

M



Über den Nachweis
des *Bacterium coli* in den Wässern und
über den Wert dieses Nachweises für die
hygienische Beurteilung.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

Medizin, Chirurgie und Geburtshülfe

an der

Hohen medizinischen Fakultät
der Königlichen Universität Greifswald

von

Fumio Totsuka

aus Tokyo in Japan.



Druck von F. W. Kunike, Ges. m. b. H.
1908.

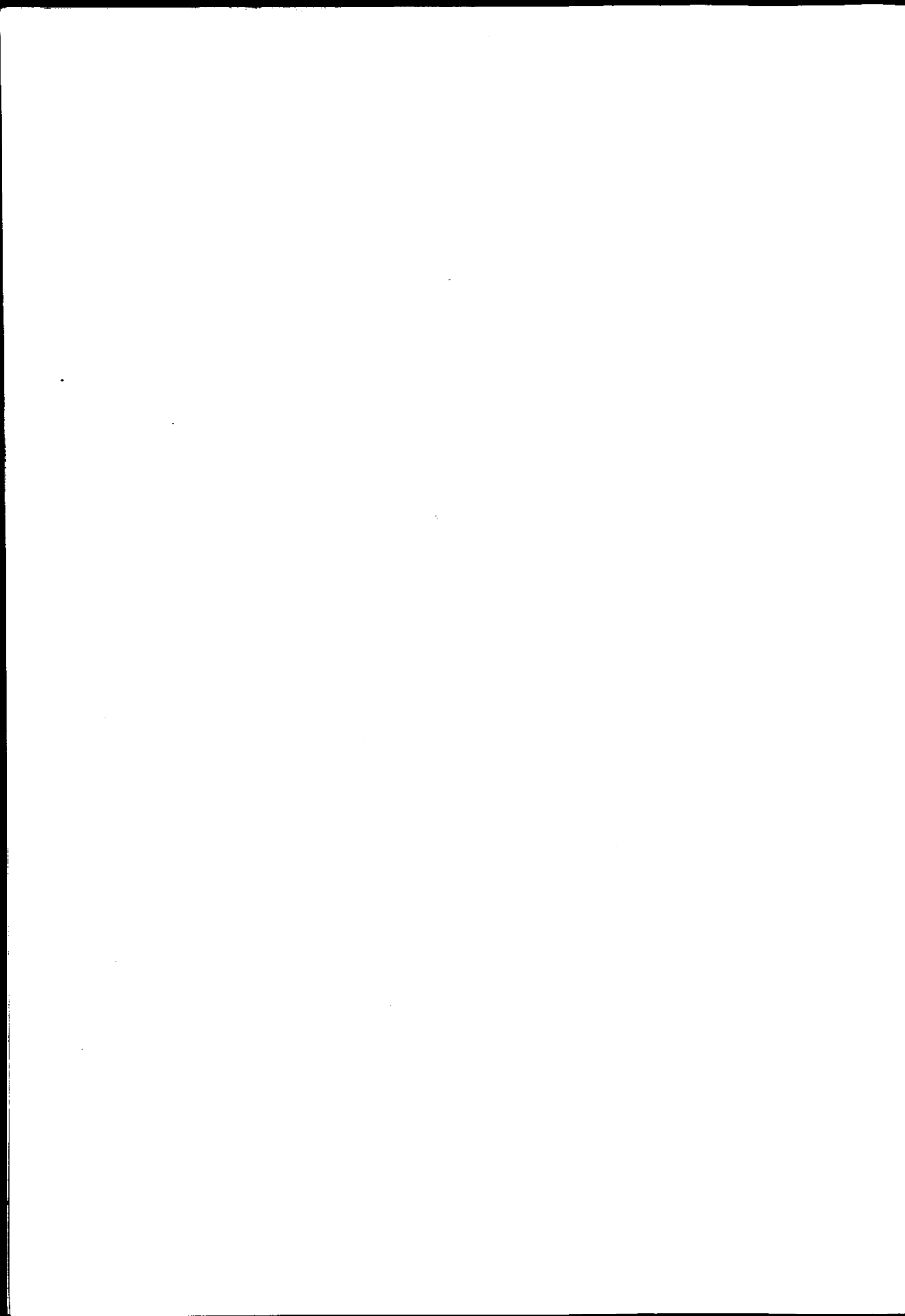
Eingereicht am 18. Januar 1908.

Gedruckt mit Genehmigung der Hohen medizinischen Fakultät
der Königlichen Universität Greifswald.

Dekan: Professor Dr. Bleibtreu.

Referent: Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler.

Meiner Mutter
und
dem Andenken meines Vaters.



Der Nachweis der Typhusbakterien in verdächtigen Wässern hat seit langer Zeit die Forscher beschäftigt. Als ein ausserordentlich störendes Moment hat sich bei den Versuchen, Typhusbakterien aus solchen Wässern zu isolieren, die Anwesenheit des *Bacterium coli* erwiesen.

Im Jahre 1894 wurde von Grimbert in der *Semaine médicale* ein lehrreicher Versuch mitgeteilt, aus dem die Bedeutung der gleichzeitigen Anwesenheit des *Bacterium coli* in einem typhusbazillenhaltigen Wasser besonders deutlich hervortrat. Er brachte 2 Tropfen einer Colikultur mit 1 ccm einer Typhusbazillenkultur in 1 Liter steriles Wasser, teils mit teils ohne den von Péré empfohlenen Carbolzusatz. Als er nach 3 Tagen Gelatineplatten aus dem Wasser anlegte, kamen einzig und allein Colibakterien zur Entwicklung, während in einer Wasserprobe, in der Typhusbakterien aber keine Colibakterien eingebracht waren, die Typhusbakterien sich vollkommen lebensfähig erhalten hatten. Es hatten mithin die an Zahl geringeren Colibakterien durch ihr rapides Wachstum die Typhusbakterien zum Absterben gebracht. Dieses Ueberwuchern der Colibakterien ist dann von verschiedenen Forschern bestätigt worden. Auch ich habe bei derartigen Versuchen vielfach das gleiche Resultat erhalten.

Da nun die Colibakterien typische Darmbewohner sind und überall da, wo sich Typhusbakterien finden, mit ihnen vergesellschaftet vorkommen, so lag der Gedanke nahe, daß der Nachweis von Colibakterien in einem Wasser allein schon genügen konnte, um ein Wasser für verdächtig zu erklären, auch wenn der Nachweis von Typhusbakterien in ihm nicht gelang. Jedenfalls schien durch den Nachweis der Colibakterien in einem Wasser eine Verunreinigung desselben mit faekalen Stoffen bewiesen zu sein; es konnte mithin das Colibakterium als Indicator für faekale Verunreinigungen angesehen werden.

Die Ansichten über den Wert des Colinachweises als Indicator faekaler Verunreinigungen sind indessen sehr geteilte. Nach Ansicht der einen ist der Wert dieses Nachweises ein sehr minimaler, da wie sie auf Grund ausgedehnter Untersuchungen aller möglichen Materialien behaupten, das Colibakterium ein ubiquitärer Organismus sei, der sich überall in der Natur finde, und dessen Anwesenheit in einem Wasser eine faekale Verunreinigung keineswegs beweise; auch in dem reinstem Wasser sei er stets vorhanden.

Demgegenüber betonten andere Forscher, daß das Colibakterium ein spezifischer Darmbewohner des Menschen und der Tiere sei, daß es nur da gefunden würde, wo Faekalstoffe hingelangt seien, daß es in einem vor solchen Verunreinigungen geschützten reinen Wasser niemals gefunden würde, regelmäßig aber in Wässern, die mit solchen Stoffen verunreinigt seien, anzutreffen sei.

Die erstere Ansicht wird ganz besonders vertreten

von Kruse und seinen Schülern: „Eine noch größere Bedeutung als den Fäulniserreger“, sagt Kruse, „messen viele Autoren der Anwesenheit des *Bacterium coli commune* im Wasser zu. Dasselbe soll direkt auf Verunreinigung mit menschlichen Faekalien hinweisen. Wenn nun diejenigen, die dieses Kriterium aufstellen und bei der Wasser-Analyse praktisch verwerten, eine auch nur einigermaßen sicher begründete Bakterienspezies darunter verständen und sich Mühe gäben, ein im Wasser gefundenes Bakterium mit allen Mitteln der jetzt recht komplizierten Diagnostik mit jenem Typus zu identifizieren, so würde das *Bacterium coli* wohl seltener gefunden werden. Leider ist man im allgemeinen sehr im Unklaren darüber, was man unter diesem Namen zu verstehen hat, es ist weniger eine Art als ein Gattungsbegriff, der schon durch eine kleine Zahl von Charakteren, namentlich gewissen übereinstimmenden morphologischen Verhältnissen und Aehnlichkeit des Wachstums in den gewöhnlichen Nährböden bestimmt wird.

In dieser Weise aufgefaßt ist das *Bacterium coli* aber in keiner Weise charakteristisch für die Faeces der Menschen oder Tiere, solche Bakterien finden sich überall, in der Luft, im Boden, im Wasser allerverschiedensten Ursprungs“.

Und in der Tat, die Untersuchungen zahlreicher Forscher haben ergeben, daß sogenannte Colibakterien überall in der Umgebung des Menschen gefunden werden. So fand sie Henke in dem eitergetränkten Verbandstücke von einem durchgebrochenen Empyen. Er sprach sich folgendermaßen aus: „Wir haben also ein neues

Beispiel dafür, daß der Sitz des *bac. coli*. das jetzt eine so große Rolle spielt und der Erregung aller möglichen Affektionen beschuldigt wird, nicht einzig und allein der kranke oder gesunde Kot von Erwachsenen oder Kindern ist, sondern daß es auch in der Außenwelt sich findet; und ich glaube, wenn man sich die Mühe gibt, darauf zu achten, wird man es recht häufig finden“.

Gilbert und Choquet fanden es in der Mundhöhle gesunder Menschen und zwar von 60 untersuchten Personen fanden sie es 27 mal = $45\frac{1}{2}\%$, Bordas und Joulin fanden es im Obstwein, Papasotiriu konstant in Teig und Mehl und ebenso sehr oft im Getreide, Gordan bei der Pflanzenfäulnis als denjenigen Organismus, der stets wiederkehrte und die Hauptrolle spielte, Cacace konstant im Staub von Schulzimmern, Pfuhl und Brunner auf der Kleidung von Soldaten, Solowjew und Zileniew im Staub von Spitalgeräten, Heubner an den Fingern und dem Nagelfalze usw. Weißenfeld fand es in Wässern der verschiedensten Herkunft, in guten wie in schlechten. Auch Miquel war der gleichen Meinung. Abba behauptete, daß das gewöhnliche Bakterium coli sehr wahrscheinlich unter normalen Verhältnissen im Wasser vorkomme; Moroni fand es in einigen Quellwässern in der Umgebung Parmas auf.

Den entgegengesetzten Standpunkt, daß das *Bacterium coli* nicht ubiquitär sei, vertrat von Freudenreich. Derselbe fand, daß es in jedem schlechten Wasser reichlich vorhanden ist, daß es in bakterienarmen und chemisch guten Wässern aber nur spärlich vorhanden ist, daß es aber, wenn es sich um ein als gut anerkanntes

Wasser handelt, auch ganz fehlt. Chick fand ebenfalls, daß es nur in verunreinigtem Wasser, nicht aber in reinem Wasser, ebenso wenig in Getreide und Mehl vorkomme, er fand die tieferen Schichten der Sandfilter und Drainagewässer meist frei von Bakterien coli. 440 Untersuchungen verschiedener Nahrungsmittel, Trinkwasser, Milch, Butter, Käse, Fische, Büchsenkonserven usw. lieferten nur 19 mal Bakterien coli und zwar 17 mal in Milch, 2 mal in Schellfisch. Luft, trockner Straßenschmutz und Straßenstaub in beträchtlichen Mengen untersucht — Luft einige hundert Liter, Staub 0,2—0,6 gr — waren stets frei von Bakterien coli, welche Trockenheit und Sonne schlecht vertragen. Er betrachtet demnach das Bacterium coli als wichtigen Indicator einer Verunreinigung durch Effluvia des menschlichen Haushaltes.

Auch Houston verneint aufs entschiedenste das ubiquitäre Vorkommen der Colibakterien in der Natur. Zahlreiche Forscher sind auf Grund ihrer Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangt, daß das Bacterium coli ein wichtiger Indicator für faekale Verunreinigung eines Wassers sei, wenn es in demselben in reichlicher Menge vorkomme. Sie halten daher die quantitative Bestimmung des Bacteriums coli für außerordentlich wichtig für die Beurteilung von Wässern, so Savage, Christian, Jordan, Clark und M'Gage, Schardinger, Venema und Pretruschky und Pusch.

Es kommt daher nicht nur darauf an, eine sichere Methode zu haben zum Nachweis des Bacterium coli, sondern auch auf eine sichere Methode, um die Mengen

desselben zu bestimmen. Für den Nachweis des *Bacterium coli* sind nun eine ganze Reihe von Verfahren angegeben worden.

Vincent (1890) verwendete eine 2%ige Peptonbouillon mit 0,7 pro Mille Carbolsäurezusatz, setzte zu je 10 ccm davon 5—15 Tropfen Wasser und hielt dasselbe auf 42 Grad, Parietti (1891) eine neutrale Bouillon mit 0,46—1,38 pro Mille Carbolsäure und 0,037—1,12 pro Mille Salzsäure. Zu je 10 ccm gab er 1—10 Tropfen des zu untersuchenden Wassers und hielt die Mischung auf 37 Grad.

Péré (1891) verwandte zuerst größere Mengen des zu untersuchenden Wassers. In einen sterilisierten mit Marken versehenen Filterkoben brachte er 100 ccm einer aus gleichen Teilen Fleisch und Wasser hergestellten neutralen Bouillon, fügte 50 ccm einer neutralen, sterilen 10%igen Peptonlösung hinzu und weiterhin 600—700 ccm des zu untersuchenden Wassers. Zu dieser Flüssigkeitsmasse wurden dann noch 20 ccm einer 5%igen Carbollösung zugesetzt, und schliesslich wurde mit dem zu prüfenden Wasser bis zur Litermarke aufgefüllt. Die 1000 Teile der Mischung enthielten danach 100 Teile Bouillon, 5 Teile Pepton, 1 Teil Carbolsäure und 830 Teile des zu untersuchenden Wassers. Diese 1000 ccm Flüssigkeit wurde in 10 sterilisierte, mit Wassertropfen versehene Gefäße verteilt und auf 34 Grad gehalten.

Kleber (1894) erhielt noch bessere Resultate hinsichtlich der Gewinnung des *Bacterium coli*, wenn er den Gehalt der Carbolsäure in den Nährflüssigkeiten auf 2 pro Mille erhöhte.

Schardinger (1894) verwendete eine 5% Zucker enthaltende Bouillon, um eine Anreicherung des *Bacterium coli* zu erzielen. Gewöhnlich verwandte er 30 ccm Bouillon und 70 ccm Wasser und reicherte bei 37 Grad durch 24 Stunden hindurch an. Sehr gute Resultate erhielt er auch außer der Zuckerbouillon durch Zusatz von 1 gr Pepton (Witte) und 1 gr Kochsalz in 10 ccm Wasser gelöst, zu 100 ccm des zu untersuchenden Wassers und 24stündiger Verbrütung.

Burri (1895) modifizierte das Verfahren derart, daß er der Nährlösung anstatt 2 pro Mille Carbonsäure 0,75% Wasser, frei von Soda zugab, bei 34 Grad bebrütete und von den getrübten Flüssigkeiten mit je 1 ccm Agar Platten von obigem Sodagehalt goß und diese ein bis zwei Mal 24 Stunden im Brütapparat hielt.

von Freudenreich (1895) verwandte statt der Vincent'schen und Parietti'schen Bouillon eine Bouillon mit Zusatz von 5% Milchzucker. Er impfte eine Anzahl diese Nährlösung enthaltende Kolben mit wechselnden Mengen des zu untersuchenden Wassers, z. B. mit 10, 20, 30 Tropfen und hielt sie auf 35 Grad. Da das *Bacterium coli* den Milchzucker vergärt, so ließ das Auftreten einer Gasbildung auf das Vorhandensein von Colibakterien schließen. Auf diese Weise, sagt er, kann man binnen 12—24 Stunden feststellen, ob und annähernd wie viel Colibakterien in einem Wasser enthalten sind, ob in einem Tropfen, oder in 10 oder nur in 20. Bei sehr verdächtigem Wasser kann man natürlich Verdünnungen brauchen $\frac{1}{10}$ bis $\frac{1}{100}$ Tropfen.

Lignières (1894) benutzte mit großem Erfolge

Heuinfus für den Nachweis der Colibakterien. Er schreibt: „Le thé obtenu en faisant infuser du foin pendant un quart d'heure environ dans l'eau bouillante, remplace purement et simplement le bouillon shéniqué; on peut employer ce thé à 1, 2, 3 . . . 5 p. 100 et plus; le thé à 3 p. 100 m'a toujours fort bien réussi“.

Das zu untersuchende Material wurde in der Heuinfus auf 36—42 Grad gehalten. Nach 18—24 Stunden wurden Proben der trüben Flüssigkeit in Gelatineplatten ausgesät, die dann meist reichliche Colikolonien erkennen ließen. Das Verfahren ist später von Kaiser als gut brauchbar befunden worden. Kaiser stellte sich eine 12%ige Heuinfus her und setzte dann dem zu untersuchenden Wasser soviel davon zu, daß das ganze Gemenge 3% wurde. Die Kolben wurden bei 37—40 Grad 48 Stunden bebrütet, der Inhalt einer Oese davon in Gelatineröhren gebracht und zu Platten verarbeitet.

Smith (1895) beschickte eine Reihe, gewöhnlich 10 Gärungskölbchen, die 1% Dextrosebouillon enthielten, mit 0,1—1 ccm Wasser, je nach dem Ursprung. Füllten sich in einem oder mehreren Kölbchen in einigen Tagen 40—60% der geschlossenen Röhren mit Gas, war die Reaktion stark sauer, die Vermehrung der Bazillen schwach und am 4. Tage schon vollendet, so konnte er auf *Bacterium coli* schließen. Er zog Dextrose dem Milchzucker vor, weil ein weit verbreitetes bewegliches stark gärendes Bacterium (*bacterium cloacä*) in Milchzuckerbouillon nicht leicht von *Bacterium coli* zu unterscheiden war.

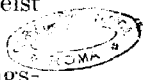
Abba (1896) verwendete eine Nährlösung aus Milchzucker 200 gr, trockenes Pepton 100 gr, Chlornatrium

50 gr, Wasser 1000 gr, sterilisierte sie und füllte sie in Gläschen von 100 cem Inhalt. Zu einem Liter von dem zu untersuchenden Wasser gab er 100 cem der Nährlösung, $\frac{1}{2}$ cem einer 1%igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung und kohlensaures Natrium in kaltgesättigter Lösung so lange zu (im allgemeinen genügten 2—3 cem) bis das Wasser eine bleibende rosenrote Farbe annahm. Das ganze Quantum wurde in 5—6 Erlenmeyer'sche Kolben verteilt und im Thermostaten einer Temperatur von 37 Grad ausgesetzt. Nach 12—24 Stunden sind bei Anwesenheit von *Bacterium coli* mehrere oder alle Erlenmeyer'sche Kolben vollständig entfärbt.

Ein anderes Verfahren, mit welchem er wiederholt in spärlich Bakterien enthaltenden Wässern gute Resultate erhielt, bestand darin, daß er viel von dem betreffenden Wasser durch Tonfilter hindurchschickte, etwas von dem sich auf der äusseren Wand des Tonfilters bildenden Belage nahm und diesen in mit Milchzucker und Phenolphthalein versetzter Nährlösung konstatierte. Die Isolierung der gewachsenen Keime geschah mittelst Agarplatten.

Jordan (1900) verwandte wiederum als Anreicherungsflüssigkeit eine Fleischbrühe mit 5—5, 5% Säure nach Fullers Skala bereitet, und mit Carbolsäure im Verhältnis von 1:1000 versetzt. Bebrütung bei 38—40 Grad während 12—18 Stunden und Aussaat von Proben auf Lakmuslaktoseagar; Gage wiederum Zucker 1%, Pepton 0,5%, Phenol 0,1% zur Anreicherung.

Petruschky und Pusch (1903) verwandten Peptonbouillon und vermischten fallende Mengen des zu



untersuchenden Wassers mit etwa der gleichen Menge der Anreicherungsflüssigkeit, hielten die Proben 24 Stunden im Brutschrank und machten dann Aussaaten davon auf Platten von gewöhnlichem oder von Drigalski-Coradi-Agar. Die Reinkulturen wurden dann weiter geprüft. Als *Bacterien coli* sprachen sie an nach Gram sich nicht entfärbende, in Gelatine nicht verflüssigende, Trauben- und Milchzucker unter Säure- und Gasbildung vergärende, Lakmusmolke daher stark rot färbende und trübende Bazillen, bei denen Beweglichkeit vorhanden sein oder auch fehlen konnte. Handelte es sich um die Untersuchung eines voraussichtlich sehr reinen Wassers, Quellen- oder Brunnenwasser, so empfahlen sie folgende Quantität anzusetzen: 100 ccm, 10, 1, 0,1 ccm; zu letzterem mehr als die gleiche Menge Bouillon. Nach 24 Stunden wird nachgesehen. Zeigen sich die Proben 1 ccm und 0,1 ccm völlig klar, die Proben von 100 ccm aufwärts getrübt, so sagen wir „das Wasser hat den Thermophilentiter: 10“. Diese brauchen keineswegs den Colititer. Es kann sich um den unschuldigen Heubazillus z. B. handeln. Dies wird nun durch Plattenaussaat von den ersten beiden Proben festgestellt. Zeigt sich hier, daß das *Bacterium coli* in 100 ccm noch nachweisbar ist, in 10 aber nicht mehr, so sagen wir: das Wasser hat den Colititer: 100. Handelt es sich dagegen um die Untersuchung eines wahrscheinlich sehr verunreinigten Wassers, Fluß-, Teich- oder Cloakenwassers, so muß zur Verdünnung der Wasserprobe geschritten werden, um die beiden Verunreinigungstiter bestimmen zu können. In solchen Fällen benutzten wir Erlenmeyer'sche Kölbchen, welche

je 15 ccm sterilen Wassers genau enthalten. In das erste derselben 0,5 des zu untersuchenden Wassers mittelst steriler Pipette übertragen und gemischt; von dieser Verdünnung wird wiederum 0,5 in das zweite Kölbchen und ebenso von diesem 0,5 in das dritte übertragen. Auf diese Weise erhalten wir die Verdünnungen 1 : 100 ($1 : 10^2$), 1 : 10000 ($1 : 10^4$), 1 : 1000000 ($1 : 10^6$). Nun machen wir in einfachen Probirröhrchen mit steriler Bouillon folgende Aussaaten :

- 1) von unverdünntem Wasser 1,0 u. 0,1 ccm
- 2) von der Verdünnung 1 : 10², 1,0 u. 0,1 ccm
- 3) von der Verdünnung 1 : 10⁴, " "
- 4) von der Verdünnung 1 : 10⁶, " "

Es sind hierzu 8 Röhrchen erforderlich, welche stufenweise Wassermengen von 1 : 0,0000001 enthalten. Stellt man diese Serien in den Brutschrank, so hat man nach 24 Stunden das sofort zu übersehende Ergebnis, daß ein Teil der Röhrchen trübe geworden, ein anderer Teil klar geblieben ist.

Darauf wird in der vorher angegebenen Weise der Thermophilentiter und der Colititer bestimmt. Bei den Untersuchungen hat sich fast ausnahmslos gezeigt, daß bei stark verunreinigten Wässern der Thermophilentiter und der Colititer übereinstimmten. Diese Methode hat sich ihnen besonders bei der Untersuchung der Danziger Wasserläufe bewährt. Sie versuchten eine vollständige Karte der Verunreinigung des für Danzig in Betracht kommenden Flußgebietes aufzustellen. Zur Erleichterung der Uebersicht gaben sie folgende Flußverunreinigungs-Skala an:

Verunreinigungsgrad	No. 1	Colititer 0,1
"	" 2	" 0,01
"	" 3	" 0,001
"	" 4	" 0,0001
"	" 5	" 0,00001
"	" 6	" 0,000001.

Ebenso hat sich die Methode bewährt bei der Untersuchung von Brunnenwässern und Cloakenwässern.

Da die Methode sehr übersichtsvoll erschien, habe ich auf Veranlassung des Herrn Geheimrats Loeffler dieselbe einer eingehenden Nachprüfung unterzogen. Bevor ich auf die Ergebnisse meiner in den Jahren 1903—1906 hier in Greifswald angestellten Untersuchungen näher eingehe, möchte ich noch die seit jener Zeit weiterhin zur Anwendung empfohlenen Methoden des Nachweises des Bacterium coli kurz skizzieren.

Im Jahre 1904 hat Eijkman ein neues Prinzip zur Anwendung gebracht, das früher bereits von Rodet für den Nachweis von Typhusbakterien in Vorschlag gebracht war, nämlich die Anwendung einer höheren Temperatur und zwar der Temperatur von 46 Grad C. Das Colibakterium ist instande, bei einer hohen Temperatur nicht nur zu wachsen, sondern auch Traubenzucker zu vergären. Das zu untersuchende Wasser wurde in einen Gärungskolben mit ungefähr $\frac{1}{8}$ seines Volumens, einer sterilen wässerigen Lösung von 10 % Glykose, 10 % Pepton und 5 % Chlornatrium vermischt. Bei Anwesenheit des Bacterium coli gewinnt dieses im Gärungskolben bei 46 Grad sehr bald die Oberhand über die anderen Mikroben, so daß es für gewöhnlich schon innerhalb

24 Stunden in Reinkultur, oder wenigstens in überwiegender Mehrheit angetroffen wird, indem es deutliche Gärung und eine diffuse Trübung der Flüssigkeit sowohl im offenen wie im geschlossenen Schenkel verursacht.

Unverdächtige Wassersorten (10), bei denen fäkale Verunreinigungen als durchaus ausgeschlossen zu betrachten waren, wurden wiederholt im Sommer und im Winter und auch in grossen Mengen, z. B. 300 ccm untersucht. In keinem einzigen Falle wurde Gärung wahrgenommen; verdächtige Wässer, wie z. B. Flußwässer und Grabenwässer verschiedener Städte, zeigten ohne Ausnahme im Gärungskolben Trübung und Gasbildung. Kleine Wassermengen, Bruchteile eines ccm, waren oft dazu schon genügend. Von Flußwasser waren wie gewöhnlich große Quantitäten, ca. 0,2–5, ccm nötig, um noch sicher Gärung zu bewirken.

Die Methode ist von Christian (1905), G. Neumann (1906) und Thomann (1907) nachgeprüft worden. Im besonderen hat Thomann derauf hingewiesen, daß die Methode ein neues und sicheres Mittel darstellt zur Differentialdiagnose zwischen *Bacterium coli* „stricto sensu“, dem Warmblütercoli und dem *Bacterium coli* im weiteren Sinne des Wortes, speziell dem Kaltblütercoli.

Die Kaltblütercoli sind bei 46 Grad nicht imstande, den Traubenzucker zu vergären, während sie bei 37 Grad dies zu tun vermögen.

Endlich hat Bulir̃ (1907) die Methode von Eijkman dahin modifiziert, daß er anstatt Glukose Mannit anwendete, der von den Bakterien coli ebenso gut vergärt wird, wie die Glukose. Außerdem hat er eine etwas

konzentriertere Bouillon genommen, 1 Kilo fein gehackten Rindfleisch auf 2 Liter Wasser. Zu einem Liter des Fleischextraktes hat er 25 g Pepton, 15 g Kochsalz und 30 g Mannit hinzugefügt, mit Sodalösung neutralisiert und sterilisiert. Auf 2 Volumen des zu untersuchenden Wassers setzte er ein Volumen Bouillon, also z. B. auf 100 g Wasser 50 g Mannitbouillon. Zu dieser Mischung fügte er dann 2‰ einer sterilisierten Wasserlösung von Neutralrot (0,1 g Neutralrot in 100 g destillierten Wassers) also auf je 50 ccm der Mischung 3 ccm Neutralrot. Diese Flüssigkeit wurde in 7—10 Agarröhrchen von je 15—20 ccm gefüllt und im Thermostaten auf 46 Grad gehalten. Ist das Bacterium coli im geprüften Wasser anwesend, so findet man nach 12—24 Stunden den geschlossenen Arm des Agarröhrchens teilweise mit Gas gefüllt, die Flüssigkeit diffus getrübt, und ihre frühere rote Farbe erscheint in eine gelbgrün florescierende verwandelt. Dann werden mit einer Pipette 10 ccm Flüssigkeit aus dem Agarröhrchen entnommen und in einer Eprouvette mit 1 ccm alkalischer Lakmustinktur versetzt. Die letztere wird bereitet, indem man zu 100 ccm Lakmustinktur von Kahlbaum 2 ccm normale Natronlauge beifügt. Reagiert die den Agarröhrchen entnommene Flüssigkeit sauer, so entsteht nach Zugabe der Lakmustinktur eine rein rote Färbung. Ist die Flüssigkeit neutral oder schwach sauer, so färbt sie sich violett. Enthält das geprüfte Wasser keine Bakterien coli, dann bleibt die Flüssigkeit klar rotgefärbt neutral, und es bildet sich kein Gas.

Ist es also möglich, solche Fälle auszuschalten, in

denen das geprüfte Wasser eine bei 46 Grad Gas bildende Mikrobe enthält, welche aber eine oder die andere von den übrigen genannten Reaktionen nicht zeigt und folglich kein echtes *Bacterium coli* ist, so ist das jedenfalls als eine Verbesserung der Eijkman'schen Methode anzusehen. Endlich sei noch erwähnt, daß Venema (1906) als Anreicherungsflüssigkeit saure Bouillon bei 37 Grad als das beste Mittel zum Nachweise der Bakterien *coli* gefunden haben will.

Ich komme nun zu der von mir nach dem Verfahren von Petruschky und Pusch ausgeführten Untersuchung des Rycks bei Greifswald und der Greifswalder Brunnen, einer Anzahl von Ziehbrunnen im Dorfe Wieck und des Greifswalder Leitungswassers. Es wurde der Ryck oberhalb Greifswalds an der über denselben hinwegführenden Eisenbahnbrücke, dann an der Naugangswiese, weiterhin am Einflusse des Stadtgrabens, der die Abwässer der Hälfte der Einwohner von Greifswald aufnimmt, dann ferner unterhalb der Räucherhäuser, da, wo für die Dampfer die Tafel „langsam fahren“ angebracht ist, dann weiterhin in der Mitte zwischen Wieck und Greifswald, dann an der Einmündungsstelle des Rycks in den Bodden an der Mole und endlich auch der Greifswalder Bodden geprüft, und zwar im Sommer, im Herbst und auch im Winter, bei schönem Wetter und bei Regenwetter, bei Hitze und bei Frost bei verschiedenartigen Windrichtungen. Es wurde die Keimzahl jedes Mal bestimmt, ferner der Thermophilititer und der Colititer, sowie der Grad der Verunreinigung nach Petruschky und Pusch.

Es zeigte sich in ganz eklatanter Weise der Einfluß

des Stadtgrabens sowohl inbezug auf die Keimzahl wie auch bei dem Verunreinigungsgrad. Auch der Einfluß des Regens machte sich in ganz unverkennbarer Weise als verschlechternd bemerkbar, sowohl was die Bakterienzahl wie auch was den Verunreinigungsgrad anlangt. Ebenso war andererseits der Einfluß des Frostes nach der entgegengesetzten Richtung hin deutlich zu erkennen. Das nähere ist aus der anliegenden Tabelle A. I. ersichtlich.

Als das wesentlichste Ergebnis ist jedenfalls das zu bezeichnen, daß im ganzen Laufe des Rycks im Sommer wie im Winter bis in den Bodden hinein ganz konstant das *Bacterium coli* in mehr oder weniger großer reichlicher Menge zu finden ist.

Von ganz besonderem Interesse war es nun, mit diesen ganz positiven Colifunden in dem offenen Wasserlauf des Rycks zu vergleichen das etwaige Vorkommen des *Bacterium Coli* in den Greifswalder Brunnenwässern. Im ganzen habe ich 42 Strassenbrunnen untersucht, zum Teil dieselben mehrmals. Von diesen 42 Brunnen wurden in 13 Colibakterien gefunden. (Siehe Tabelle A II). Der Colititer schwankte bei diesen Brunnen zwischen 0,1 und 0,0001, zwischen Verunreinigungsgrad I und IV., 2 Brunnen hatten den Verunreinigungsgrad IV, 2 den Verunreinigungsgrad III, 3 den Verunreinigungsgrad II und 6 den Verunreinigungsgrad I. Die den höchsten Colititer darbietenden Brunnen wiesen auch die größte Keimzahl auf, 666,233 und 127,570. Auch einer der Brunnen mit dem Verunreinigungsgrad III hatte ein sehr keimreiches Wasser, 78000 im ccm, während der zweite Brunnen nur eine zwar noch immer

hohe, aber doch erheblich niedrigere Keimzahl darbot. 5 von diesen Brunnen — und gerade die, welche den höchsten Verunreinigungsgrad darboten, — waren kurz vor der Untersuchung geöffnet gewesen und mit neuen Rohren versehen worden.

Es sind daher unzweifelhaft bei diesen Arbeiten colibakterienreiche Stoffe in den Brunnen hineingelangt; nur ein Brunnen mit dem Verunreinigungsgrad IV am Karlsplatz nahe der Bahnschranke war nicht umgebaut. Der Brunnenschacht sowie auch das Brunnenrohr waren, wie die Untersuchung ergab, defekt. Er mußte bald nach der Untersuchung umgebaut werden. Sehr bemerkenswert ist jedenfalls, daß in dem Wasser von 29 Brunnen Colibakterien nicht gefunden wurden.

Das Greifswalder Leitungswasser habe ich 6 mal aus Zapfstellen im Hygienischen Institut untersucht. Der Befund an Colibakterien war 5 mal ein negativer; nur einmal nach einer vorhergegangenen Reinigung, als das Wasser noch von suspendierten Eisenteilchen gelblich gefärbt war, habe ich Colibakterien nachweisen können. Der Colititer war aber ein sehr hoher, denn erst in einer Menge von 10 ccm Wasser waren die Colibakterien aufzufinden.

Sehr merkwürdig ist das Ergebnis der Untersuchungen der Wässer aus den Ziehbrunnen in dem Dorfe Wieck. Es existieren dortselbst noch eine Reihe ganz primitiver Ziehbrunnen, die mit einem entfernbaren Deckel versehen sind. Das Wasser dieser Brunnen war ziemlich keimreich; es zeigte einen Thermophilentiter, wie ihn die Greifswalder Brunnenwässer darboten. Colibakterien

konnte ich in ihnen jedoch nicht nachweisen. Nur in einem einzigen Brunnen, der offen auf dem Hof des Grundstückes No. 35 stand und der sich durch einen besonders hohen Bakteriengehalt — 7695 Keime im ccm — auszeichnete, fand ich einen Colititer von 0,01 entsprechend dem Verunreinigungsgrade II. Daß auch in diesen Ziehbrunnen *Bakterium coli* nicht gefunden wurden, scheint mir ein wichtiger Beweis zu sein gegen die sogenannte Ubiquität der Colibakterien.

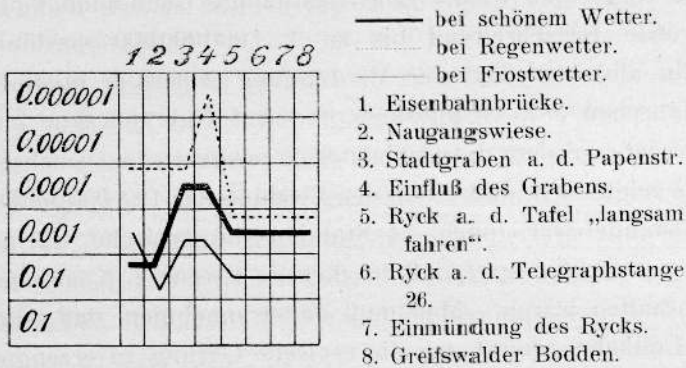
Das Ergebnis meiner Untersuchungen der verschiedenen Greifswalder Wässer mit dem Petruschky-Pusch'schen Verfahren kann ich dahin zusammenfassen, daß dieses Verfahren eine praktisch brauchbare Unterlage für die Beurteilung von Wässern nach der Richtung hin liefert, daß man mittelst desselben verhältnismäßig leicht feststellen kann, ob ein Wasser mit Colibakterien verunreinigt ist oder nicht. Ich habe nun noch ein anderes Anreicherungsverfahren näher geprüft und zwar ein Anreicherungsverfahren mittelst der von Loeffler für die Differentialdiagnose für Typhus, Paratyphus und Colibakterien angegebenen Grünlösung II, die neuerdings von Loeffler als Paratyphuslösung bezeichnet ist. Diese Lösung enthält in 100 Teilen Wassers 2 Teile Pepton, 5 Teile Milchezucker, 1,5 ccm einer Normalkalilösung, 1 Teil Nutrose und 3 ccm einer 2⁰/₁₀ Lösung von Malachitgrün 120 Höchst. Neuerdings werden statt dieser Lösung 3 ccm einer 0,2⁰/₁₀ Lösung Malachitgrünkrystalle Chlorzinkdoppelsalz (chemisch rein) hinzugesetzt. Diese Grünlösung hat die Eigenschaft, das Wachstum zahlreicher Wasserbakterien hintanzuhalten, behindert aber das Wachstum der Coli-

bakterien nicht im geringsten. Die Colibakterien rufen in dieser Lösung Gärung hervor, bei welcher die Nutrose in der Form von schmutzig grünen Massen an den Wandungen niedergeschlagen wird, während auf der Oberfläche sich eine grüne Schaumschicht bildet. Durch Vorversuche habe ich festgestellt, durch wie viele Colikeime in 5 ccm der Lösung binnen 24 Stunden Gärung hervorgerufen wird. Eine 15 stündige Colibouillonkultur wurde fortschreitend bis zu 1:1000000000 verdünnt. Ein aliquoter Teil der Verdünnung wurde je in einem Röhrchen mit Grünlösung und auf Nähragaragar ausgesät, auf dem die Colibakterien ausgezeichnet wuchsen. Es zeigte sich, daß 1 ccm der Verdünnung 1:1000000000 in stande war, nach 24 Stunden die typische Gärung hervorzurufen und daß in diesem 1 ccm 2 Keime nur enthalten waren. Man muß daher annehmen, daß schon 1 Colikeim genügt, um die typische Gärung zu erzeugen. Ich verfuhr nun zunächst so, daß ich zu je 5 ccm der Grünlösung einesteils 5 ccm des zu untersuchenden Wassers und andernteils eine Spur einer Colireinkultur hinzusetzte; die Probe wurde dann während 24 Stunden bei einer Temperatur von 37 Grad im Brutschrank belassen. Nach 24 stündiger Bebrütung, wenn die Grünlösung vergoren war, legte ich davon Agarplattenkulturen an und prüfte die gewonnenen coliverdächtigen Kolonien mittelst eines hochwertigen polyvalenten Coliserums, das durch Behandlung von Kaninchen mit Mischkulturen von 8 Colistämmen gewonnen war, auf Agglutination.

Ich prüfte zunächst das Greifswalder Stadtgrabenwasser. Sämtliche zu verschiedenen Zeiten entnommene

Proben lieferten stets innerhalb 24 Stunden die typische Gärung und Reinkulturen von Colibakterien. Ich nahm deshalb bei den ferneren Versuchen stets Greifswalder Stadtgrabenwasser als Vergleichsobjekt für die zu prüfenden Wässer. (Siehe Tabelle B I).

Kurve des Verunreinigungsgrades von Ryck- und Stadtgrabenwasser bei verschiedener Witterung.



Die Untersuchung der Greifswalder Brunnenwässer hatte folgendes Ergebnis:

Ich untersuchte im ganzen 32 Brunnen, eine ganze Anzahl derselben wiederholt, wie aus der anliegenden Tabelle B II ersichtlich ist.

Das Wasser aus 28 Brunnen ließ die Lösung unverändert; nur 4 gaben ein positives Resultat, d. h. sie vergoren die Grünlösung. Ich konnte als Ursache der Gärung Colibakterien in ihnen nachweisen.

Die Brunnen, um die es sich handelte, waren ein Brunnen an der Gützkowerstraße, ein Brunnen

an der Bahnhofstraße, ein Brunnen an der Grimmerstraße und ein Brunnen am Roßmarkt.

Der Brunnen an der Gützkowerstraße wurde in der Zeit vom 14. November bis 2. Februar 6 mal untersucht, 2 mal mit positivem Ergebnis.

Der Brunnen in der Bahnhofstraße wurde in der Zeit vom 14. November bis 2. Februar 8 mal untersucht, 7 mal mit positivem Resultat.

Der Brunnen in der Grimmerstraße wurde vom 20. Dezember bis 3. Februar 5 mal untersucht, jedes Mal mit positivem Resultat, und

der Brunnen auf dem Roßmarkt in der Zeit vom 29. November bis 3. Februar 7 mal untersucht, darunter 5 mal mit positivem Resultat.

Es war nun von besonderem Interesse, festzustellen, wie sich das Wasser dieser Brunnen bei der chemischen Untersuchung verhalten würde und welche Beschaffenheit die Brunnen bei näherer Lokalinspektion darbieten würden. Durch das freundliche Entgegenkommen des Herrn Direktors Dr. Habermann, dem ich auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank abstatte, wurde es mir möglich, die Lokalinspektion nach Freilegung der Brunnen vorzunehmen.

1) Brunnen an der Gützkowerstraße.

Die Farbe des Wassers war gelblich, auch erschien es leicht getrübt. Ammoniak, salpetrige Säure und Salpetersäure fehlten in dem Wasser, der Chlorgehalt betrug 124,25 mg im Liter. Nach Entfernung des Pflasters zeigte es sich, daß der Kessel regelrecht aus Backsteinen

hergestellt war und daß die Fugen zwischen den Steinen mit Mörtel verstrichen waren. An einigen Stellen der Ausmauerung wurden einige schwarze Streifen bemerkt, die sich aber nicht als Verunreinigung, sondern als Pechstreifen erwiesen. Ca. $\frac{3}{4}$ m unterhalb der Erdoberfläche fand sich eine Holzbohlenbedeckung, auf der bis zur Pflasterhöhe eine Lehmschicht lag. Das Brunnenrohr ging durch diese Lehmschicht durch ein Loch der Bohlenlage hindurch. Eine besondere Dichtung des Rohres an der Durchgangsstelle fand sich nicht. Nach Aufhebung des Bohlenbelages stieg aus dem Kessel ein starker Gasgeruch empor. Vermutlich rührte das im Brunnenkessel angesammelte Gas von einem Gasrohr her, das 4 m von dem Brunnen entfernt lag. Der Brunnen hatte eine Tiefe von 6,9 m; der Wasserstand betrug 2,4 m. Höchst wahrscheinlich ist zeitweise von der Oberfläche her Wasser an dem Brunnenrohre entlang von außen in den Brunnen hineingeflossen und dadurch der Coligehalt des Wassers bedingt worden.

2) Brunnen an der Bahnhofstraße.

Das Wasser sah gut und klar aus, war frei von Ammoniak, salpetriger Säure und Salpetersäure und hatte einen Chlorgehalt von 113,6 mg im Liter. Nach Aufdeckung des Brunnens zeigte sich, daß der Brunnenschacht aus Backsteinen ausgemauert war und die Fugen mit Mörtel verstrichen waren. Das Brunnenrohr stand etwas seitwärts von dem Kessel. Ein eisernes Rohr führte $\frac{1}{2}$ m weit nach unten, ging dann durch die Wandung des Brunnens hindurch in das Innere des Kessels und

senkte sich dann rechtwinklig umbiegend bis zum Grund. Der Kessel war oberhalb der Einmündungsstelle des Brunnenrohres mit einer Holzbedeckung versehen, auf der eine relativ dünne Lehmschicht und darüber Erde lagerte. Der Kessel war mit Wasser gefüllt; das Wasser reichte bis zur Holzbohle. An der einen Seite der Holzbohle sowie an mehreren Stellen des Brunnenschachtes fanden sich weißliche Schwammwucherungen. Die Tiefe des Brunnens betrug 4,3 m. Vermutlich sind bei dem außerordentlich hohen Wasserstande Colibakterien auf der oberhalb der Holzbohlen liegenden Erde durch Fugen und Spalten in der Holzbohle in den Brunnenkessel gelangt.

3) Brunnen an der Grimmerstraße.

Wasser war ziemlich klar, frei von Ammoniak, salpetriger Säure und Salpetersäure. Der Chlorgehalt betrug 95,85 mg im Liter. Der Brunnen war ähnlich konstruiert, wie der in der Gützkowerstraße, nur der Wasserstand ein außerordentlich hoher. Das Wasser stand 30 cm oberhalb der Holzbohlen. Die Lehmschicht auf den Holzbohlen war total durchnäßt, die Holzbohlen waren recht erheblich vermorscht. In der Mitte der Bohle fand sich ein Loch, das mit einem Stein zugedeckt war. Dieses Loch hatte früher einem Brunnenrohre zum Durchgang gedient. Es war beim Verlegen des Brunnenrohres offen geblieben und einfach mit einem Stein zugelegt worden. 3 $\frac{1}{2}$ m von dem Brunnen entfernt lag eine Bedürfnisanstalt; etwa 80 cm von dem Brunnen entfernt war ein Rinnstein, in dem Schmutzwasser aufgestaut war. Ver-

mutlich ist von diesem Schmutzwasser durch die Erde etwas in das oberhalb der Bohlen stehende Wasser und von da in den Brunnen hineingelangt. Der Brunnen hatte eine Tiefe von 6,4 m von der Erdoberfläche. Die Höhe des Brunnenschachtes betrug 5,7 m. Bemerkenswert muß noch werden, daß bei sämtlichen 5 Probeentnahmen stets das *Bacterium coli* in dem Wasser gefunden wurde.

4) Brunnen auf dem Roßmarkt.

Das Wasser war trübe; gleichwohl fehlten Ammoniak, salpetrige Säure und Salpetersäure. Der Chlorgehalt betrug 266,25 mg im Liter. Der Brunnenkessel zeigte sich aus lose auf einander gestellten Backsteinen hergestellt. Die Fugen waren durch Mörtel nicht verstrichen. Die Bohlenbedeckung war vermorscht. Sie wurde an demselben Tage, an dem die Lokalinspektion stattfand, erneuert. Das Brunnenrohr ging ohne Dichtung durch den Bohlenbelag bis zum Grunde. Die Tiefe des Brunnens betrug 5,4 m von der Erdoberfläche bis zum Grunde. Die Tiefe des Brunnenschachtes betrug 5 m, der Wasserstand im Brunnen 3 m. Vermutlich ist auch in diesem Falle durch die vermorschten Bohlen an dem Brunnenrohr entlang *Bacterium coli* haltiges Material in den Brunnen hineingelangt.

Die Lokalinspektion sämtlicher Brunnen hat somit hinreichende Anhaltspunkte dafür geliefert, daß die Colibakterien durch Undichtigkeit an der Stelle, wo das Rohr die Bohlenbedeckung durchsetzt oder durch vermorschten Bohlenbelag hindurch in die Wässer gelangt sind.

Die Untersuchungen des städtischen Leitungswassers, die an Zapfstellen im Hygienischen Institut verschiedent-

lich vorgenommen wurden, ließen niemals Colibakterien in dem Wasser erkennen.

Da die Grünlösung sich für die Auffindung der Colibakterien im Wasser ausgezeichnet bewährt hatte, versuchte ich mit Hülfe derselben vornehmlich eine quantitative Ermittlung durchzuführen, um ein Urteil über den Grad der Verunreinigung eines Wassers mit Colibakterien zu gewinnen. Ich begann mit der Untersuchung des Stadtgrabenwassers. Da dieses Wasser außerordentlich bakterienreich ist, verdünnte ich dasselbe im Verhältnis von 1 : 10, 1 : 1,0, 1 : 0,1 in analoger Weise wie bei dem Petruschky-Pusch'schen Verfahren und säte dann von dem unverdünnten Wasser und von den 3 Verdünnungen je 1 und 0,1 ccm in 5 ccm Grünlösung aus. Es ergab sich, daß alle die Röhrchen, die mit 1 ccm, $\frac{1}{10}$ ccm, $\frac{1}{100}$ ccm, $\frac{1}{1000}$ ccm des Wassers besät waren, binnen 24 Stunden vergoren waren. Darauf untersuchte ich in gleicher Weise wie Petruschky-Pusch das Brunnenwasser der Grimmerstraße und fand, daß nur die Röhrchen, die mit 5 und mehr ccm Wasser versetzt waren, innerhalb 24 Stunden vergoren waren. Das Wasser am Roßmarkt gab eine Vermehrung noch bei Aussaat von 2 ccm Wasser, das Brunnenwasser von der Bahnhofstraße mit 3 ccm. Daraus ergibt sich, daß die Zahl der Colikeime in den von Colibakterien verunreinigten Brunnenwässern nur eine relativ kleine sein kann und mehrere tausend Mal geringer ist als die Zahl der in dem Stadtgrabenwasser vorhandenen Keime.

Für die quantitative Prüfung eines Brunnenwassers würde es daher genügen, 6 Proben anzusetzen

I.	5	ccm	Wasser	—	5	ccm	Grünlösung
II.	4	"	"	—	5	"	"
III.	3	"	"	—	5	"	"
IV.	2	"	"	—	5	"	"
V.	1	"	"	—	5	"	"
VI.	0,1	"	"	—	5	"	"

Tritt in Probe VI bereits binnen 24 Stunden die Gärung ein, so ist das Wasser als sehr stark verunreinigt anzusehen. Erfolgt die Gärung in den Röhrchen 3, 4, 5, so ist das Wasser als mäßig stark verunreinigt zu bezeichnen, und vergären Röhrchen 1 und 2, so ist es als schwach verunreinigt zu bezeichnen. Die Röhrchen müssen genau 24 Stunden im Brutapparat gehalten und beobachtet werden. Von den vergorenen Röhrchen empfiehlt es sich, Proben auf Lakmusmilchzuckeragar, auf Endoagar oder auch auf gewöhnlichen Fleischwasserpeptonagar auszusäen und die wachsenden Kolonien nach dem bekannten Verfahren weiterhin zu prüfen.

Das Gesamtergebnis meiner Arbeit möchte ich in folgende Sätze zusammenfassen:

- 1) Das Colibakterium ist kein ubiquitärer Organismus.
- 2) Sein Vorkommen im Wasser steht in irgendwelchen Beziehungen mit faekalen Verunreinigungen.
- 3) Die Untersuchungsmethode von Petruschky-Pusch ist für die Beurteilung von Wässern brauchbar.
- 4) Die Untersuchungsmethode mit der Grün-

lösung II oder Paratyphuslösung ist einfach, bequem und zuverlässig und ist deshalb für die hygienische Beurteilung von Wässern jener vorzuziehen.

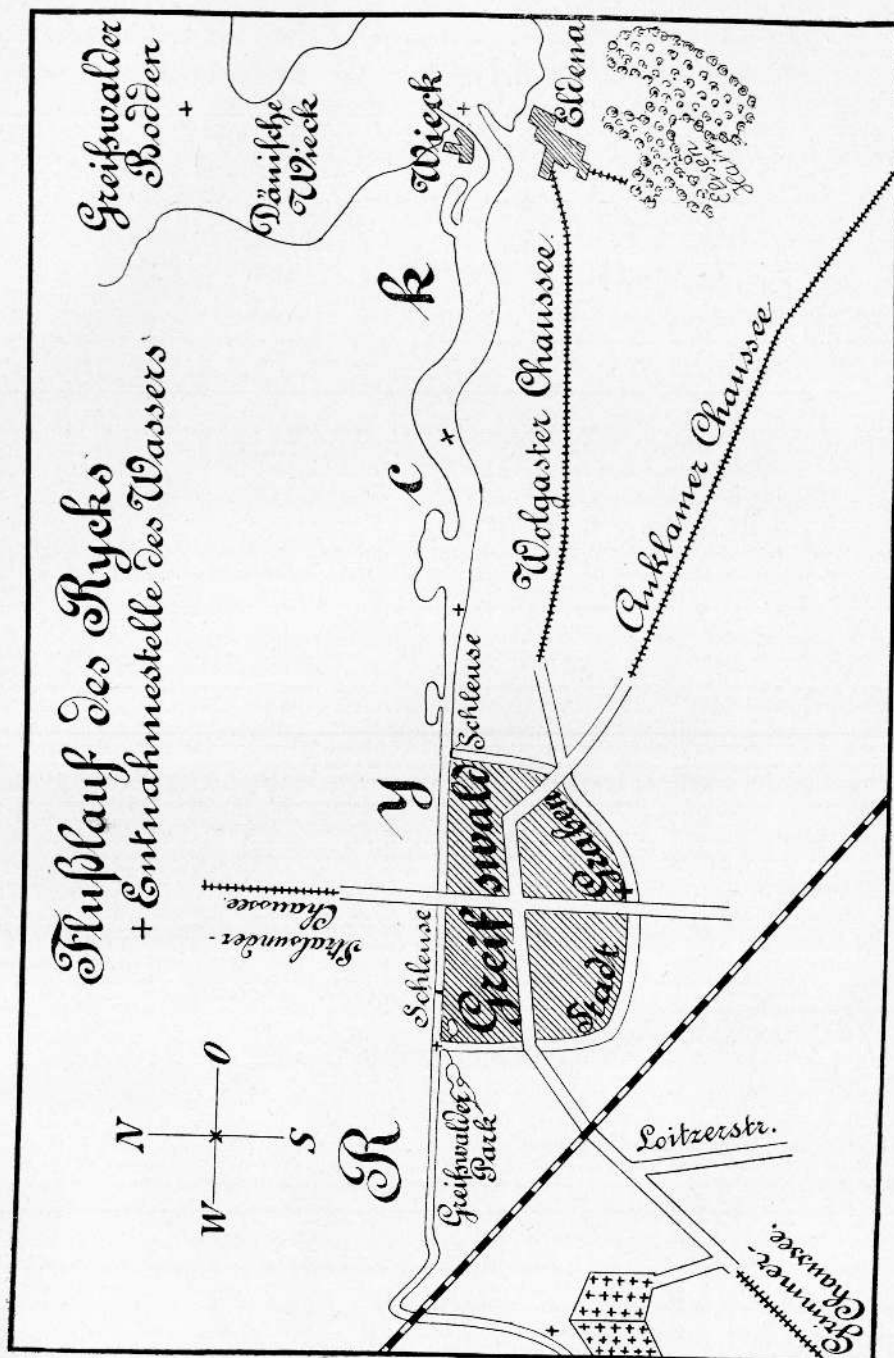
Zum Schluß meiner Arbeit möchte ich nicht verfehlen, meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Geh.-Rat Prof. Dr. Loeffler für die gütige Ueberlassung dieser Arbeit und die lebenswürdigen, mannigfachen Ratschläge für den Fortgang derselben, sowie dem ersten Assistenten Herrn Dr. Daske für die freundliche und bereitwillige Hilfe bei der Abfassung derselben, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Abba, F.: Sulla presenza del bacillus coli nelle acque potabile, e sopra un metodo per metterlo in evidenza. Ref. med. 1895. No. 176 (ref. in Baumgarten's Jahreshb. Bd. XI. S. 309. 1895).
- 2) Abba, F.: Sopra un metodo rapido e sicuro per mettere in evidenza il bacillus coli nell'acqua. Rid. internazionale d'Igiene. p. 25. (ref. in Baumgarten's Jahreshb. Bd. XII. S. 343. 1896) und — Über ein Verfahren des Bac. coli com. schnell und sicher aus dem Wasser zu isolieren. (C. f. B. Bd. XIX. S. 14. 1896).
- 3) Bordas et Joulin: Sur le developpement du colibacille dans les cidres. Compt. rend. de la Soc. de Biol. no. 5. p. 157. (ref. in Baumgarten's Jahreshb. Bd. XIV. S. 357. 1898).
- 4) Brunner: (Zit. v. Handb. d. pathog. Microorganismen. Bd. II. S. 401. 1903).
- 5) Bulir: Bedeutung und Nachweis des Bac. coli im Wasser und eine Modifikation der Eijkman'schen Methode. (A. f. H. Bd. LXII. S. 11. 1907).
- 6) Burri, R.: Nachweis von Faecalbakterien im Trinkwasser. (Hyg. Rundsch. Bd. V. S. 53. 1895).
- 7) Cacace, E.: Die Bakterien der Achule. (C. f. B. Bd. XXX. S. 656. 1901).
- 8) Chick, H.: The distribution of Bac. coli com. Thompson yates Lab. report. vol. 3. p. 117. (ref. in Hyg. Rundsch. Bd. XII. S. 647. 1902).
- 9) Christian: Zum Nachweis faekaler Verunreinigungen von Trinkwasser. (A. f. H. Bd. LIV. S. 388. 1905).
- 10) Clark u. M'Gage: Die Bedeutung des Erscheinens von Bac. coli com. im filtrierten Wasser. (C. f. B. Bd. XXVII. S. 678. 1900).
- 11) Eijkman: Gärungsprobe bei 46° C. als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. (C. f. B. Bd. XXXVII. S. 744. 1904).
- 12) v. Freudenreich: Über den Nachweis des Bac. coli com. im Wasser und dessen Bedeutung. (C. f. B. Bd. XVIII. S. 104. 1895).

- 13) Gordan, P.: Über Fäulnisbakterien in Obst und Gemüse. I.-D. Erlangen. 18 p. Leipzig. 1897. (ref. in C. f. B. II. Abt. Bd. IV. S. 247. 1898).
- 14) Gilbert et Coquet: Sur la présence du colibacille dans la bouche de l'homme sain. Compt. rend. de la soc. de biol. p. 664. (ref. in Baumgarten's Jahresb. Bd. XI. S. 307. 1895).
- 15) Grimbert: Sur la recherche du bacille d'Eberth dans les eaux. Le semaine médicale. 1894. no. 29. p. 230. (ref. in C. f. B. Bd. XVI. S. 586. 1894).
- 16) Henke, F.: Beitrag zur Verbreitung des Bac. coli com. in der Außenwelt und der von Gärtner beschriebene neue gasbildende Bazillus. (C. f. B. Bd. XVI. S. 483. 1894).
- 17) Heubner: (Zit. v. Handbuch d. pathog. Microorganism. Bd. II. S. 402. 1903).
- 18) Houston: Absence of Bacillus coli in unpolluted water. (Journal of pathol. and bacteriol. Bd. IX. S. 456—471) und — 2nd Report of Royal comm on sewage disposal. p. 25 u. 135. (Zit. bei Eijkman).
- 19) Jordan: Über die Entwicklung des Bac. coli com. im Wasser. (C. f. B. Bd. XXVII. S. 679. 1900).
- 20) Kaiser, M.: Bedeutung des Bac. coli im Brunnenwasser. (A. f. H. Bd. LII. S. 148. 1905).
- 21) Kleber, A.: Qualitative und quantitative Untersuchungen des Züricher Seewassers. Zürich. Inaug.-Diss. 1894. (ref. in Hyg. Rundsch. Bd. V. S. 199. 1895).
- 22) Kruse: Kritische und experimentelle Beiträge zur hygienischen Beurteilung des Wassers. (Z. f. H. Bd. XVII. S. 53. 1894).
- 23) Linières: Nouveau moyen d'isolement du colibacille. Compt. rend. de la soc. de biolog. 1894. p. 200. (Zit. bei Kaiser).
- 24) Loeffler, F.: Der kulturelle Nachweis der Typhusbazillen im Faeces, Erde und Wasser mit Hilfe des Malachitgrüns. (Deutsch. med. W. No. 8. S. 296. 1906) und — Zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbazillen mittelst der Malachitgrünnährböden. (Deutsch. med. W. Bd. XXXIII. S. 1583. 1907).
- 25) Loeffler, F.: Über Immunisierung per os. (Gedenkschrift für Dr. R. v. Leuthold. Bd. I. S. 261. 1906).
- 36) Moroni: Bac. coli commune. Arch. per le Scienze mediche. vol. 22. fase 3. (ref. in Baumgarten's Jahresb. Bd. XIV. S. 356. 1898).
- 27) Neumann, G.: Der Nachweis des Bac. coli in der Außenwelt

- unter Zuhilfenahme der Eijkman'schen Methode. (A. f. H. Bd. LIX. S. 174. 1906.)
- 28) Paposotiriu, J.: Untersuchungen über das Vorkommen des Bac. coli in Teig, Mehl und Getreide, nebst einigen Bemerkungen über die Bedeutung des Bac. coli als Indicator für Verunreinigung von Wasser mit Faecalien. (A. f. H. Bd. XLI. S. 208—2010. 1902).
- 29) Parietti: Metodo di ricerca del Bacillus del tifo nelle acque potabili. (Zit. bei Kaiser).
- 30) Péré: Contribution a l'étude des eaux d'alger. (Annales de l'institut Pasteur. Bd. V. S. 86. 1891).
- 31) Petruschky u. Pusch: Bac. coli als Indikator für Faecalverunreinigung von Wässern. Z. f. H. Bd. XLIII. S. 304. 1903).
- 32) Pfuhl, A.: (Zit. v. Handb. d. pathog. Microorganism. Bd. II. S. 401. 1903).
- 33) Savage: The Significance of bacillus coli in drinking water. Journal of Hyg. T. 2. p. 320. (ref. in Hyg. Rundsch. Bd. XIII. S. 458. 1903).
- 34) Schardinger: Beitrag z. hygien. Beurteilung des Trinkwassers. (C. f. B. Bd. XVI. S. 854—855. 1894).
- 35) Schmidt, Th.: Über den Nachweis des Bac. coli com. im Wasser. Bussey Institution, 6. Sept. 1895. (C. f. B. Bd. XVIII. S. 495. 1895) und The fermentation tube with special reference to anaërobiosis and gas production among bacteria. (The wilder Quarter-Century, Book 1893. p. 187—232. (ref. in C. f. B. Bd. XIV. S. 864. 1893).
- 36) Solowjew: (Zit. v. Handb. d. pathog. Microorganism. Bd. II. S. 401. 1903).
- 37) Thomann, J.: Zum Nachweis des Bac. coli com. im Wasser vermittelt der Eijkman'schen Methode. (Hyg. Rundsch. Bd. XVII. S. 857. 1907).
- 38) Vincent: Sur un nouveau procédé d'isolement du bacille typhique dans l'eau. Compt. rend. hebdom. des séances de la biologie, 1890, No. 5. (Zit. bei v. Freudenreich).
- 39) Weißenfeld, J.: Der Befund des Bac. coli im Wasser und das Tierexperiment sind keine Hilfsmittel für die hygienische Beurteilung des Wassers. (Z. f. H. Bd. XXXV. S. 80. 1900).
- 40) Zieleniew: (Zit. v. Handb. d. pathog. Microorganism. Bd. II. S. 401. 1903).



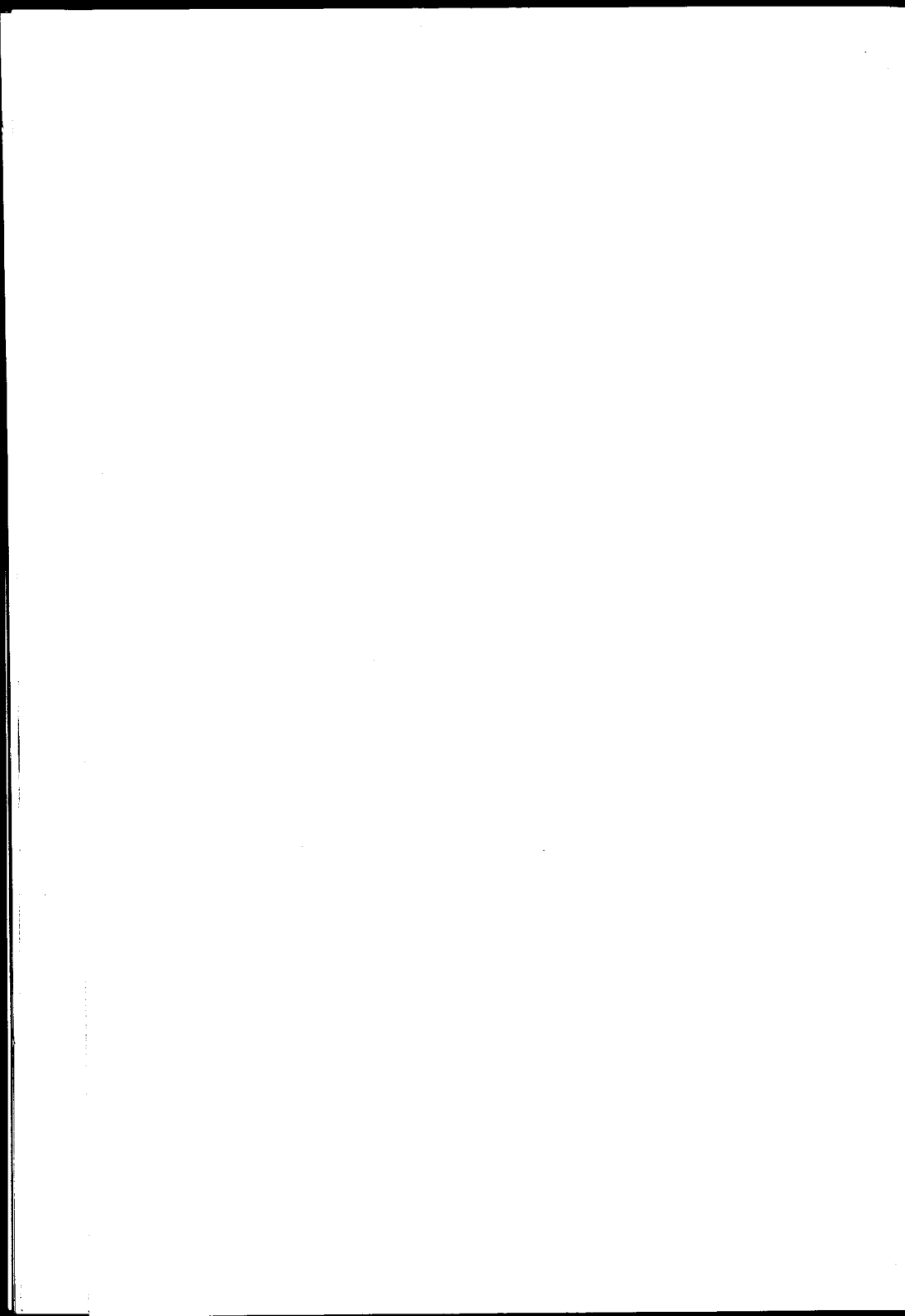


Tabelle der bisherigen Untersuchungs-Ergebnisse.

A. Nach Petruschky's Methode.

Datum	Ort der Entnahme	Keimzahl (1 ccm)	Thermo- phil-Titer	Coli- Titer	Grad der Verunreinigung
I. Ryckwasser.					
Bei schönem Wetter.					
9./8. 03	Eisenbahnbrücke	18,500	0,01	0,01	II
"	Naugangswiese	56,000	0,01	0,01	II
"	Einfluss d. Stadtgrab.	234,900	0,0001	0,0001	IV
"	Ryck an der Tafel „langsam fahren“	2,450	0,01	0,01	II
10./8. 03	Eisenbahnbrücke	13,550	0,001	0,001	III
"	Naugangswiese	55,800	0,0001	0,0001	IV
"	Stadtgraben an der Papenstrasse	234,900	0,0001	0,0001	IV
"	Einfluss d. Stadtgrab.	230,975	0,0001	0,0001	IV
"	Ryck an der Tafel „langsam fahren“	22,500	0,001	0,001	III
"	Ryck an der Tele- graphenstange 26	42,300	0,001	0,001	III
13. 8. 03	Eisenbahnbrücke	13,500	0,01	0,01	II
"	Naugangswiese	40,300	0,01	0,01	II
"	Stadtgraben an der Papenstrasse	120,545	0,0001	0,0001	IV
"	Einfluss d. Stadtgrab.	235,500	0,0001	0,0001	IV
"	Ryck an der Tafel „langsam fahren“	23,500	0,001	0,001	III
"	Ryck an der Tele- graphenstange 26	45,950	0,001	0,001	III

Datum	Ort der Entnahme	Keimzahl (1 ccm)	Thermo-phil-Titer	Coli-Titer	Grad der Verunreinigung
Bei Regenwetter mit nordwestlichem Wind.					
10. 9. 03	Eisenbahnbrücke	218,700	0,0001	0,0001	IV
"	Naugangswiese	286,500	0,0001	0,0001	IV
"	Stadtgraben an der Papenstrasse	364,855	0,0001	0,0001	IV
"	Einfluss d. Stadtgrab.	1,400,000	0,000001	0,000001	VI
"	Ryck an der Tafel „langsam fahren“	54,450	0,001	0,001	III
"	Ryck an der Telegraphenstange 26	49,800	0,001	0,001	III
Bei trübem Wetter mit Westwind und minimalem Regen.					
17. 9. 03	Eisenbahnbrücke	18,630	0,01	0,01	II
"	Naugangswiese	66,825	0,01	0,01	II
"	Stadtgraben an der Papenstrasse	253,150	0,0001	0,0001	IV
"	Einfluss d. Stadtgrab.	495,250	0,00001	0,00001	V
"	Ryck an der Tafel „langsam fahren“	24,097	0,001	0,001	III
"	Ryck an der Telegraphenstange 26	40,500	0,001	0,001	III
Bei schönem Wetter mit Ostwind.					
22. 9. 03	Einmünd. d. Rycks	19,450	0,001	0,01	II
"	Greifswalder Bodden	8,400	0,001	0,1	II
Bei Regenwetter mit südöstlichem Wind.					
26. 9. 03	Einmündung d. Rycks	19,635	0,001	0,01	II
"	Greifswalder Bodden	7,300	0,001	0,1	I
Bei Frostwetter.					
20. 12. 03	Oberteil d. Rycks (Entnahme n. d. Eiszerbrechen)	2,360	0,01	0,01	II
"	Eisenbahnbrücke (Entnahme ohne Eis zu zerbrechen)	8,910	0,001	0,001	III
"	Naugangswiese (Entnahme n. d. Eiszerbr.)	2,768	0,01	0,01	II
"	Stadtgraben an der Papenstrasse (Entnahme ohne Eis zu zerbrechen)	120,893	0,001	0,001	III

Datum	Ort der Entnahme	Keimzahl (1 ccm)	Thermo- phil-Titer	Coli- Titer	Grad der Verunreinigung
29. 12. 03	Einfluss d. Stadtgrab. Entnahme ohne Eis zu zerbrechen)	129,565	0,001	0,001	III
„	Ryck an der Tafel „langsam fahren“ (Entnahme n. d. Eis- zerbrechen)	16,099	0,01	0,01	II
„	Ryck a. d. Telegraph- stange 26 (Entnahm. n. d. Eiszerbrechen)	7,994	0,01	0,01	II
„	Einmündung d. Rycks (Entnahme n. d. Eis- zerbrechen)	21,972	0,01	0,01	II

II. Greifswalder Brunnenwasser.

25. 8. 03	a. d. Hauptmarkt (westlich).	420	1,0		
28. 9. 03	„	480	1,0		
29. 9. 03	„	480	1,0		
7. 10. 03	v. d. Nikolaikirche	85	10		
10. 10. 03	Nikolaistr.	79	0,1		
14. 10. 03	Hyg. Instiut	2,050	0,01		
19. 10. 03	a. d. Ecke v. Bau- u. Bahnhofstr.	1,012	0,01		
„	Bahnhofstr.	180	0,1	0,1	I
„	Nikolaistr.	77	0,1		
22. 10. 03	Fischmarkt (umge- baut)	78,000	0,001	0,001	III
„	a. d. Ecke v. Fisch- u. Langefuhrstr.	411	1,0		
23. 10. 03	Hauptmarkt nahe b. Trinkhalle	80	1,0		
„	Hauptmarkt, südlich, (umgebaut)	127,570	0,0001	0,0001	IV
26. 10. 30	a. d. Ecke v. Knopf- u. Hafenstr.	3,000	0,01	0,01	II
„	a. d. Ecke v. Knopf- u. Langefuhrstr.	83	1,0		
27. 10. 03	Kapaunenstr.	97	1,0		
„	Kapaunenstr. v. d. Leihhaus.	60	0,1		
28. 10. 03	a. d. Ecke v. Bismarck- u. Langefuhrstr.	2,420	1,0		

Datum	Ort der Entnahme	Keimzahl (1 ccm)	Thermo-phil -Titer	Coli-Titer	Grad der Verunreinigung
28. 10. 03	Fleischerstr.	7,088	0,001		
30. 10. 03	Hunnenstr. nahe Langefuhrstr.	1,267	1,0		
"	Hunnenstr. a. d. Ecke v. Langestr.	1,015	1,0		
31. 10. 03	a. d. Ecke v. Steinbecker- u. Langefuhrstr.	140	1,0		
"	Steinbeckerstr.	1,080	0,1	0,1	I
7. 11. 03	a. d. Ecke v. Roßmühl- u. Brüggstr.	3,139	0,1	0,1	I
"	Brüggstr. v. d. Marienkirche.	1,115	1,0		
8. 11. 03	a. d. Ecke v. Langefuhr- u. Kuhstr. (umgebaut)	3,375	0,1	0,1	I
"	Kuhstr., nahe a. Hafenstraße	4,930	0,01	0,01	II
12. 11. 03	Kuhstr., nahe Mühlenstraße	39	1,0		
"	Brüggstr., nahe Mühlenstr.	49	1,0		
13. 11. 03	Wolgasterstr. v. d. Kirchhof	110	1,0		
"	Wolgasterstr. vor Rost's Gasthaus	116	1,0		
14. 11. 03	Rotgerberstr. (umgebaut)	6,548	0,1	0,1	I
"	Langestraße	1,080	0,01		
20. 11. 03	Roßmarkt	8,010	0,01	0,01	II
"	Anklammerstr.	1,050	0,01		
28. 11. 03	a. d. Ecke v. Wilhelm- u. Wiesenstr.	140	0,1		
"	Linksstraße	145	0,1		
30. 11. 03	Grünmerstraße	8,100	0,1	0,1	I
"	Karlsplatz, nahe d. Bahnschranke	666,223	0,0001	0,0001	IV
17. 1. 04	Baderstraße	90	0,01		
23. 1. 04	Brinkstraße	1,134	0,1		
"	a. d. Ecke v. Neunmorgen- u. Gützkowerstr. (umgebaut)	2,147	0,001	0,001	III

Datum	Ort der Entnahme	Keimzahl (1 ccm)	Thermo- phil-Titer	Coli- Titer	Grad der Verunreinigung
-------	------------------	---------------------	-----------------------	----------------	----------------------------

III. Ziehbrunnenwasser von Dorf „Wieck“.

4. 12. 03	Nr. 14, auf d. Hof	1,620	0,1		
"	" 16, im Garten	2,160	0,01		
"	" 23, auf d. Hof	1,080	0,1		
"	" 35, auf d. Hof	7,695	0,01	0,01	II
"	" 55, im Garten	1,620	0,1		
"	Ein südlich am Strand liegendes Haus a. d. Hof	2,565	0,01		

IV. Leitungswasser.

11. 8. 03	im hyg. Institut	10	10		
25. 8. 03	"	15	1,0		
24. 9. 03	"	18	10		
13. 10. 03	"	18	10		
16. 10. 03	" (Reinigung des Rohres)	23	10	10	
13. 1. 04	"	12	1,0		

B. Nach einer neuen Methode.

Datum	Ort der Entnahme	Coli- bak- terien	Die Grünlösung wird binnen 24 St. vergoren	Bemerkung
-------	------------------	-------------------------	--	-----------

I. Grabenwasser.

14. 11. 05	Grabenwasser	+	+	(n. 23 Std.)
21. 11. 05	"	+	+	(n. 16 $\frac{1}{2}$ Std.)
29. 11. 05	"	+	+	(n. 16 $\frac{1}{2}$ Std.)
8. 12. 05	"	+	+	(n. 18 Std.)
15. 12. 05	"	+	+	(n. 17 Std.)
19. 12. 05	"	+	+	(n. 23 Std.)
3. 1. 06	"	+	+	(n. 20 Std.)
9. 1. 06	"	+	+	(n. 20 Std.)

Datum	Ort der Entnahme	Coli- bak- terien	Die Grünlösung wird binnen 24 St. vergoren	Bemerkung
II. Wasser von Straßenbrunnen.				
14. 11. 05	Wilhelmstr.	—	—	Die Lösung
8. 12. 05	"	—	—	blieb klar
10. 1. 06	"	—	—	"
14. 11. 05	Baderstr.	—	—	"
29. 11. 05	"	—	—	"
14. 11. 05	Großer Markt	—	—	"
21. 11. 05	"	—	—	"
9. 1. 06	"	—	—	"
14. 11. 05	Linksstr.	—	—	"
14. 11. 05	Bau- u. Bahnhofstr.	—	—	"
"	Baust.	—	—	"
21. 11. 05	Domstr.	—	—	"
8. 12. 05	"	—	—	"
15. 12. 05	"	—	—	"
21. 11. 05	Nikolaistr.	—	—	"
"	Langestr.	—	—	"
"	Hunnenstr.	—	—	"
"	Fischstr.	—	—	"
"	Steinbeckerstr.	—	—	"
29. 11. 05	Knopfstr.	—	—	"
"	Brüggstr.	—	—	"
"	Anklamerstr.	—	—	"
15. 12. 05	Langereihe	—	—	"
"	Wolgasterstr.	—	—	"
"	Steinstr.	—	—	"
21. 11. 05	Bismarckstr.	—	—	"
29. 11. 05	"	—	—	"
8. 12. 05	Kapaunenstr.	—	—	"
15. 12. 05	"	—	—	"
21. 11. 05	Rotgerberstr.	—	—	"
8. 12. 05	"	—	—	"
9. 1. 06	i. hyg. Institut	—	—	"
19. 12. 05	Karlsplatz	—	—	"
14. 11. 05	Fischmarkt	—	—	"
24. 11. 05	"	—	—	"
8. 12. 05	"	—	—	"
15. 12. 05	"	—	—	"
19. 12. 05	"	—	—	"
3. 1. 06	"	—	—	"
29. 11. 05	Kuhstr.	—	—	"
8. 12. 05	"	—	—	"
14. 11. 05	Fleischerstr.	—	—	"
29. 11. 05	"	—	—	"

Datum	Ort der Entnahme	Coli- bak- terien	Die Grünlösung wird binnen 24 St. vergoren	Bemerkung
19. 12. 05	Fleischerstr.	—	—	Die Lösung
10. 1. 06	"	—	—	blieb klar
15. 1. 06	"	—	—	"
14. 11. 05	Gützkowerstr.	—	—	"
8. 12. 05	"	—	+	
15. 12. 05	"	—	—	D.Lösg. blieb klar
19. 12. 05	"	+	+	
15. 1. 06	"	—	—	D.Lösg. blieb klar
2. 2. 06	"	—	—	"
14. 11. 05	Bahnhofstr.	—	—	
29. 11. 05	"	+	+	
8. 12. 05	"	—	—	D.Lösg. blieb klar
15. 12. 05	"	+	+	
19. 12. 05	"	+	+	
9. 1. 06	"	+	+	
15. 1. 06	"	+	+	
2. 2. 06	"	+	—	
20. 12. 05	Grimmerstr.	+	+	
3. 1. 06	"	—	+	
11. 1. 06	"	+	+	
16. 1. 06	"	+	+	
3. 2. 06	"	—	+	
29. 11. 05	Roßmarkt	—	+	
8. 12. 05	"	+	—	
15. 12. 05	"	—	—	D.Lösg. blieb klar
19. 12. 05	"	—	—	
10. 1. 06	"	—	—	D.Lösg. blieb klar
15. 1. 06	"	+	+	
3. 2. 06	"	—	+	

III. Leitungswasser.

21. 11. 05	im hyg. Institut	—	—	Die Lösung blieb klar
------------	------------------	---	---	--------------------------

Lebenslauf.

Ich, Fumio Totsuka, zweitältester Sohn des verstorbenen Leib- und Generalstabsarztes und ersten Chefs der Medizinal-Abteilung im japanischen Marine-Ministerium, Bunkai Totsuka, wurde am 8. Dezember 1878 zu Tokyo, Japan, geboren.

Von 1880—83 besuchte ich den Kindergarten meiner Heimatstadt, von 1884—86 erhielt ich meine weitere Schulbildung in der Elementarschule, dann in der Adelsschule und 1887—95 am dortigen Gymnasium. Nach meinem im Jahre 1895 bestandenen Abiturientenexamen erfolgte in demselben Jahre meine weitere Ausbildung in Deutschland. Im Herbst 1895 siedelte ich nach Deutschland über, wo ich mich während der drei ersten Jahre zunächst dem Studium der deutschen Sprache widmete. Am 6. Mai 1898 ließ ich mich an der hiesigen Universität immatrikulieren und bei der medizinischen Fakultät inscribieren.

Familienangelegenheiten erforderten es, daß ich im Sommer 1902 nach der Heimat zurückkehren mußte. Nach meiner Rückkehr im Frühjahr des folgenden Jahres setzte ich meine Studien an der hiesigen Universität fort. Seit dem 1. Januar 1903 war ich an dem hiesigen hygienischen Institut als Volontärassistent tätig.

Während meiner Studienzeit besuchte ich die Vorlesungen, Kliniken und Kurse folgender Herren Professoren und Dozenten: Ballowitz, Bier, Bonnet, Busse, Grawitz, Hoffmann, Jung, Krabler †, Krehl, Landois †, Limpricht, Loeffler, Lüthje, Martin, Moritz, Müller, Peiper, Richarz, Rosemann, Schultz, Schirmer, Schütt, Solger, Tilmann, Triepel, Westphal.

Allen diesen meinen hochverehrten Lehrern spreche ich an dieser Stelle meinen ehrerbietigsten Dank aus.



14321-