels des Plattenverfahrens in 10^{cem} keine mehr nachzuweisen waren, ergab das Anreicherungsverfahren unter 8 Malen 7 Mal ein positives Resultat. Auf einzelnen Platten waren einige Colonieen von Luftkeimen gewachsen.

Bevor ich das Gesamtergebniss meiner Untersuchungen zusammenfasse, möchte ich noch eine Erklärung für diese abweichenden Resultate des Plattenverfahrens zu geben versuchen. Wie einige Versuche zeigten, in denen auf Agarplatten, von einer Aufschwemmung einer Oese Cultur in 1 Liter sterilisirtem Wasser angelegt, nach 24 Stunden bei 37° ein sehr reichliches Wachstum der eingesäten Bakterien stattgefunden hatte, kann es sich bei der Anwendung des Plattenverfahrens ebenso wenig um eine Schädigung der Bakterien auf plasmolytischem Wege durch das Uebertragen aus dem zum Versuch dienenden Wasser in dem salzhaltigen Nähragar, wie um eine mangelhafte Beschaffenheit des benutzten Nähragars gehandelt haben.

¹ Veröffentlichung hierüber von anderer Seite steht noch bevor.

Auch die anerkannt rapide Vermehrung der Bakterien in ihnen zugesagenden Nährböden reicht wohl für eine genügende Erklärung nicht aus. Denn wenn sich z. B. bei den Versuchen mit Typhus wirklich in 10^{cem} nur 2 bis 3 bis 4 noch entwicklungsfähige Keime gefunden hätten, während sich nach der Anreicherung auf den Verdünnungen der mit 0.1^{cem} angelegten Platten noch bis 900 Colonieen fanden, so würde das heissen, dass eine Vermehrung in 24 Stunden stattgehabt haben musste, die jede Verstellung eigentlich übersteigt.

Die am meisten Wahrscheinlichkeit für sich habende Erklärung ist mir die, dass das dem Wasser zugesetzte Desinfectionsmittel (vielleicht auch im Verein mit dem später zugesetzten Bindemittel) durch Eindringen und Haftenbleiben in den Bakterienhüllen einen Theil derselben zunächst nur in ihrer Entwicklungsfähigkeit geschädigt hat. Während nun bei der Anreicherung im flüssigen, zum weitaus grössten Theil aus Wasser bestehenden Nährboden auf endosmotischem Wege die Bakterien die sie nur schädigenden Substanzen bald wieder abgeben, bleibt dieser Vorgang auf festen Nährböden aus, oder geht nur so langsam vor sich, dass eine bleibende Wachsthumshemmung die Folge ist.

Eine solche Erklärung würde nicht nur mit sämtlichen Untersuchungsergebnissen im Einklang stehen, sondern durch einzelne derselben noch eine besondere Stütze erfahren, nämlich durch alle diejenigen, in denen die Platten steril blieben und das Anreicherungsverfahren die entwicklungsfähig gebliebenen Keime nachwies.

Ganz besonders möchte ich in dieser Beziehung den Versuch Nr. 1 der Tabelle IV hervorheben. Hier waren nach dem Chlorverfahren soviel Cholera vibrios entwicklungsfähig geblieben, dass in jedem der 9 Kölbchen, in welche die zum Versuch benutzte Wassermenge gethan war, nach der Anreicherung eine ausgesprochene Rothreaction auftrat, während das Plattenverfahren vor der Anreicherung, trotzdem 40^{cem} des Wassers, also der 25. Theil der ganzen Versuchsmenge (in der eine gleichmässige Vertheilung des eingesäten Volumens stattgefunden) und ungefähr die Hälfte der in einem der Kölbchen enthaltenen Wassermenge, hierzu benutzt waren, nicht einen einzigen noch entwicklungsfähigen Cholera vibrio nachwies! —

Die Thatsache der Unzuverlässigkeit des Plattenverfahrens für den Nachweis der nach Desinfectionsversuchen noch entwicklungsfähig gebliebenen Keime überhaupt, wie auch ihrer

Zahl nach, ist ganz besonders hervorzuheben, weil gerade neuere und neueste Arbeiten das Plattenverfahren bei der Prüfung von Desinfectionsmitteln wieder in den Vordergrund stellen.

So sind 1897 Krönig und Paul bei allen ihren so zahlreichen, mit Desinfectionsmitteln aller Art angestellten Versuchen¹ von den flüssigen Nährböden abgegangen und zu einem ganz gleichmässig dargestellten Agar übergegangen, weil die flüssigen Nährböden nicht erlaubten, festzustellen, wie viele Bakterien nach der Desinfection noch keimfähig geblieben wären.² Dies erlaubt nun aber, wie meine Versuche feststellen, auch das Agarplattenverfahren nicht, denn ausser den auf den Platten zum Wachsthum gekommenen Keimen können sich zweifellos unter den eingeführten viele befunden haben, die auf anderen, günstigeren (flüssigen) Nährböden noch zur Entwicklung gekommen wären und daher nicht als „entwickelungsunfähig“ ohne Weiteres bezeichnet werden können und in den Versuchen von Krönig und Paul Platten ohne Wachsthum erhielten, ist damit durchaus nicht bewiesen, dass die eingesäten Bakterien überhaupt nicht mehr entwicklungsfähig waren. Nebenbei sei noch bemerkt, dass genannte Autoren, wohl in Folge des Plattenverfahrens, viel zu kleine Aussaatmengen zum Nachweis eben noch entwicklungsfähiger Keime benutzt haben. Auch in einer erst im April v. Js. erschienenen Arbeit: „Entwurf zur einheitlichen Werthbestimmung chemischer Desinfectionsmittel mit besonderer Berücksichtigung der neuen Theorien der Lösungen“ sagt Paul³, nachdem er seine und Krönig's Forderung: „Die Zahl der noch entwicklungsfähig gebliebenen Bakterien muss nach Ablauf derselben Zeit festgestellt werden, aus diesem Grunde können nur feste Nährböden benutzt werden“, citirt hat⁴, dass wir bei Desinfectionsversuchen für quantitative Versuche an der Verwendung fester Nährböden festhalten müssen.⁵ Er schlägt daher für die Ausführung der einheitlichen Werthbestimmung den Agarnährboden von gleichmässiger Herstellung vor.

Ich bin auf Grund meiner Versuche zu der Ueberzeugung gekommen, dass wir bisher keine Untersuchungsmethode besitzen, um die keimschädigende Wirkung eines Desinfectionsmittels quantitativ mit Sicherheit zu bestimmen, — und damit wird auch die vergleichsweise Bestimmung unsicher — denn das allein für solchen Zweck anwendbare Plattenverfahren ist

¹ Ueber die Grundlagen der Lehre von Giftwirkung und Desinfection. *Diese Zeitschrift*. Bd. XXV. S. 1—112.

² *Ebenda*. S. 16.

³ *Zeitschrift für angewandte Chemie*. 1901. S. 333 u. 357.

⁴ *Ebenda*. S. 337.

⁵ *Ebenda*. S. 357.

nicht zuverlässig genug. Dasselbe erlaubt höchstens von „auf Agar bzw. Gelatine nicht mehr entwicklungsfähigen Keimen“ zu sprechen, was für die praktische Anwendbarkeit eines Desinfectionsmittels unter Umständen recht wenig bedeuten kann, wie meine Versuche zeigen, und ausserdem gestattet das Verfahren immer nur verhältnissmässig kleine Materialmengen ohne grössere Schwierigkeiten zu durchsuchen.

Wir können nur mittels Anwendung flüssiger Nährböden, Anreicherung, Benutzung grösserer Mengen Untersuchungsmaterials und dann erst folgendem Plattenverfahren feststellen, ob ein Desinfectionsmittel alle eingesäten Keime entwicklungsunfähig gemacht hat oder nicht, und das bleibt für die Beurtheilung des praktischen Werthes solcher Mittel stets die Hauptsache.

Mein Schlussurtheil über das geprüfte Hünemann'sche Verfahren muss ich dahin zusammenfassen:

1. Das Verfahren scheint den Keimgehalt eines auch stärker verunreinigten und sehr bakterienreichen Wassers erheblich herabzusetzen, in einzelnen Fällen dasselbe vielleicht auch völlig keimfrei zu machen.

2. Das Verfahren vernichtet in einzelnen Fällen Cholerakeime mit Sicherheit, doch bilden diese Fälle nur die Ausnahme. Häufig findet nur eine sehr erhebliche Verringerung der Zahl statt.

3. Typhusbacillen werden nicht sicher vernichtet, wenn auch eine gewisse Schädigung derselben in vielen Fällen unverkennbar ist.

4. Auch filtrirten Culturaufschwemmungen von Cholera- und Typhusbakterien gegenüber ist das Verfahren durchaus nicht zuverlässig.

5. Ruhrbacillen werden nicht sicher vernichtet, trotzdem dieselben nach den bisherigen Erfahrungen zu den leicht zu vernichtenden pathogenen Keimen zu gehören scheinen.

6. Das Hünemann'sche Verfahren scheint im Ganzen eine grössere keimschädigende Wirkung als das Schumburg'sche Verfahren mittels Brom auszuüben¹, namentlich gegenüber den Typhuserregern, auf welche es bei uns in erster Linie ankommen würde.¹

¹ Auch Bollner (*Wiener med. Wochenschrift*, 1901, Nr. 31—33) spricht dem Chlor eine intensivere Wirkung als dem Brom zu, indem er sagt: „in ihrer sterili-

Wenn nun auch nach heutigen Anschauungen ein Wasser, welches nachweislich noch entwicklungsfähige Krankheitserreger enthält, vom Genuss und überhaupt vom Gebrauch auszuschliessen ist, so dürfte es doch vielleicht durchaus nicht gleichgültig sein, in welchen Mengen, bezw. in wie weit in ihrer Entwicklungsfähigkeit geschädigt pathogene Keime von Menschen aufgenommen werden. Das Hünermann'sche Verfahren dürfte daher immerhin einen wesentlichen Fortschritt bedeuten und bei einer etwa möglichen Vervollkommenung das erstrebenswerthe Ziel einer völligen Vernichtung von pathogenen Keimen im Wasser vielleicht ganz erreichen. Ob eine längere Einwirkung der Chlorklösung, oder grossen Mengen derselben, oder Beides günstigere Ergebnisse zeitigen würden, müssten Versuche lehren. Die praktische Verwendbarkeit des Verfahrens würde aber jedenfalls durch die Forderung einer 20 Minuten oder noch länger dauernden Einwirkung der Chlorklösung eine erhebliche Einschränkung erfahren, sind doch schon 10 Minuten für solche Zwecke praktisch eine recht lange Zeit!

Die grossen Unterschiede zwischen Hünermann's und meinen Untersuchungsergebnissen finden ihre Erklärung in der Verschiedenheit der angewandten Untersuchungsmethoden z. Th. wohl auch nebenher darin, dass Hünermann mit filtrirten Culturaufschwemmungen gearbeitet hat. Hünermann ist wohl bei seinen Untersuchungen ähnlich wie s. Zt. Schumburg und A. Pfuhr beim Bromverfahren in erster Linie durch die Benutzung viel zu kleiner Mengen des Untersuchungsmaterials und auch durch die Unzuverlässigkeit des Plattenverfahrens irreführt worden.

Zum Schlusse meiner Arbeit möchte ich nun noch kurz die Anforderungen präcisiren, welche meiner Ansicht nach bei Untersuchungen, wie die vorliegende und ähnlichen an die Untersuchungsmethode gestellt werden müssen, um zu einwandfreien Resultaten zu gelangen.

1. Das bisher geübte Plattenverfahren (Agar, Gelatine) mit festen Nährböden ist nur dann ausschlaggebend, wenn die Platten **nicht steril** bleiben, bezw. wenn sich auf denselben die zu den Versuchen benutzten Keime wiederfinden. Zweckmässig sind Platten mit mindestens 10^{ccm} des Untersuchungsmaterials, oder auch mehrere solche.

sirenden Wirkung erweisen sich also beide Verfahren (Loden, Schumburg) wenn auch vielleicht nicht als gleichwerthig, so doch genügend zuverlässig“ und „das Chlorkalkverfahren lässt uns als das in bakteriologischer Hinsicht überlegene erscheinen“. Allerdings hat Bollner bei seinen vergleichenden Untersuchungen mit beiden Verfahren nicht mit Cholera und Typhus gearbeitet.

2. Bleiben solche Platten nicht steril, so kann die auf ihnen zur Entwicklung gekommene Colonieenzahl nicht ohne Weiteres zu einem Schluss auf die Menge der vernichteten Keime dienen, denn es können solche Platten noch eine grosse Anzahl nur geschädigter Keime enthalten, welche unter günstigeren Bedingungen noch entwicklungsfähig sind; das wirkliche Reductionsverhältniss ist also nicht zu ermitteln.

3. Bleiben die Platten mit festen Nährböden steril, so ist in jedem Falle a) eine der Eigenart des zum Versuch benutzten Bacteriums entsprechende Anreicherungsverfahren vor dem Plattenverfahren einzuschalten, und b) hierzu, wenn irgend möglich, die ganze zum Versuch benutzte bezw. inficirte Menge — bei Untersuchungen im grösseren Styl mindestens aber ein Quantum von einem oder einigen Litern — zu verwenden.

4. Für Untersuchungen mit Choleravibrionen ist ein Anreicherungsverfahren sehr leicht durchzuführen, weil man anstatt des nachfolgenden Plattenverfahrens direct die Cholera-rothreaction benutzen kann, und daher nicht steril zu arbeiten braucht. Ein Controlversuch hat nur nachzuweisen, dass das zu den Versuchen benutzte Wasser keine Rothbildner von vornherein enthalten hat.

5. Auch für Typhus- und Ruhrbacillen ist wie bei meinen Versuchen ein Anreicherungsverfahren ohne allzu grosse Mühe durchzuführen, sobald man unter Ausschluss anderer Keime durch Sterilisation des zum Versuch dienenden Wassers u. s. w. arbeitet. Eine Erleichterung bieten noch beim nachfolgenden Plattenverfahren die erwähnten besonderen Nährböden. Zweckmässig dürfte bei der Anreicherung auch hier eine Vertheilung der zum Versuch benutzten Wassermenge in eine grössere Anzahl kleiner Kölbchen sein, um ein genaueres Urtheil über den Effect der Desinfection zu erlangen.

6. Sollen andere Bakterienarten als Versuchsobjecte dienen, so ist sinngemäss zu verfahren.

7. Jeder Versuch ist zu wiederholen.

Zuletzt möchte ich noch die Vermuthung aussprechen, dass möglicher Weise einzelne bisher als gute Desinfectionsmittel angesehene Substanzen, bezw. deren bisher übliche Concentration und Einwirkungsdauer sich bei näherer Prüfung nach den soeben aufgestellten Grundsätzen weniger zuverlässig, als bisher

geglaubt, erweisen könnten, was praktisch unter Umständen von weittragender Bedeutung sein würde. Es würden Versuche nach dieser Richtung sich wohl lohnen, so z. B. mit dem im Grossen bei der Abwässerreinigung gebrauchten Chlorkalk¹, welcher bisher als zuverlässiges Desinfektionsmittel für Trinkwasser gegolten hat und ausserdem in neuerer Zeit für die Desinfection mit Typhusbacillen inficirter Badewässer als leicht erhältliches, billiges, ungefährliches und sicher wirkendes Desinfektionsmittel empfohlen ist.²

¹ Dunbar-Zirn, Beitrag zur Frage über die Desinfection städtischer Abwässer. *Hygienische Rundschau*. 1899. S. 406. — Proskauer-Elsner, Ueber die hygienische Untersuchung des Kohlebreiverfahrens zur Reinigung von Abwässern auf der Klärstation in Potsdam. *Ebenda*. S. 461.

² Babucke, *Centralblatt für Bakteriologie*. 1900. Bd. XXII u. XXIII. S. 800.