



Ueber das

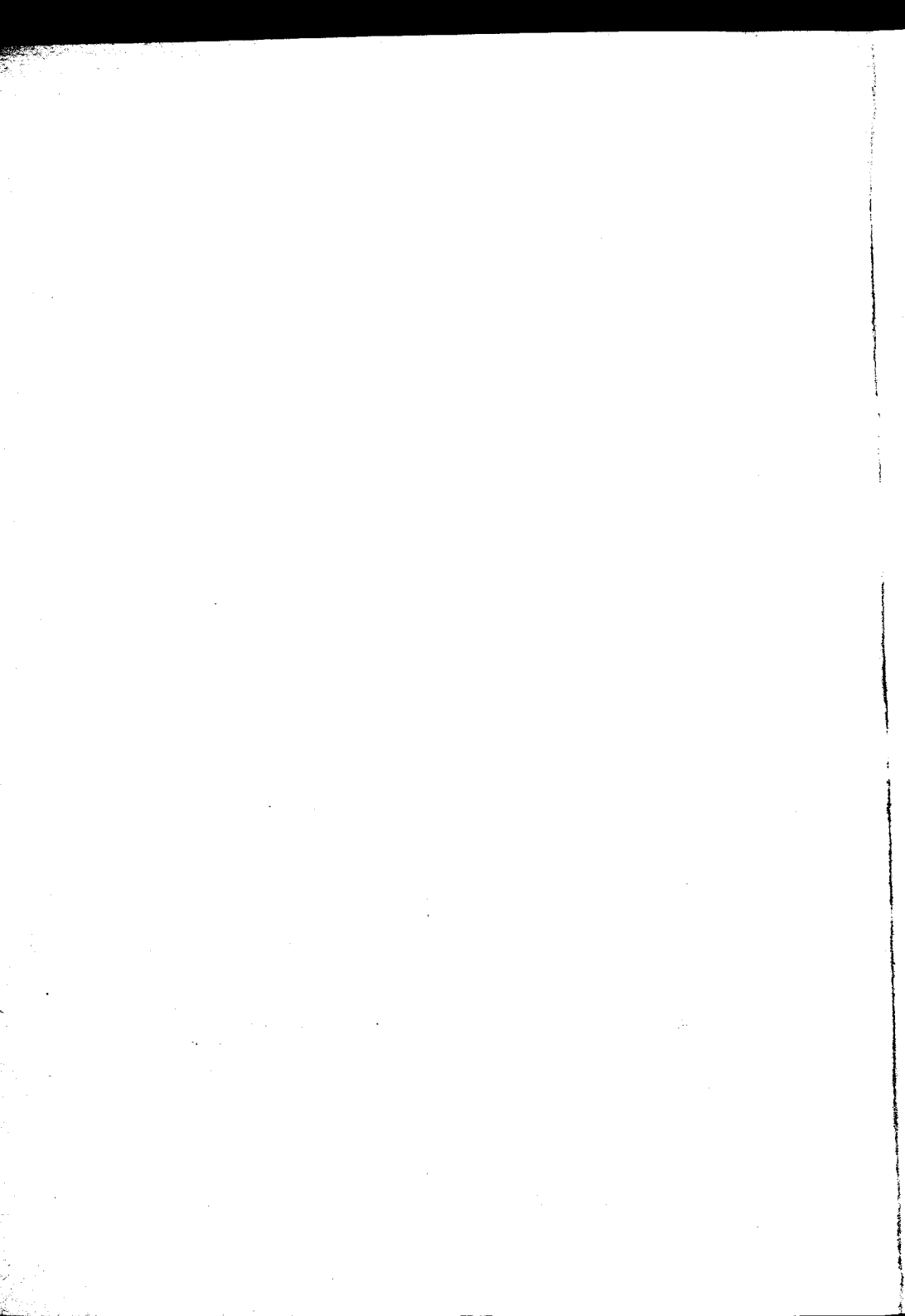
Abtöden von Cholerabacillen in Wasser.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
Medicinischen Doctorwürde
vorgelegt der
Hohen Medicinischen Facultät
der
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. B.
von
Albertus Hendrikus Nijland,
prakt. Arzt, Militärarzt O. J. L.
aus
Neede, Holland.



München 1893.

Druck von R. Oldenbourg.



Ueber das

Abtöden von Cholerabacillen in Wasser.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
Medicinischen Doctorwürde
vorgelegt der
Hohen Medicinischen Facultät
der
Albert-Ludwigs-Universität Freiburg i. B.
von
Albertus Hendrikus Nijland,
prakt. Arzt, Militärarzt O. J. L.
aus
Neede, Holland



München 1893.

Druck von R. Oldenbourg

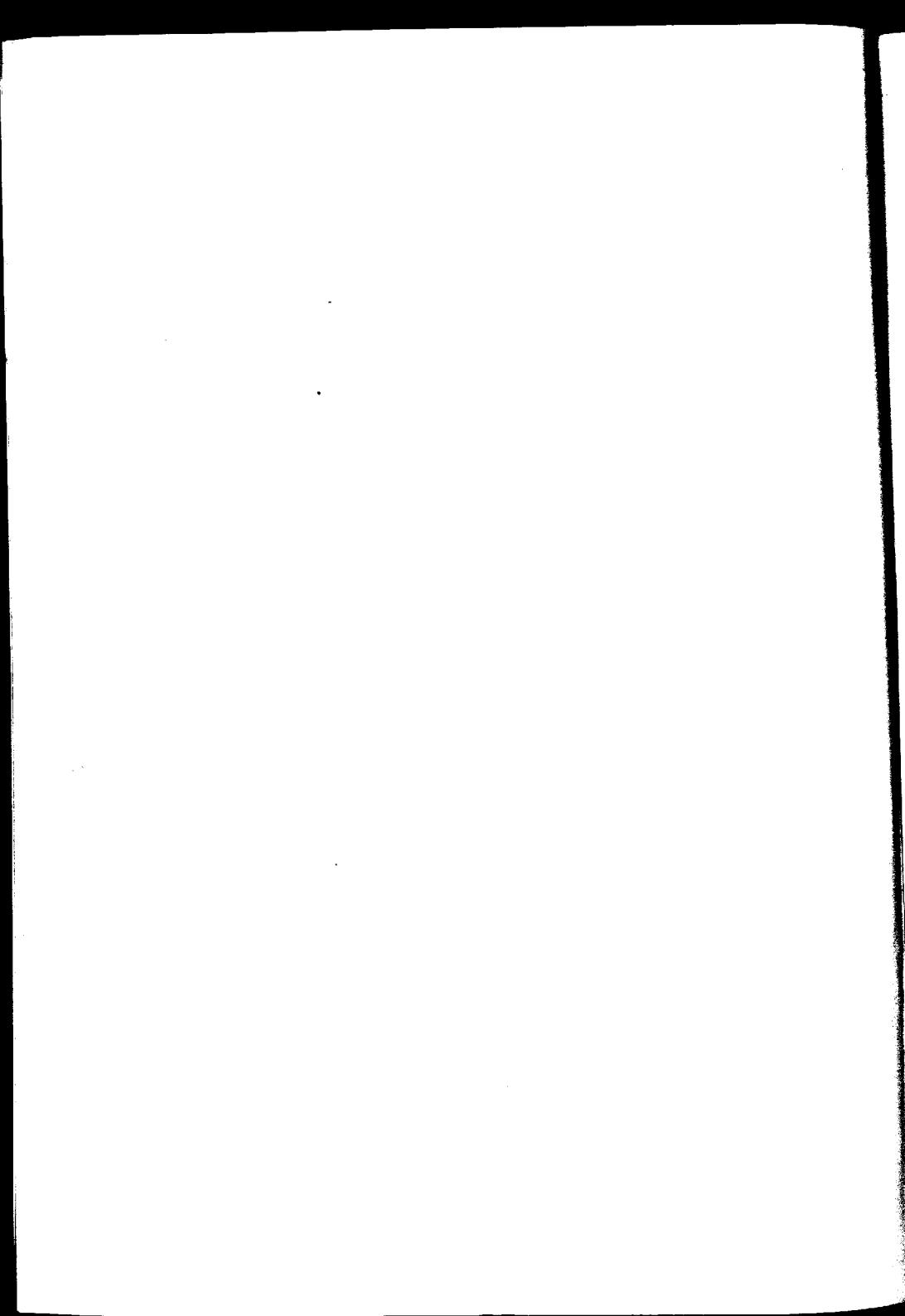
Dekan:

Geh. Hofrath Prof. Dr. **Ziegler.**

Referent:

Professor Dr. **Schottelius.**

Meinen theuren Eltern
in Liebe und Dankbarkeit
gewidmet.

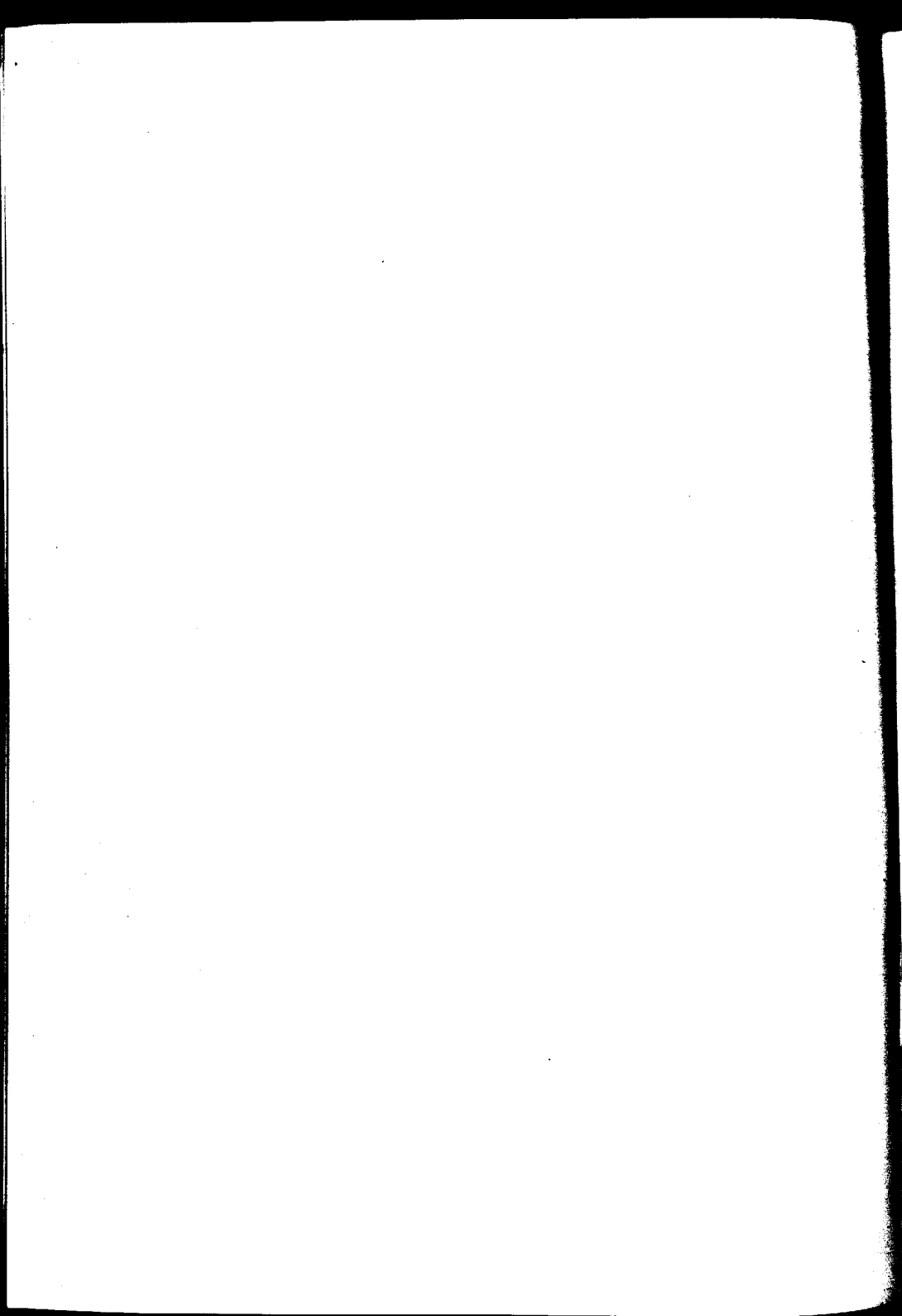


Es sei mir gestattet, an dieser Stelle ein Wort des tiefgefühlten Dankes an Sie, mein hochverehrter Lehrer Professor Forster, zu richten für die Anregung zur vorliegenden Arbeit und für die Bereitwilligkeit, mit der Sie weder Mühe noch Zeit gescheut haben, um mich bei meiner Arbeit zu unterstützen.

Auch Sie, Herr van Hest, bitte ich meinen besten Dank für die Sorge, mit welcher Sie mir bei der Ausführung meiner Untersuchungen zur Seite gestanden, entgegen zu nehmen.

Ebenso nehme ich gerne die Gelegenheit wahr, Herrn Prof. Schottelius zu danken für die wohlwollende Beurtheilung der vorliegenden Dissertation.

Amsterdam, Juni 1893.



»Wie ein Experiment im Grossen hat die Hamburger Epidemie die Verbreitung der Cholera durch das Wasser gezeigt«, sagt Guttman¹⁾ in »Ueber den Gang der Choleraepidemie im Jahre 1892«. Obwohl es immer seine Bedenken hat, gleichsam als eine Flagge für die Wissenschaftlichkeit einer Beobachtung den Ausdruck »Wie ein Experiment« für complicirte Vorgänge und Erscheinungen in der Natur oder im menschlichen Leben anzuwenden, wie neuerdings so vielfach beliebt wird, so sind durch den plötzlichen Ausbruch der Cholera in Hamburg und durch den positiven Nachweis der Choleraeakterien in verschiedenen Wassersorten, der im Verlaufe der jetzigen Choleraepidemie mehrere Male²⁾ geführt worden ist, auch weitere Kreise der Bevölkerung mehr und mehr auf die Gefahr einer Uebertragung der Cholera durch das Trinkwasser aufmerksam geworden. Während nun zweifellos die Furcht vor dieser Gefahr dazu führt, dass manche Verbesserungen der Trinkwasserversorgung im Kleinen und im Grossen eingeführt werden, und nun sonach mehr erreicht wird als vorher nüchterne Ueberlegungen allein erzielen konnten, so ist die Furcht eine übele Rathgeberin, da unter ihrem Einflusse Manche leicht zu Uebertreibungen veranlasst werden, die für Andere wiederum nachtheilig werden können.

1) Wiener Medic. Wochenschr. Nr. 8, 1893.

2) Vergl. hierüber die Angaben in Flügge und Koch, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. XIV, 1. und 2. Heft.

Ein Beispiel hiervon geben uns einige Erfahrungen, die in Amsterdam im vergangenen Herbst gemacht wurden, und die auch jetzt schon wieder ihre Schatten vorauswerfen.

In Amsterdam bestehen nämlich zwei Wasserleitungen. Die eine derselben, die sogenannte Dünenwasserleitung, führt in zwei grossen Röhrenleitungen Wasser nach Amsterdam, das dem Grundwasser der, etwa zwischen Haarlem und dem Nordseestrand gelegenen, unbewohnten Dünenketten durch ober- und unterirdische Kanäle entnommen wird; die zweite Wasserleitung entnimmt das Wasser der Vecht, die von Utrecht an nordwärts durch das »Polderland« verläuft und bei Muiden in die »Zuiderzee« einmündet. Die Vecht ist ein für grössere Schiffe befahrbarer Strom, der sich vorzüglich aus den Abwassern des ausgebreiteten Polderlandes ergänzt. Das Wasser für die Vechtwaterleitung wird an einer Stelle der Vecht entnommen, wo diese in einem grossen Kreisbogen nach Westen von der nördlichen Richtung, als sogenannte »Oude Vecht« ausgebuchtet ist, während ein breiter Kanal, als Segmentsehne der Ausbuchtung, der Strömung des Wassers und der Schifffahrt den abgekürzten geraden Weg in nordsüdlicher Richtung liefert.

Kurz nach der Entnahme aus dem Vechtbogen wird das Wasser durch grosse Filteranlagen filtrirt. Diese Filtration ist, da die Leitung auf eine tägliche Lieferung von 40000 cbm angelegt ist, durchschnittlich jedoch nicht mehr als etwa 15000 cbm zu liefern hat, eine gute zu bezeichnen. Bei verschiedenen Untersuchungen, die im Amsterdamer Hygienischen Laboratorium seit Jahren ausgeführt werden, konnten nur ganz ausnahmsweise mehr als 200 Bakterien pro Cubikcentimeter gefunden werden, während im Allgemeinen nur etwa 50 bis 100 Bakterien im Cubikcentimeter enthalten sind.

Das aus den Dünen angeführte Dünenwasser (»Duinwater«) wird als Trinkwasser zu häuslichen Zwecken in die Häuser eingeleitet; das sog. Vechtwater (»Vechtwater«) hat als Nutzwasser zu technischen und industriellen Zwecken, für die Strassenbesprengung, Feuerwehr u. s. w. zu dienen. Da die Dünenwasserleitung jedoch eine ungenügende Menge von Wasser

anbrachte¹⁾, so geschah es, insbesondere in den warmen Jahreszeiten geregelt, dass die höheren Stockwerke der Häuser, selbst schon vom 1. Stockwerke angefangen, und vor Allem in den Aussendistrikten der Stadt, über Tags der Wasserzufuhr entbehren mussten. Dadurch hatte begreiflicherweise vorzüglich der weniger bemittelte Theil der Bevölkerung sehr zu leiden. Dies führte dazu, dass das bisher bestandene gesundheitspolizeiliche Verbot, das Vechtwasser in die Häuser einzuführen, theilweise aufgehoben wurde; es wurde nämlich der Gesellschaft, welche die beiden Wasserleitungen betrieb, gestattet, neben dem zum Trinken, Kochen u. s. w. bestimmten Dünenwasser in einer zweiten gesonderten Leitung das Vechtwasser in Privathäuser für die Spülung von Closets und für Bäder einzubringen.

Da kam, und zwar noch in der Jahreszeit, in welcher das Wasserbedürfnis in den Wohnungen erhöht ist, erst der Ausbruch der Cholera in Hamburg, der alsbald allgemein dem Gebrauche von Flusswasser zugeschrieben wurde, dann das Auftreten einzelner Cholerafälle und kleinerer localer Cholera-Epidemien in den Provinzen Süd-Holland und Utrecht, und schliesslich einige Erkrankungen an Cholera in Amsterdam selbst, die allerdings durchaus vereinzelt blieben und zum Theil aus der Provinz Utrecht eingeführt waren. Da die Cholera vorzüglich in Utrecht und dessen Umgebung, also an dem obersten Laufe der Vecht vorkam, so wurde alsbald das Wasser der Vecht, das von den anliegenden Dörfern als Trinkwasser gebraucht wird, als der Träger des Cholerainfektionstoffes betrachtet. Die Landesregierung gab dem noch besonderen Ausdruck durch eine amtliche Warnung, die in den Gemeinden des Landes öffentlich durch Anschlag kundgegeben wurde, worin die Vecht als inficirt durch Cholera, und das Trinken des ungekochten oder nicht gut filtrirten Vechtwassers als gefährlich erklärt wurde.

1) Nach dem umfangreichen Berichte der Commission, die von der Gemeinde Amsterdam vor einigen Jahren zusammengestellt wurde, um die Ursachen der Leistungsunfähigkeit der Dünenwasserleitung aufzudecken, wurden pro Tag und Kopf der Bevölkerung im Jahresmittel kaum mehr als 20 l nach Amsterdam geleitet. Siehe Rapport der Commissie van Onderzoek in zake de Duinwaterleiding van Amsterdam (Amsterd. Stadsdrukkerij 1891, p. 37.

Es darf nicht Wunder nehmen, dass unter solchen Umständen auch das dem wenig befahrenen Arme der Vecht entnommene, durch langsame und sorgfältige Filtration gereinigte Vechtleitungswasser in Amsterdam von ängstlichen Gemüthern für inficirt gehalten wurde. Die Bacillenfurcht, die hier wie überall zu blühen begann, ging so weit, dass selbst ein Paar Aerzte — allerdings der ruhigen Ueberlegung und Pflichterfüllung der anderen gegenüber Ausnahmen — ohne nähere Kenntniss der thatsächlichen Verhältnisse, den Gebrauch des Vechtleitungswassers in Brauereien zum Würzosieden verboten wissen wollten, und die Cholerabacillen von den Springbrunnen aus mit dem Winde verbreiten liessen. Da dies in eingesandten Artikeln in den Zeitungen geschah, so war es begreiflich, dass eine ziemlich allgemeine Scheu vor dem Gebrauche des Vechtwassers zu Hausbädern hervorgerufen wurde. Dies führte dazu, dass entweder das gewohnte nützliche Baden unterlassen wurde oder dass die Badewannen mit Dünenwasser statt mit Vechtleitungswasser gefüllt wurden. Während es sich bei dem Unterlassen der Bäder um eine rein individuelle Sache handelte, musste der zweitgenannte Umstand eine Erhöhung des Dünenwasserverbrauches bewirken. Als Folge hiervon aber wiederum wurde unter den gegebenen Verhältnissen die Deckung des Wasserbedürfnisses erschwert und dies vorzugsweise in den höheren Stockwerken der Häuser und in den Aussendistrikten der Stadt mit einer zahlreichen, weniger bemittelten Bevölkerung, gerade also da, wo eine ausreichende Wasserversorgung in Zeit von Epidemien besonders erwünscht ist.

Mit Rücksicht auf die oben angegebene Weise der Gewinnung und Behandlung des Vechtwassers für die Nutzwasserleitung in Amsterdam wurde die Scheu vor dem Vechtwasser von den Behörden und speciell von der alsbald bei dem Vorkommen von Cholerafällen zusammengerufenen städtischen Choleracommission nicht getheilt. Zweifellos wurde durch diese Haltung auch ein grosser Theil der Bevölkerung einigermaassen beruhigt, und es war somit zunächst, wenn man die geschilderten Verhältnisse der Trinkwasserversorgung in Amsterdam im Auge behält, einer öffentlichen Calamität möglichst begegnet. Was jedoch dies Mal

sich zu ereignen drohte, konnte vielleicht ein nächstes Mal zu ernstlichen Störungen und Uebelständen Veranlassung geben. Thatsächlich wurde bereits in diesem Frühjahr, während wir mit den unten zu beschreibenden Versuchen beschäftigt waren, in verschiedenen eingesandten Artikeln in den Tagesblättern die Frage behandelt, ob nicht das Baden im Flusswasser Gefahren für eine Infection mit Cholera darbiete. Wenn diese Frage jetzt schon, wo seit mehreren Monaten kein Fall von Cholera mehr in ganz Niederland vorgekommen ist, aufgeworfen wird, was ist dann zu erwarten, wenn etwa wirkliche Fälle im kommenden Sommer wiederum bekannt werden sollten? Es ist sonach zweifellos, dass man hier — unter den local gegebenen Verhältnissen — mit der Möglichkeit einer öffentlichen Erregung als Veranlassung zu hygienischen Missständen zu rechnen hatte; ausgehend hiervon, also von einem rein praktischen Standpunkte, abgesehen von der Frage, ob einige Wahrscheinlichkeit vorhanden ist, dass das Wasser der Vechtwaterleitung in Wirklichkeit inficirt sei und sein Verbrauch Gefahren darbieten könne, war es nach der Meinung von Prof. Forster, Director des Amsterdamer Hygienischen Instituts, wünschenswerth, den Bewohnern Amsterdams, in deren Häusern das filtrirte Vechtwater zu Bädern benutzt werden konnte, die Ueberzeugung zu versichern, dass sie ihr Bad für sich und ihre Angehörigen ohne irgend welche Scheu gebrauchen könnten. Da man es aus begreiflichen Gründen hier vorzüglich mit bemittelten Personen zu thun hatte, die Ueberlegungen zugänglich sind, so war zu erwarten, dass auf experimentellem Wege, durch wissenschaftliche Versuche, eine befriedigende Lösung der Frage zu geben war. Mit der Ausführung von Versuchen in dieser Richtung hat Prof. Forster am Ende des vorigen Jahres mich beauftragt, und bin ich seiner Aufforderung mit Vergnügen nachgekommen. Da wir meinen, dass einmal die Resultate der Untersuchungen ein mehr allgemeines Interesse verdienen, und andererseits ähnliche Verhältnisse, wie sie in Amsterdam vorliegen, auch anderwärts bestehen können, so halten wir uns zu einer Mittheilung der Versuche berechtigt.

Die Aufgabe war: den Personen, welche Hausbäder gebrauchen, ein Mittel an die Hand zu geben, das, dem Badewasser beigelegt, in demselben enthaltene Cholerabacillen bei der Temperatur des Badewassers rasch und mit Sicherheit abtödtet, das leicht anzuwenden ist und dessen Anwendung sonach auch dem Furchtsamsten die Scheu entnehmen kann.

Bekanntlich sind die Cholerabacillen sehr wenig fähig, den sie schädigenden Einflüssen Widerstand zu bieten. Sie gehen bereits bei dem nur eine Minute dauernden Erwärmen auf eine Temperatur von 58° zu Grunde¹⁾, sie werden durch weniger als 1‰ Lysol²⁾ oder Creolin³⁾ und etwas mehr Carbolsäure oder andere Säuren in kurzer Frist getödtet; sie sterben ab, wenn sie nur kurze Zeit den Dämpfen von Jodoform⁴⁾ u. s. w. ausgesetzt werden, ja sie ertragen sehr schwache Einwirkungen auf die meisten Bakterien, so nach den alsbaldigen Erfahrungen Koch's das Eintrocknen, ferner, wie die jüngsten Versuche ergeben haben⁵⁾, eine wenige Tage dauernde Kältewirkung von einigen Graden unter 0 u. s. w. nicht. Nun ist, worauf schon Naegeli aufmerksam machte, die Intensität einer schädlichen Einwirkung auf die Mikroorganismen auch abhängig von äusseren Umständen, worin die lebenden Wesen gerade verkehren. Sind die verschiedenen Lebensbedingungen günstig, so sind im allgemeinen die niederen Pilze widerstandsfähiger; unter ungünstigen Verhältnissen dagegen ertragen diese weniger; da nun nach den bisherigen Erfahrungen die ins Wasser gelangten Bacillen in der Regel nicht lange am Leben bleiben, so durfte man annehmen, dass verschiedene desinficirende Stoffe die Cholerabakterien, wenn diese im Wasser enthalten sind, in viel

1) Forster, Münch. Medic. Wochenschrift, 1886, Nr. 35. — v. Geuns, Archiv f. Hygiene, Bd. IX, S. 369, 1889.

2) Schottelius, Münch. Medic. Wochenschrift, 1890, Nr. 19 u. 20.

3) Esmarch, Centralbl. f. Bacteriologie, 1887, Bd. II, Nr. 10 u. 11. — Eisenberg, Wiener Medic. Wochenschrift, 1888, Nr. 17–19. — Forster, Münch. Medic. Wochenschrift, 1889, Nr. 26.

4) Buchner, Tilanus, Münch. Medic. Wochenschr., 1889, Nr. 32 u. 33.

5) Renk, Fortschritte der Medic. 1893, Nr. 10. — Uffelmann, Berl. klin. Wochenschrift, 1893, Nr. 9.

stärkeren Verdünnungen schon vernichten, als wenn sie in anderen Medien enthalten sind; ja man konnte erwarten, dass es gelingen werde, das eine oder andere Desinfectionsmittel zu finden, das noch in einer Verdünnung rasch wirksam wäre, in welcher es als Zusatz zu Badewasser leicht und bequem ohne Uebelstand und ohne besondere Kosten angewendet werden könnte.

Die Menge des für ein Wannenbad nöthigen Wassers beträgt mindestens 120 l, überschreitet in der Regel 150 l und kann leicht bis 200 l gehen.

Man könnte daran denken, das Badewasser, das doch meist erwärmt werden muss, vorher über die Abtödtungstemperatur der Cholera-bacillen zu erhitzen, die nach den im Amsterdamer Laboratorium gemachten, anderwärts bestätigten Untersuchungen von Dr. v. Geuns bei 58° C. gelegen ist; aber eine solche Erhitzung würde in der Hauspraxis besondere Aufsicht und eine Auswechslung der vorhandenen üblichen Oefen etc. erfordern. Da sonach die Aufgabe ist, eine solche Wassermenge mit chemischen Mitteln zu desinficiren, so mussten, wenn eine Desinfection in der Praxis ausführbar sein soll, Zusätze zum Bade gefunden werden, die schon in ausserordentlich geringen Mengen die Cholera-bacillen im Wasser zu tödten im Stande sind.

Von selbst bot sich zunächst die Prüfung der Seife dar, die ja ohnehin als Desinfectionsmittel betrachtet werden muss; nach den gewöhnlichen Seifen musste an die sog. kosmetischen und an die mit desinficirenden Stoffen versetzten Seifen gedacht werden; endlich waren Zusätze von reinen Desinfectionsmitteln zu prüfen.

Zu den Untersuchungen wurden Culturen von Cholera-bacillen verwendet, welche von einem im October 1892 dahier tödtlich abgelaufenen Falle von Cholera stammten. Von den Cholera-bakterien wurde für die verschiedenen Versuchsreihen erst eine Agar-cultur 18 bis 20 Stunden lang bei 37½° C. gezüchtet, und nach dieser Zeit 2 Oesen der Cultur in 4 ccm sterilisirter 0,75 % iger Kochsalzlösung durch Verreiben an den Wänden und sorgfältiges Mischen gut vertheilt. Dabei wurde besonders darauf geachtet, möglichst nur von der Cultur und nichts von Agar



oder der aus dem Agar eventuell ausgepressten Flüssigkeit mit in die Verdünnungsflüssigkeit überzunehmen. Von der, ausser den Cholera bacillen, an organischen Stoffen sonach armen Flüssigkeit wurden mit Hilfe einer geachteten Platinlocke bekannte Antheile, in der Regel 70 mg, in das zu behandelnde Wasser übergeführt und in diesem gleichmässig vertheilt. Als Wasser für die Versuche wurde in der Regel das der Leitung frisch entnommene Vechtwasser gebraucht, wovon stets 500 ccm in einen grossen sterilisirten Kolben gefüllt wurden. Das in den geeigneten Verdünnungen hergestellte Desinfectionsmittel wurde meist mit einer sterilisirten Pipette in der gewählten Menge dem Wasser beigelegt, unmittelbar möglichst gut vertheilt und sofort, nach 5, 10 und 15 Minuten, 70 mg herausgenommen, mit Gelatine vermenget und zu Platten ausgegossen. Vor der Beimengung war der Kolbeninhalt in einem Wasserbade auf die Anfangstemperatur eines Bades (33° C.) erwärmt; während des Versuches blieb der warme Kolben bei Zimmertemperatur stehen und kühlte so um mehrere Grade ab, entsprechend dem, was bei einem Wannenbade geschieht. Nach der Anfertigung der letzten Platte (nach 15 Minuten) wurden zur Controlle noch verschiedene Male Antheile des behandelten Wassers in Löffler'sche Bouillon gebracht oder zu einer fortgesetzten Schottelius'schen oder Arens'schen Cultur verwendet, von denen meist wiederum Plattenculturen gemacht wurden. Beizufügen ist noch, dass jedes Mal aus der, die Cholera bacillen enthaltenden Mischung die gleiche Menge in je zwei Kolben mit 500 ccm Wasser gebracht wurde. Während der eine Kolben zu den oben erwähnten Versuchen verwendet wurde, blieb der andere während der 15 Minuten des Versuches ohne weiteren Zusatz stehen und wurde nur von Zeit zu Zeit geschüttelt. Nachdem sodann die Platten aus dem ersten Kolben sämmtlich angefertigt waren, entnahm ich dem gut gemengten Inhalte des zweiten Kolbens meist 70 mg zur Anfertigung einer Gelatineplatte. Dies geschah, weil nach den im Auftrage von Prof. Forster von dessen Assistenten Herrn J. J. van Hest ausgeführten Versuchen Cholera bacillen, die dem Vechtleitungswasser zugesetzt werden, schon nach einer

Viertelstunde theilweise absterben; es war sonach dem Irrthum vorgebeugt, eine Verminderung der eingebrachten Bacterienmenge durch die Wirkung des Wassers als eine Wirkung des zugesetzten Mittels gelten zu lassen. Der Vergleich der Colonienzahl auf der Controlplatte mit den anderen Platten gab die Wirkung des Zusatzes sodann quantitativ zu erkennen.

Die Platten wurden bei 24° C., die Bouillon bei 37° C. im Brutschranke gehalten, und jeden Tag wiederholt nachgesehen, ob Cholera-colonien sich entwickelt hatten. Sobald Colonien makroskopisch sichtbar waren, wurden sie in der Form von Klatsch- oder Ausstrichpräparaten mikroskopisch untersucht. Enthielten die mikroskopischen Präparate gekrümmte Stäbchen, und waren die Colonien denjenigen der Cholera-bacillen ähnlich, so wurde die Anzahl derselben bestimmt. Waren innerhalb 7 Tagen noch keine Colonien zu sehen, so hielt ich die Desinfection für gelungen, da nach vielfachen Erfahrungen von Prof. Forster bei seinen Untersuchungen über die Wirkung von Creolin auf die Cholera-bacillen nach dieser Zeit kein Aufkommen neuer, bzw. keine Vermehrung der Anzahl der schon früher entwickelten Colonien mehr beobachtet wird. Die Bouillon-culturen wurden, wenn sie eine Trübung zeigten, mikroskopisch untersucht, und nachher durch Beifügung einiger Tropfen concentrirter Schwefelsäure auf die Cholera-rothreaction geprüft. Insbesondere bei jenen Versuchen, bei welchen zu erwarten war, dass alle oder fast alle Cholera-bacillen getödtet waren, habe ich, um volle Sicherheit zu haben, nach der Methode von Prof. Schottelius¹⁾ und nach derjenigen von Dr. Arens²⁾ getrachtet, eventuell noch vereinzelt vorhandene Cholera-bacillen aufzuspüren. Beide Methoden habe ich übrigens einigermaßen abgeändert anwenden müssen. Bei der Methode von Schottelius nämlich nahm ich statt gleichen Theilen der zu untersuchenden Flüssigkeit und Löffler'scher Bouillon die Hälfte der Flüssigkeit und weniger, um zu verhindern, dass die mit dem Wasser vermengten bacterientödtenden Stoffe auch nun noch ihre Wirkung ausüben

1) Deutsche Medic. Wochenschr. Nr. 14, 1885.

2) Münch. Medic. Wochenschr. Nr. 10, 1893.

konnten. Bei der Arens'schen Methode habe ich statt 175 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit 75 ccm derselben genommen und brachte hiemit 25 ccm Pancreasbouillon mit 100 ccm destillirtem Wasser und 1 ccm einer 10% igen Kalilösung zusammen. Die Methoden haben hierdurch vielleicht an Schärfe eingebüsst; ich meinte aber, dass sie so für meinen Zweck besser brauchbar wären. Nachdem die so hergestellten Flüssigkeiten in der Regel bis zu 18 Stunden bei 37° C. gehalten waren, wurden von der Oberfläche mikroskopische Präparate gemacht und in zweifelhaften Fällen von der Oberfläche Platten mit Nährgelatine angelegt.

Da das Zählen der Colonien einen relativ ungenauen Befund gibt, wenn sehr viele Colonien sich auf den Platten entwickelt haben, so habe ich in den Tabellen, in denen die Resultate zusammengestellt sind, nicht die genaue Zahl, welche ich fand, angegeben, sondern nur die ungefähren Mengen; d. h. es ist angegeben, ob sich mehr als 2000, mehr als 1500, 1000, 750, 500, 250, 100, 75, 50 oder mehr als 25 Colonien entwickelt hatten. Dies bedeutet also, dass sich von ihnen mehr als die angegebene Zahl und weniger als die nächstfolgende auf den Platten vorfanden. Waren weniger als 25 Colonien entwickelt, so wurde die genaue Zahl mitgetheilt.

I. Wirkung der Seifen.

R. Koch schon hat gezeigt, dass den Seifen eine Wirkung auf das Leben und die Entwicklung von Bakterien zukommt. Er stellte beispielsweise fest, dass der Zusatz von Kaliseife zu dem Nährmedium von Milzbrandbacillen in einer Stärke von 0,2% das Wachsthum derselben behindert, bei 1% gänzlich aufhebt. Berücksichtigt man den Unterschied in der Widerstandsfähigkeit der Milzbrand- und Cholerabacillen z. B. gegen Wärme, wie er in den Versuchen von v. Geuns¹⁾ beobachtet wurde, so darf man hiernach schon erwarten, dass bei den Cholerabakterien durch viel stärkere Verdünnungen einer Seifen-

1) a. a. O., S. 6.

lösung nicht nur eine Entwicklungshemmung, sondern selbst eine Abtödtung erzielt werden könne.

Um einen Anhaltspunkt zu gewinnen, welche Verdünnung zu unseren Versuchen anzuwenden wäre, bestimmten wir zunächst die Menge Seife, welche unter gewöhnlichen Verhältnissen bei einem Wannenbade von je einer Person gebraucht wird. Dies geschah durch Wägung des Seifeverbrauches bei Bädern oder durch Bestimmung der fetten Säuren im Badewasser. Die Menge der verbrauchten Seife ist selbstverständlich von verschiedenen Momenten abhängig, ausser von der Person des Badenden insbesondere von der Grösse der verwendeten Seifenstücke und von der Art des Schaumes; sie ist daher, wie zu erwarten, sehr ungleich in den verschiedenen Fällen. Ich fand sie von 12 bis 24 g per Wannenbad wechselnd. Rechne ich die Menge des Badewassers für ein Bad zu 150 bis 200 l, so würde dies einen Gehalt von 0.06 bis 0.16‰ Seife im Badewasser ausmachen. Dementsprechend wurde von uns als Ausgangspunkt für die experimentelle Ermittlung der untersten Grenze, bei welcher verschiedene Seifen die im Wasser enthaltenen Cholera-bacillen zu tödten im Stande sind, eine etwas höhere Concentration als die oben gefundene, nämlich 0.24 pro mille, genommen, was einer Menge von 36 g Seife auf ein Bad von 150 l Wasser gleichkommen würde.

Von Seifen wurden benutzt: die im hygienischen Institute benutzte weisse Waschseife (Natronseife), grüne Schmierseife (Kaliseife) des Handels, und der nach der Vorschrift der Niederländischen Pharmakopoe bereitete Sapo Medicatus. Der Wassergehalt der angewendeten Seifen betrug bei: Waschseife 14,5 %, Schmierseife 42,7 %, Sapo Medicatus 7,3 %.

Von den Seifen wurde eine 10 % ige Lösung in destillirtem Wasser angefertigt und hiervon 1,2 ccm den 500 ccm mit Cholera-bacillen versetzten Wassers zugemischt. In den folgenden Tabellen sind die Ergebnisse des Wachsthum der Cholera-bacillen auf den Platten und in der Bouillon dargestellt. Die in der Tabelle zusammengestellten Zahlen geben die Anzahl der Colonien an, welche sich auf den Platten vorfanden, also die

Quantität der Cholerabacillen, welche in 70 mg des Wassers enthalten waren; es ist also ohne weiteres eine eventuelle Wirkung des Seifenzusatzes aus den Zahlen zu erkennen:

I.

Nach dem Zusatze	0,24 pro mille		
	Weisse Natronseife	Schmierseife	Sapo Medic.
Nach 1 Minute	> 2000	> 1500	> 2000
„ 5 Minuten	> 2000	> 1500	> 2000
„ 10 „	> 2000	> 1500	> 2000
„ 15 „	> 2000	> 1500	> 2000
„ 15 „ (in Bouillon)	Entwicklung	Entwicklung	Entwicklung
Ohne Seifenzusatz	> 2000	> 1500	> 2000

II.

Nach dem Zusatze	2,4‰		
	Weisse Natronseife	Schmierseife	Sapo Medic.
Nach 1 Minute	> 750	> 500	2
„ 5 Minuten	> 100	> 50	1
„ 10 „	> 100	0	1
„ 15 „	> 50	0	0
„ 15 „ (in Bouillon)	Entwicklung	keine Entwick.	keine Entwick.
Ohne Seifenzusatz	> 2000	> 1500	> 2000

III.

Nach dem Zusatze	3‰ weisse Natronseife	1,8‰ Sapo Medicatus	1,2‰ Sapo Medicatus
Nach 1 Minute	0	> 100	> 2000
„ 5 Minuten	0	> 50	> 1500
„ 10 „	0	10	> 1500
„ 15 „	0	10	> 1500
„ 15 „ (in Bouillon)	keine Entwick.	Entwicklung	Entwicklung
Ohne Seifenzusatz	> 2000	> 2000	> 2000

Eine Seifenmenge sonach, welche gewöhnlich bei einem Bade verbraucht wird, ist nicht im Stande, Cholerabacterien in Wasser

zu tödten; erst eine Menge, die 20 bis 50 Mal grösser ist, als dem wechselnden Seifenverbrauche entspricht, würde hierzu genügen. Doch ist deutlich zu erkennen, dass die Schmierseife und auch Sapo Medicatus eine stärkere Wirkung entfalten als die gewöhnliche weisse Natronseife.

Bei Sapo Medicatus, den wir theilweise für die Versuche der folgenden Serie noch zu benutzen hatten, kann als Grenzwert für die Wirkung, die auf im Wasser anwesende Cholerabacillen innerhalb 15 Minuten ausgeübt wird, ein Gehalt von 2,4 ‰ angenommen werden, während bei 1,8 ‰ nur eine theilweise Abtödtung und eine Abschwächung erzielt wird, welche letztere sich durch ein verzögertes Aufkommen der Colonien auf den Platten zu erkennen gibt.

II. Wirkung von zusammengesetzten Seifen.

Aus den eben beschriebenen Versuchen geht hervor, dass die Seife allein zur Desinfection des Bade- oder Waschwassers nicht genügend ist, da sie hier in zu grossen Quantitäten angewendet werden müsste. Die Frage war daher zunächst, ob einzelne der bereits vielfach angewendeten, käuflichen, zusammengesetzten Seifen, insbesondere diejenigen, die einen Gehalt an besonderen desinficirenden Stoffen haben, etwa zu den genannten Zwecken verwendet werden könnten. Da zur Zeit in unserem Laboratorium gerade Controllbestimmungen über das Desinfectionsvermögen von käuflichem Creolin gemacht wurden, so wurde zunächst eine im Handel vorkommende Creolinseife, die nach Angabe 5% Creolin enthielt, zu den Versuchen verwendet. Wie in den bereits angegebenen Versuchen, liess ich auch hier zunächst eine wie oben hergestellte Verdünnung von 0,24 ‰ der 5%igen Creolinseife einwirken. Da bei dieser Verdünnung nach 15 Minuten eine Verminderung der Anzahl von Cholerabacillen nicht zu erkennen war, so wurde wie früher eine 10mal stärkere Creolinseifenmenge, also 2,4 ‰, zugesetzt. Nun ergab sich, dass bereits eine Minute, nachdem der Zusatz der Creolinseife zu dem Cholerabacillen haltenden Wasser (mehr als 2000 Cholerabacillen in 70 mg) erfolgt war, diese alle getödtet waren; noch auf den

Platten, noch in der Bouillon, die mit dem behandelten Wasser geimpft war, kam es zu einer Entwicklung der Cholera-bakterien¹⁾.

Um nun den Grenzwert der Wirkung der Creolin- und anderer Seifen zu bestimmen, verwendete ich nicht mehr die käuflichen Seifen, deren Gehalt an dem Desinfectionsmittel Schwankungen unterliegen kann, sondern ich bereitete eine 10%ige Lösung von Sapo Medicatus, dessen Minimalwirkungswert etwa bei 2,4‰ gelegen ist, in destillirtem Wasser, und mischte diesem jedesmal, bei den auszuführenden Versuchen, die gewünschte Menge des Creolins, Lysols, Carbolsäure u. s. w. zu, in der Regel soviel, dass der Gehalt der Seife an desinfectirender Substanz dem Gehalt der käuflichen Seifen entsprach.

Um beispielsweise eine 5%ige Creolinseifenlösung in einer Stärke von 1,8‰ einwirken zu lassen, brachte ich 9 ccm einer Lösung, die 10% Sapo Medicatus und 0,5% Creolin enthielt, in die 500 ccm des Cholera-bacillen haltenden Wassers und fertigte dann in der beschriebenen Weise die Plattenculturen an.

Ich erhielt nun folgende Resultate:

I.

Nach dem Zusatze	1,2‰ einer 5%igen Creolinseife
Nach 1 Minute	> 2000
„ 5 Minuten	> 1500
„ 10 „	> 1500
„ 15 „	> 1500
„ 15 „ (in Bouillon)	Entwicklung
Ohne Zusatz	> 2000

1) Man könnte vermuthen, dass hier die Entwicklung dadurch verhindert worden wäre, dass mit dem Wasser auch geringe Mengen der Creolinseife in das Nährmedium übergeimpft wurden. Schon die erste Versuchsreihe mit Creolinseife, die, wie oben erwähnt, positive Resultate ergab, macht dies unwahrscheinlich; dass dies jedoch in der That nicht der Fall ist, geht aus Controllbestimmungen hervor, die Prof. Forster bei der Prüfung des durch die Gemeinde Amsterdam angekauften Creolins angewendet hat, und die ich ebenfalls bei den später zu meldenden Sublimatversuchen wiederholt habe. Es wurden nämlich aus einer Cholera-bacillen haltenden Flüssigkeit mehrere Röhrchen mit Nährgelatine oder Bouillon geimpft und einzelnen der letztern

II.

Nach dem Zusatze	Sapo Medic. allein	Creolin	1,8 ⁰⁰⁰ Sapo Medic. mit 5 ⁰⁰			
			Carbol- säure	Salicyl- säure	Lysol	Theer
Nach 1 Minute	> 100	> 25	> 500	> 1000	> 100	> 100
„ 5 Minuten	> 50	13	> 150	> 750	17	12
„ 10 „	10	0	> 150	> 500	9	0
„ 15 „	10	0	> 100	> 500	7	0
„ 15 „ (in Bouillon)	Entwick.	keine Ent.	—	—	Entwick.	—
Ohne Zusatz	> 2000	> 2000	> 2000	> 2000	> 1500	> 1000

III.

Nach dem Zusatze	1,8 ⁰⁰⁰ Sapo Medic. mit		
	Ol. Ment. piperit.		Ol. Cinnamon.
	3 ⁰⁰	6 ⁰⁰	3 ⁰⁰
Nach 1 Minute	> 250	> 100	> 100
„ 5 Minuten	22	> 75	12
„ 10 „	20	15	0
„ 15 „	17	10	0
„ 15 „ (in Bouillon)	—	—	keine Entwick.
Ohne Zusatz	> 2000	> 2000	> 2000

In der angewendeten Menge der Seifen tödten sonach nur die Creolin- und Theer- und die mit Zimmtöl versetzten Seifen in Wasser enthaltene Cholera bacillen innerhalb 15 Minuten, während bei den anderen, in der gleichen Zeit, nur eine Verminderung der Zahl, aber keine völlige Vernichtung erzielt wird.

Doch möchte ich eine Bemerkung hier nicht unterlassen. Wenn man nämlich die Zahlen dieser Tabellen mit den Ergebnissen der oben beschriebenen Versuche mit Sapo Medicatus

die doppelte Menge von Creolin beigelegt, welche bei dem Ueberimpfen von einer mit dem verdünnten Creolin behandelten, Cholera bacillen haltenden Flüssigkeit in die Nährgelatine übergebracht sein konnte; wurden z. B. 10 ccm einer Cholera bacillen haltenden Bouillon mit Creolin zu 1⁰⁰⁰ gemengt, um dann von hier aus mit 45 mg Platten zu machen, so waren in den 45 mg enthalten 0,045 mg Creolin. Controllbestimmungen zeigten nun, dass durch einen Zusatz von 0,09 mg Creolin zu 10 ccm Nährgelatine oder Löffler'scher Bouillon das Wachstum der Cholera bacillen nicht im Mindesten verhindert wurde.

allein vergleicht, so sieht man, dass die Beifügung von Desinfectionsmitteln nicht in allen Fällen eine Erhöhung der bacterientödtenden Eigenschaften der Seife nach sich zieht; im Gegentheil die Zufügung von Carbol- und Salicylsäure verringert die Wirkung des Sapo Medicatus. Bei näherer Ueberlegung war dies zu erwarten gewesen; denn durch den Zusatz von Salicyl- oder Carbolsäure zu einer Lösung von Sapo Medicatus musste ein Theil der Seife umgesetzt werden und salicylsaures, respective phenylsaures Natron und freie Fettsäure sich bilden. Diese Umsetzung muss natürlich die bacterientödtenden Eigenschaften der Lösung abschwächen, da hierdurch die Menge der Seife vermindert und die desinficirende Wirkung der Salicyl- resp. der Carbolsäure aufgehoben wird. Dass diese Umsetzung wirklich stattfindet, kann man leicht erkennen, wenn man zu einer Lösung von Sapo Medicatus eine genügende Menge von Salicylsäure bringt; es entstehen hierbei freie Fettsäuren, welche auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen, und welche in Aether aufgenommen werden können.

Da es eine käufliche Salicylseife (5%) gibt, habe ich auch diese auf ihre antibacteriellen Eigenschaften untersucht, um zu ermitteln, ob sie freie Salicylsäure enthält. Dies war zu erwarten, da man es, wie aus weiteren noch folgenden Experimenten hervorgeht, in der Herstellung sog. medicinischer Seifen sehr weit gebracht hat. Es sind nämlich in ihnen die meisten beigesetzten Arzneien oder Desinfectionsmittel unzersetzt vorhanden.

Ich fand nun bei einer Concentration von 1,8 ‰ der käuflichen Salicylseife (nach der Angabe mit einem Gehalt von 5% Salicylsäure):

IV.

Nach dem Zusatze	Käufl. Salicyl- seife 1,8 ‰
Nach 1 Minute . . .	> 500
„ 5 Minuten . . .	> 100
„ 10 „ . . .	> 100
„ 15 „ . . .	> 50
Ohne Zusatz . . .	> 1500

Die käufliche Seife wirkt also wohl besser als die, welche ich selbst hergestellt hatte, aber nicht besser als Sapo Medicatus in der gleichen Concentration.

Die übrigen dem Sapo Medicatus zugesetzten Stoffe, die bekanntlich auch Cholera-bacillen schnell zu tödten im Stande sind, sowie die ätherischen Oele ¹⁾, von welchen verschiedene zur Herstellung der kosmetischen Seifen benützt werden, hatten alle die Wirkung der Seife allein höchstens um ein Geringes erhöht. Dies hat allerdings nichts Befremdendes, wenn man bedenkt, welch' geringe Menge der Stoffe in der angewendeten Seifenmenge sich befand. So enthält eine Lösung einer 5 %igen kosmetischen oder antiparasitischen Seife, in einer Concentration von 1,8 ‰, nur 0,09 ‰ der zugesetzten Stoffe. Der Grenzwert der Wirkung der gebrauchten Antiseptica ist aber viel höher. R. Koch z. B. fand als Grenzwert für die Entwicklungshemmung von Cholera-bacillen bei Carbolsäure 1—400, bei Ol. Menth. pip. 1—2000. Der Grenzwert der die Bacillen tödtenden Quantität ist selbstverständlich noch höher; bei Creolin beträgt derselbe beispielsweise nach den Bestimmungen von Prof. Forster ²⁾ 0,92 pro mille. Man hat sich also nicht zu verwundern, dass jene minimalen Quantitäten der Stoffe, welche in der Seifenlösung vorhanden sind, entweder keine oder nur eine äusserst geringe Wirkung auf die Choleravibrionen ausüben.

Wie aus den Resultaten meiner Experimente hervorgeht, ist es also nicht möglich, weder mit den in der Praxis anwendbaren Mengen von reinen Seifen, noch mit den genannten zusammengesetzten Seifen die eventuell im Badewasser anwesenden Cholera-bacillen zu tödten; die Concentrationen, welche man dazu bedarf, sind viel zu stark; im Badewasser ist nach dem Bade 0,06 bis 0,16 ‰ Seife enthalten, aus den Versuchen aber geht hervor, dass man von den stärkst wirkenden Seifen, nämlich den Creolin-, Lysol-, Theer-, Zimmtöl- und Pfefferminzöl-Seifen, eine Concentration von 1,8 ‰ braucht, also das Zehnfache derjenigen Quantität, welche beim wirklichen Baden verbraucht wird.

1) Vergl. z. B. v. Ketel, Pharmaceutisch Weekblad, 1892, Nr. 20.

2) Pharmaceutisch Weekblad, 1889, Nr. 2 u. 1892, Nr. 31.

Indessen war noch an einen besonderen Umstand zu denken. Da nämlich in der Praxis wohl nie eine so grosse Menge Cholera bacillen im Wasser vorkommt, als ich bis jetzt mit den Seifenlösungen behandelt hatte, und da die Zahl der Bacterien zweifellos bei starken Verdünnungen die Menge der zu ihrer Tödtung nöthigen Desinfectionsmittel beeinflusst¹⁾, so habe ich auch Experimente mit einer geringeren Zahl Bacillen angestellt. Man konnte denken, dass es auf diese Art möglich wäre, die Concentration der Seifenlösung herabzusetzen. Auf den Controllplatten waren bis jetzt fast stets mehr als 2000 Colonien von Cholera bacillen zur Entwicklung gekommen; es waren sonach in 70 mg des Wassers mehr als 2000 Cholera bacillen vorhanden oder in 1 cem mehr als 28 500. Soviel Cholera bacillen sind aber in Wirklichkeit wohl kaum in einem natürlichen Wasser zu erwarten, und noch weniger also in einem filtrirten Wasser, um welches sich unsere Versuche drehten. Denn bekanntlich ist es bis jetzt nur in relativ wenigen Fällen und mit Hilfe besonderer, von der gewöhnlichen Plattencultur abweichender Methoden gelungen, die Gegenwart von Cholera bacillen in natürlichen Wässern nachzuweisen.

Um nun bei Versuchen mit einer geringeren Zahl der Cholera bacillen diese auf den Platten zur Entwicklung zu bringen und deren Menge festzustellen, musste ich natürlich eine grössere Quantität des angewendeten, mit Seifenlösung versetzten Wassers in Nährgelatine bringen, z. B. statt 2 Spiralen, wie in den vorhergehenden Experimenten, jetzt $\frac{1}{2}$ cem. Dies würde aber zur Folge haben, dass auch weit mehr der schon vorher im Wasser²⁾ vorhandenen Bacterien auf die Platten gebracht würden, und dies würde die Erkennung und Zählung der Cholera colonien und daher die Ausführung der Versuche erschweren; ich habe daher bei den weiteren Versuchen zunächst statt des gewöhn-

1) Zeitschrift für Hygiene, 1890, S. 405. Uebrigens hat hierauf schon Naegeli in seinen Vorlesungen über die niederen Pilze (München 1877) aufmerksam gemacht.

2) Das Wasser (Vechtwasser), welches ich in meinen Experimenten verwendete, enthält ungefähr 50—100 Bacterien pro Cubikcentimeter.

lichen Leitungswassers solches angewandt, das durch Kochen vorher sterilisirt worden war. Ich richtete nunmehr die Versuche folgendermassen ein: Eine Platinöse von einer etwa 20 Stunden alten Agarcultur von Cholerabacillen vertheilte ich durch Verreiben in 8 ccm Verdünnungsflüssigkeit; 1 Spirale (35 mg) dieser Flüssigkeit brachte ich in 500 ccm sterilisirten und auf 33° C. erwärmten Wassers. Nach gehörigem Umschütteln brachte ich $\frac{1}{2}$ ccm dieses Wassers mittelst einer sterilisirten Pipette in Nährgelatine und goss diese zur Platte aus, die als Controllplatte zu dienen hatte. Alsdann wurde soviel der 10%igen Seifenlösung in das Wasser gebracht, dass die Lösung diejenige Concentration erhielt, deren Wirkung ich eben prüfen wollte. Unmittelbar darauf wurde nun eine Platte angefertigt mit $\frac{1}{2}$ ccm des mit der Seifenlösung versetzten, cholerabacillenhaltigen Wassers, 5 Minuten später wieder eine und ebenso nach 10 und 15 Minuten. Nachdem die letzte Platte gemacht worden war, brachte ich noch $\frac{1}{2}$ ccm des behandelten Wassers in 10 ccm Löffler'scher Bouillon, welche nachher in den Brutschrank gestellt wurde. Letzteres that ich, um zu erfahren, ob hierbei noch Cholerabacillen zur Entwicklung zu bringen wären, wenn etwa das Plattenverfahren im Stich liesse. Behring¹⁾ gibt bekanntlich an, dass Desinfectionsversuche, welche mit pathogenen Mikroorganismen angestellt werden, mittelst Bouillonproben ausgeführt werden müssen, da er gefunden hat, dass mitunter, wenn das Plattenverfahren ein negatives Resultat gibt, in der Bouillon noch Bakterien zur Entwicklung kommen können. Er erklärt dies mit der Annahme, dass die Bouillonculturen bei einer den Lebensbedingungen der pathogenen Bakterien besser entsprechenden Temperatur angestellt werden können. Bei den Cholerabakterien ist dies jedoch nach den Erfahrungen von Prof. Forster nicht der Fall, wenn man nur zur Anfertigung der Platten eine 10%ige Nährgelatine anwendet, die bei der Bereitung im Ganzen nicht länger als 40 Minuten bis zur Kochtemperatur des Wassers erhitzt worden ist, und welche deshalb auf der Platte

1) a. a. O.

leicht bei 24° C. gehalten werden kann, ohne dass man Gefahr läuft, dass sie weich wird oder zerfließt¹⁾. Bei dieser Temperatur aber entwickeln sich einzelne in die Nährgelatine übergeimpfte Cholerabacillen mindestens ebenso gut, als in der Löffler'schen Bouillon bei Körpertemperatur. Auch ich habe bei meinen Versuchen stets gefunden, dass, wenn die letzte Platte keine Choleracolonien mehr enthielt, auch die Bouillon klar, also cholerabacillenfrei blieb.

Bei diesen Versuchen konnte ich, anders wie früher, die Controlplatte unmittelbar anfertigen, nachdem die Choleravibrien dem Wasser zugesetzt worden waren; ich brauchte damit nicht, wie bei meinen vorhergehenden Versuchen, so lange zu warten, wie das Experiment mit dem Seifenzusatze dauerte, da in dem sterilisirten Wasser nicht wie in dem frischen Leitungswasser eine Abnahme der Cholerabacillen stattfindet.

Die Resultate bei einer Seifenlösung von 1,8‰ waren folgende (die Zahlen in den folgenden Tabellen geben die Anzahl Cholerabacillen an, welche sich in 1/2 ccm des Wassers vorfinden):

V.

Nach dem Zusatze	Sapo Medicat. 1,8‰	Sapo Medicat. 1,8‰ mit 5%	
		Creolin	Lysol
Nach 1 Minute	> 50	> 50	> 75
" 5 Minuten	0	6	6
" 10 "	0	0	3
" 15 "	0	0	1
" 15 " (in Bouillon)	keine Entwick.	keine Entwick.	Entwicklung
Ohne Zusatz	> 250	> 250	> 250

Da auch das Ergebnis dieser Versuchsreihe nicht derart war, dass ich erwarten konnte, für die Praxis brauchbare Resultate

1) Ein solches in unserem Laboratorium übliches Verfahren für die Bereitung der Nährgelatine wurde mit Rücksicht auf die Bedürfnisse der indischen Militärärzte angewendet, die vielfach in der Bacteriologischen Abtheilung des Amsterdamer hygienischen Institutes thätig sind. Vergl. übrigens auch Straub, Nederlandsch Tijdschrift voor Geneeskunde, 1892, II, p. 514.

zu erlangen, wiederholte ich diese Versuche weiter nicht mehr bei schwächeren Concentrationen.

Mit Sapo Medicatus in einer Verdünnung von 1,8 ‰ habe ich noch folgenden Versuch ausgeführt. In zwei Kolben, jeder mit 500 ccm Wasser, brachte ich 2 Spiralen einer Verdünnungsflüssigkeit, in welcher 2 Platinösen einer Agarcultur von Cholera-bacillen vertheilt worden waren. Von beiden fertigte ich mit 2 Spiralen (= 70 mg) Platten an und liess nun den einen Kolben 2 Stunden, den anderen 4 Stunden bei Zimmertemperatur stehen. Nach dieser Zeit erwärmte ich sie auf 33° C., fügte soviel einer 10%igen Sapo Medicatus-Lösung hinzu, dass das Wasser einen Gehalt von 1,8 ‰ Seife erhielt, und machte nun erst die Platten in der gleichen Weise wie in den vorhergehenden Reihen, ebenfalls mit 2 Spiralen (= 70 mg) des mit Seife versetzten Wassers. Die Controllplatten wurden angelegt, bevor ich die Seifenlösung hinzusetzte.

Dieses Experiment wurde noch ausgeführt, um zu erfahren, ob eine schädigende Wirkung, welche das Verbleiben in gewöhnlichem Wasser auf Cholera-bacillen ausübt, vielleicht einen verstärkenden Einfluss auf die Wirkung der Seife hätte. Dass eine Abschwächung und Verminderung der Anzahl von Cholera-bacillen im Wasser stattfindet, haben bekanntlich schon verschiedene Autoren erfahren. Ueber das Verhalten von Cholera-bacillen, die dem Vechtleitungswasser zugesetzt werden, hat im Auftrage von Prof. Forster Herr van Hest, Assistent am hygienischen Institut dahier, wie bereits erwähnt, einige Versuche angestellt, deren Resultate er mir freundlichst zur Verfügung überliess. Es zeigte sich hierbei, dass die in das Wasser der »Vechtwaterleiding« gebrachten Choleravibrionen innerhalb kurzer Zeit stark an Menge abnehmen, sodass in einem seiner Versuche schon nach 30 Minuten keine Bacillen mehr aufzufinden waren¹⁾;

1) Dies ist für die Beurtheilung der praktischen Verhältnisse nicht ganz unwichtig, weil beim Maximum-Stundenverbrauch die Zeit, in welcher ein Wassertheilchen von den in der Nähe der Vecht gelegenen Filterwerken nach Amsterdam gelangt, immer noch 1 Stunde für das Filtriren und 3 Stunden für die Strömung in der Zuleitungsröhre nach Amsterdam beträgt.

die längste Zeit, nach welcher noch Cholerabacillen selbst nach sehr reichlichem Zusatze derselben zum Vechtwasser (bei Temperaturen von 16 bis 20° C.) gefunden werden konnten, war zwischen 29 und 47 Stunden. Man kann also annehmen, dass in seinen Versuchen längstens nach 2×24 Stunden alle in das Wasser gebrachten Cholerabacillen getödtet waren.

Ich meinte nun von dieser in unserem Wasser stattfindenden Abschwächung Gebrauch machen zu können. Wenn Cholerabacillen im Badewasser der Wohnungen, die mit der Vechtwasserleitung verbunden sind, vorkommen sollten, so müssten sie schon einige Zeit, mindestens stundenlang, im Wasser anwesend gewesen sein; denn der Weg, den das Wasser von der Vecht aus erst nach den Filteranlagen, dann durch die Filter und endlich in der Leitung nach Amsterdam zurückzulegen hat, beträgt mehr als 20 Kilometer; eine Beimengung von Cholerabacterien zum Wasser innerhalb der Leitung ist aber ausgeschlossen. Die Schädigung, welche die Bacillen somit schon erlitten haben — so könnte man vermuthen —, würde zur Folge haben, dass der Concentrationsgrad eines Desinfectionsmittels, der zu ihrer Tödtung nöthig ist, erniedrigt würde.

Die Resultate dieser Versuchsreihe waren nun:

VIa.		VIb.	
Nach dem Zusatze	Sapo Medic. 1,8‰	Nach dem Zusatze	Sapo Medic. 1,8‰
Nach 1 Minute . . .	> 500	Nach 1 Minute . . .	> 250
„ 5 Minuten . . .	> 75	„ 5 Minuten . . .	> 50
„ 10 „ . . .	> 50	„ 10 „ . . .	14
„ 15 „ . . .	> 25	„ 15 „ . . .	9
„ 15 „ (in Bouillon)	Entwicklung	„ 15 „ (in Bouillon)	Entwicklung
Ohne Zusatz:		Ohne Zusatz:	
Sofort	> 2000	Sofort	> 2000
Nach 2 Stunden . . .	> 1000	Nach 4 Stunden . . .	> 500

Die Resultate waren also nicht befriedigend; wohl hatte ich nach 2 und 4 Stunden weit weniger Bacillen auf den Platten, die Wirkung der Seife aber wurde nur sehr wenig verstärkt.

Ich meine, dass dies mit der relativ grossen Zahl von Bacillen zusammenhängt, welche das Wasser noch enthielt, als ich die Seifenlösung zufügte. In dem ersten Falle waren mehr als 1000, in dem zweiten mehr als 500 Cholerabacillen in 70 mg Wasser, also in den 500 ccm mehr als 2130000, resp. 1650000. Vergleicht man diese Zahlen mit denjenigen, welche ich in dem Versuche mit der geringeren Quantität Bacillen gewonnen hatte, so findet man, dass hier ungefähr 20 resp. 10 Mal mehr Bacillen im Wasser waren, bevor die Seife zugesetzt worden war. Dies erklärt auch, weshalb im vorhergehenden Versuche schon nach 15 Minuten alle Bacillen abgetötet waren, während in diesem noch nach einer Viertelstunde vereinzelte Bacillen aufzufinden waren.

Also auch durch diese Aenderungen in den Versuchen war die Concentration der Seifenlösungen nicht dermaassen zu verringern, dass sie für die Praxis anwendbar würden.

III. Wirkung von Sublimatseife und Sublimat.

Die Hoffnung, dass die Seife allein oder die bisher genannten kosmetischen oder antiparasitischen Seifen unserem Zwecke entsprechen könnten, war nach den obigen Versuchen hinfällig. Ganz andere Resultate jedoch, als die bisher besprochenen Versuche, ergab die Anwendung der Sublimatseife, deren bacterientödtende Eigenschaften bekanntlich da, wo es sich um die Desinfection der Haut und der Hände u. s. w. handelte, schon öfter mit Erfolg geprüft worden sind. Schon bei den ersten Versuchen zeichnete sich die käufliche Sublimatseife, die 1% Sublimat enthält, durch ihre äusserst starke Wirkung aus: sie tödtete, wie unten zu sehen, in einer sehr geringen Concentration, schon bei 1,2‰ unmittelbar alle in Wasser anwesenden Cholerabacillen. Befremdend ist dies nicht, wenn man sich vergegenwärtigt, dass die Lösung dieser Seife in der oben genannten Concentration immer noch 0,012‰ Sublimat enthält, was einer Lösung von 1—63 333 entspricht. Hünemann¹⁾ giebt an, dass Cholera-

1) Vergl. Behring, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IX, S. 401.

bacillen schon bei einer Lösung von 1—100 000 Sublimat innerhalb einer Stunde abgetödtet werden, wenn die Lösung in Bouillon gemacht wird, und Behring¹⁾ sagt: »Bacillen, die in Wasser vertheilt sind, werden z. B. schon in wenigen Minuten durch ein Sublimatgehalt von 1—500 000 sicher getödtet, während man dazu in Bouillon eine Lösung von 1—40 000 bedarf, und ein Sublimatgehalt von 1—2000 in Blutserum noch nicht immer dazu ausreicht.« Hieraus würde folgen, dass ein Sublimatgehalt von 1—1250 000 schon ausreiche, die Cholerabacillen in Wasser zu tödten; denn die Wirkung des Sublimats ist nach Behring in Wasser 12,5 mal so stark wie in Bouillon. Indessen, wie man aus den von uns angestellten Versuchen erkennen kann, ist ein noch viel geringerer Sublimatgehalt schon im Stande, die in Wasser vertheilten Cholerabacillen innerhalb 15 Minuten zu vernichten.

Die ersten Versuche nun, die durch uns mit der käuflichen Sublimatseife²⁾, die 1% Sublimat enthält, angestellt wurden, ergaben die nachstehend zusammengestellten Resultate:

I.

Nach dem Zusatze	Sublimatseife 1%	
	2,4 ‰	1,2 ‰
Nach 1 Minute	0	0
» 5 Minuten	0	0
» 10 »	0	0
» 15 »	0	0
» 15 » (in Bouillon)	keine Entwick.	keine Entwick.
Ohne Zusatz	> 2000	> 2000

Die Sublimatseife tödtet sonach in den oben genannten Verdünnungen schon unmittelbar die Cholerabacillen, die in Wasser anwesend sind. Diese Ergebnisse ermunterten selbstverständlich, noch stärkere Verdünnungen anzuwenden und speciell den niedersten Grenzwert aufzusuchen, bei dem ein Sublimatseifezusatz

1) Behring, Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IX, S. 399.

2) Bei einfachen Mengen des Sublimats mit Sapo Medicat. wird ersteres zersetzt und unwirksam.

zu Wasser, das Cholerabakterien enthält, diese noch innerhalb der Zeit, die ein Bad in Anspruch nimmt, vernichtet. Ein Vergleich der Versuche mit Sapo Medicat. u. s. w. und Sublimatseife lässt nun erkennen, dass die beobachtete Wirkung der letzteren wesentlich dem Sublimatgehalte zuzuschreiben ist. Es erschien uns daher zweckmässig, für die Feststellung der Wirkungsgrenze nächst der Seife auch das Sublimat selbst anzuwenden. Mit Rücksicht auf den Zweck der Untersuchungen wurden dem Wasser auch nicht allzu grosse Mengen von Cholerabacillen zugesetzt; während sonst die Versuche in der gleichen Weise wie früher angeordnet waren, wurde zunächst statt des frischen Vechtleitungswassers, sterilisiertes Wasser gebraucht, und hiervon $\frac{1}{2}$ ccm zur Anlegung der Platten verwendet. Ich erhielt dabei folgende Resultate:

II.

Nach dem Zusatze	Sublimatseife (mit 1% Sublimat)				
	0,24‰ = 1:± 4000	0,12‰ = 1:± 8000	0,06‰ = 1:± 16 000	0,03‰ = 1:± 33 000	0,006‰ = 1:± 160 000
Nach 1 Minute	0	> 100	> 750	> 1000	> 750
» 5 Minuten	0	0	> 50	> 500	> 500
» 10 „	0	0	0	0	> 50
» 15 „	0	0	0	0	3
» 15 „ (in Bouillon)	keine Entw.	keine Entw.	keine Entw.	keine Entw.	Entwickel.
Ohne Zusatz	> 1000	> 1000	> 1000	> 1000	> 750

III.

Nach dem Zusatze	Sublimat in der Concentration von				
	0,0024‰ = 1:± 400 000	0,0012‰ = 1:± 800 000	0,0006‰ = 1:± 1600 000	0,0003‰ = 1:± 3000 000	0,00003‰ = 1:± 30 000 000
Nach 1 Minute	0	0	20	> 250	> 250
» 5 Minuten	0	0	0	0	2
» 10 „	0	0	0	0	0
» 15 „	0	0	0	0	0
» 15 „ (i. Bouill.)	keine Entw.	keine Entw.	keine Entw.	keine Entw.	keine Entw.
Ohne Zusatz	> 1000	> 1000	> 750	> 1000	> 750

Aus den Tabellen geht hervor, dass das Sublimat eine ganz ausserordentlich starke Wirkung auf die in reinem Wasser enthaltenen Cholerabakterien ausübt: eine Lösung von 0,00003 ‰, also 1 : $\pm$ 30 000 000, ist schon ausreichend um sie zu tödten. Auf den ersten Blick erscheint dies erstaunlich; allein wenn man berechnet, wieviel Sublimat, das in der so stark verdünnten Lösung enthalten ist, auf jede einzelne der 1000 Bacillen kommt, die in je $\frac{1}{2}$ ccm Wasser eingebracht wurden, so begreift man, dass die erhaltenen Resultate nicht so unglaublich sind. Nimmt man an, dass eine in der Agarcultur gewachsene Cholerabacille 1 Mikron lang, 0,1 Mikron dick und 0,1 Mikron breit ist, so beträgt das Volum einer Cholerabacille 0,01 Cubikmikron. 1 cmm = 1 000 000 000 Cubikmikron; also kann 1 cmm 100 000 000 000 = 100 Milliarden Cholerabacillen enthalten. Nimmt man weiter an, dass das spec. Gew. der Choleravibrionen dem des Blutes gleichkommt, also ungefähr 1050 ist, so würden die 100 Milliarden Bacillen 1,05 mg wiegen, also 2000 Bacillen 0,000 000 021 mg. Diese 2000 Bacillen befinden sich in 1 ccm, in denen 0,00003 mg Sublimat enthalten sind; jeder Bacillus kann also immer noch 1426 Mal seines eigenen Gewichtes an Sublimat in der Lösung für sich finden. Diese Berechnung lässt erkennen, dass solche minimale Quantitäten von Sublimat, wie in einer Lösung von 1—30 000 000, also von 1 g auf 30 000 kg Wasser, wohl noch im Stande sind, eine so starke Wirkung auf die Cholerabacillen auszuüben.

Vergleicht man die beiden vorstehenden Tabellen mit einander, dann sieht man, dass das Sublimat allein eine viel stärkere Wirkung ausübt als die Sublimatseife mit einem der gleichen Verdünnung entsprechenden Sublimatgehalte. Die Sublimatseifenlösung von 0,24 ‰ z. B. entspricht, da die Seife 1 ‰ Sublimat hält, einem Sublimatgehalt von 0,0024 ‰. Die geringere antibacterielle Wirkung der Seife ist in verschiedener Weise zu erklären. Einmal enthält die Seife sicherlich nicht genau 1 ‰ Sublimat; sodann ist es nicht unwahrscheinlich, dass trotz der eigenthümlichen Herstellung der auf die Dauer wirksam bleibenden Sublimatseife ein Theil des hinzugesetzten Sublimats chemisch

umgesetzt und dadurch ausser Function gestellt wurde; endlich ist denkbar, dass, ähnlich wie wir bei der Salicyl- und Carbolsäure erfahren haben, ein Theil des Sublimates umgesetzt wird, sobald die Seife in Lösung gebracht wird. Soviel uns bekannt ist, wird die Herstellung einer guten, haltbaren Sublimatseife als ein Fabriksgeheimnis betrachtet. Diejenige, mit welcher ich experimentirte, ist nach den obigen Versuchen jedenfalls gut zubereitet gewesen; sie enthielt, wenn auch vielleicht nicht den vollen angegebenen Sublimatgehalt, doch so viel freies Sublimat, dass die desinficirende Wirkung der Seife durch den Zusatz in hohem Maasse verstärkt worden ist.

Man könnte daran denken, dass das Ausbleiben einer Entwicklung der Cholera bacillen in meinen Versuchen davon abhängig gewesen wäre, dass eine zu grosse Quantität Sublimat bei der Ueberführung des Wassers in die Gelatine der Platten gebracht wurde. Wie ich oben schon angeführt habe, haben wir uns davon überzeugt, dass ein derartiger Einfluss bei unseren Seifen-Versuchen nicht wirksam war. Dass Aehnliches auch bei den Sublimatversuchen nicht der Fall war, habe ich, wie in Prof. Forster's Laboratorium bei Desinfections-Versuchen üblich ist, folgendermaassen nachgewiesen. Die stärkste Sublimatlösung, womit ich experimentirte, war 0,0024 ‰. Jeder $\frac{1}{2}$ ccm dieser Lösung, die Menge also, welche ich zur Anlegung der Platten verwendete, enthielt sonach 0,0012 mg. Das Zehnfache dieser Quantität, 0,012 mg, nämlich 1,2 ccm einer 0,01 ‰ Sublimatlösung brachte ich in 10 ccm Nährgelatine, unmittelbar nachdem diese mit einer Spirale aus 500 ccm Wasser geimpft worden war, in welchem ungefähr so viel Cholera bacillen vertheilt waren als in den vorhergehenden Versuchen, und goss dann die Gelatine zur Platte aus. Nach 2×24 Stunden schon hatten sich auf dieser Platte mehr als 750 Cholera colonien entwickelt; es hatte also keinerlei Abtödtung oder Entwicklungshemmung bei einem Sublimatgehalte der Nährgelatine von 1—833 000 stattgefunden. Dies zeigt, dass die kleine, bei den Versuchen mit in die Nährgelatine übergeimpfte Menge von Sublimat nicht die Schuld des Ausbleibens einer Entwicklung von Cholera bacterien in den obigen Versuchen war, sondern dass

dies in der That die Wirkung des Sublimatzusatzes zu dem vibrienhaltigen Wasser war, wodurch letztere getödtet wurden. Allein diese Erfahrung weist auch noch darauf, dass die antibacterielle Wirkung des Sublimats sehr stark durch die chemischen Eigenschaften des Desinfectionsobjects beeinflusst wird. Ich werde später hierauf noch zurückkommen.

Aus den vorstehenden Untersuchungen geht sonach hervor, dass in jenen geringen Mengen, in denen Seife beim Baden gebraucht wird, nur die Anwendung der Sublimatseife es möglich macht, in Wasser anwesende Cholera bacillen innerhalb der Badezeit zu tödten. Der Seifenverbrauch bei den üblichen Wannenbädern beträgt etwa 0,06—0,16 ‰ des angewendeten Wassers, während die Sublimatseife von 0,03 ‰ an schon genügt, die Cholera bacillen innerhalb 10 Minuten in relativ reinem Wasser zu vernichten.

Inzwischen kann man aus den Versuchen in Kolben und mit relativ geringen Mengen Wassers noch nicht mit Sicherheit ableiten, dass die Cholera bacterien auch wirklich während des Badens durch den Zusatz einer geringen Menge von Sublimat oder Sublimatseife getödtet werden. Es wäre immerhin mit Rücksicht auf die Erfahrungen über die Zersetzung des Sublimats denkbar, dass das Sublimat durch die von der Körperoberfläche ins Wasser gebrachten Stoffe, wie Schweiß, Epidermis u. s. w., sofort unwirksam gemacht würde. Ich unterliess es daher nicht, zur Entscheidung der vorliegenden Frage besondere Versuche auszuführen. Dies geschah in der Weise, dass ich dem in eine Badewanne gefüllten Vechtleitungswasser Cholera bacillen zusetzte und in diesem, die Bacillen haltenden Wasser ein Bad nahm, während sodann entweder Sublimat zugesetzt oder Sublimatseife zum Waschen während des Badens gebraucht wurde.

In einem Wannenbade von 150 l Wasser, welches auf 33° C. erwärmt worden war, vertheilte ich 8 ccm sterilisirte 0,75 ‰ ige Kochsalzlösung, in welche 3 Platinösen von einer 20 Stunden alten Agarcultur von Cholera bacillen gebracht worden waren. Nach gehörigem Durcheinanderrühren des Wassers ging ich in die Wanne und mischte nun durch Bewegungen meines Körpers

das Wasser noch einmal recht gehörig durch. Nun wurde durch einen Assistenten mittelst 2 Spiralen (jede von 35 mg) vom Badewasser eine Gelatineplattencultur gemacht. Ich wusch sodann meinen Körper mit Sublimatseife, dabei trachtend, nicht mehr dafür zu gebrauchen, als ich sonst beim Baden verwendete. Während ich so im Bade war, wurden nach je 5 Minuten dem Wasser 2 Spiralen entnommen, und damit eine Culturplatte angefertigt. Die letzte Platte wurde 20 Minuten, nachdem ich mit Waschen angefangen hatte, angelegt, und wurden hierzu statt 2 Spiralen $\frac{1}{2}$ ccm des Wassers verwandt.

Der Badeversuch dauerte etwas länger als die vorhergehenden Versuche. Dies war mit Rücksicht darauf der Fall, dass, als die vierte Platte angelegt wurde, noch nicht die ganze Quantität Seife 15 Minuten lang dem Wasser beigemischt war; denn ich brauchte natürlich eine gewisse Zeit, um meinen Körper mit der Seife einzureiben und diese dann durch Bewegungen im Wasser zu verteilen. Zu der Lösung und zu dem Verbräuche der Sublimatseife beim Waschen rechnete ich 5 Minuten Zeit, und so wurde eine fünfte Platte, 20 Minuten nach Anfang des Bades, angefertigt, wodurch hier die Verhältnisse gleich denen der früheren Versuche wurden. Die Wägung der Seife vor und nach dem Bade ergab, dass ich bei diesem Versuche 22 g Seife auf 150 l Badewasser gebraucht hatte, was einer Lösung von 0,146 ‰ Sublimatseife entspricht.

Nach 2 mal 24 Stunden waren auf allen Platten ziemlich viele Colonien zu sehen, aber noch zu wenig entwickelt, um unter ihnen Cholera-colonien zu erkennen. Ein Klatschpräparat, das von der ersten Platte angefertigt wurde, erwies, dass die meisten der Colonien aus Coccen bestanden. Nach 3 mal 24 Stunden konnte ich auf der ersten verschiedene, und auch auf der zweiten und dritten Platte noch einige die Gelatine verflüssigende Colonien erkennen; Ausstrichpräparate davon enthielten gekrümmte Bacillen, und Stiche in Gelatine zeigten nach 2 mal 24 Stunden das charakteristische Bild der Sticheultur von Cholera-bacillen. Auf der vierten und fünften Platte konnte ich keine gekrümmten Stäbchen mehr mikroskopisch finden; in allen

Klatsch- und Ausstrichpräparaten, welche ich von diesen Platten anfertigte, fand ich nur Coccen und kurze dicke Bacillen. Jede Colonie, welche auch nur einigermaassen denen der Cholera-bacillen glich, habe ich mikroskopisch untersucht, aber keine einzige enthielt Kommabacillen. Nach 4 mal 24 Stunden zählte ich auf der ersten Platte 53 Cholera-colonien, auf der zweiten 40, auf der dritten 4, während auf den beiden letzten Platten keine einzige Cholera-colonie zu sehen war. Die Colonien hatten sich inzwischen so stark entwickelt, dass sie schon makroskopisch als diejenigen von Cholera-bacillen zu erkennen waren. Nach 6 mal 24 Stunden waren auf der ersten Platte 53, auf der zweiten 40, auf der dritten 10 und auf der vierten und fünften Platte keine einzige Cholera-colonie vorhanden.

Aus diesem Versuche ergibt sich also, dass alle Cholera-bacillen innerhalb 10 bis 15 Minuten durch die Wirkung der Sublimatseife abgetödtet waren, während im Anfang des Experiments in 70 mg des Wassers 53 Cholera-vibrien, also in den 150 l Badewasser 113550000 Cholera-bacillen vorhanden waren.

Vergleicht man dieses Experiment mit den vorhergehenden, so stellt sich heraus, dass die Sublimatseife beim Baden durchaus nicht so stark wirkt, als in den, in den Kolben angefertigten Lösungen. Oben hatte sich gezeigt, dass eine Lösung von 0,03 ‰ im Stande ist, die Cholera-bacillen innerhalb 10 Minuten zu tödten, beim Baden dagegen waren nach 10 Minuten immer noch vereinzelte Bacillen vorhanden, während die Seifenlösung hier 0,146 ‰ war. Dies erklärt sich dadurch, dass erstens die Zeit, während welcher die Seife beim Bade eingewirkt hatte, aus dem oben angegebenen Grunde kürzer war als bei den Versuchen im Kleinen, und dass zweitens, wie ich schon hervorgehoben habe, und unten noch weiter besprochen werden soll, ein Theil des Sublimats im Badewasser umgesetzt und ausser Function gesetzt worden war. Zu der Zeit, als die zweite Platte angelegt wurde, befand ich mich wohl 10 Minuten im Bade, aber die Seife hatte nun noch keineswegs 10 Minuten lang in der vollen Concentration eingewirkt.

Es ist also nach dem Ergebnisse dieses Versuches in der Praxis wohl möglich, die im Badewasser eventuell vorhandenen Cholerabacillen mittelst Sublimatseife innerhalb der Zeit, welche gewöhnlich für ein Bad gebraucht wird, zu tödten. Besser würde es natürlich sein, wenn es möglich wäre, die Bacillen zu vernichten, bevor das Bad genommen wird, so dass also der Badende sich in einem jedenfalls von lebenden Cholerabacillen freien Wasser baden könnte. Das konnte nach den guten Resultaten, welche ich mit Sublimat erhalten hatte, wohl erwartet werden. Aus der oben mitgetheilten Tabelle geht hervor, dass eine Sublimatlösung von 0,00003 ‰ zahlreiche Cholerabacillen innerhalb 10 Minuten zu tödten vermag. Sollte also mittelst Sublimat ein Bad von 150 l Wasser innerhalb einiger Minuten von Cholerabacillen befreit werden, so müssten 4,5 mg Sublimat dem Wasser zugesetzt werden. Ich machte daher folgenden Versuch:

In die Badewanne mit 150 l Wasser von 30° C. brachte ich 8 ccm einer 0,75 ‰igen Kochsalzlösung, in welcher 8 Platinösen von einer 20 Stunden alten Choleracultur gut vertheilt worden waren. Es ist dies sonach eine grosse Menge von Cholerabacillen, beinahe 3 Mal mehr als die, welche im vorigen Bade gebraucht wurde. Nach gehörigem Umrühren des Wassers wurde mittelst zwei Spiralen eine Culturplatte angelegt, welche als Controllplatte diente. Jetzt wurden dem Wasser 5 ccm einer 1 ‰ Sublimatlösung, also 5 mg Sublimat, zugesetzt, und zu gleicher Zeit fing ich an mich zu entkleiden. Als ich 4 Minuten später mich ins Bad begab, wurde wieder eine Platte angefertigt. Ich wusch mich alsdann mit Sublimatseife, während weiterhin nach je 5 Minuten zwei Spiralen zur Anfertigung einer Plattencultur von dem Wasser weggenommen wurden. Das Bad dauerte 15 Minuten; also wurden im Ganzen 5 Platten gemacht.

Am Ende des Bades brachte ich 250 ccm des Badewassers in 250 ccm einer 2 ‰igen Peptonlösung, um nachzusehen, ob auf diese, durch R. Koch jüngst angegebene Weise vielleicht noch Cholerabacillen aufzufinden wären. Diese Flüssigkeit wurde nachher auf 37° C. gebracht und später auf die Anwesenheit von

Choleravibrionen geprüft. Mikroskopische Präparate, die von der Oberfläche angefertigt wurden, enthielten keine gekrümmten Bacillen; da dies aber noch nicht als sicherer Beweis für das Nichtvorhandensein derselben gelten durfte, so legte ich ausserdem noch Platten an. Eine Platinöse voll von der Oberfläche der Culturflüssigkeit brachte ich in Nährgelatine und machte hiervon noch mittelst einer Spirale drei Verdünnungen. Nachdem diese Platten 24 Stunden auf 24° C. gehalten waren, waren die ersten zwei ganz verflüssigt, auf der dritten waren einige die Gelatine stark verflüssigende Colonien vorhanden, die vierte war steril. In verschiedenen mikroskopischen Präparaten von den ersten drei Platten konnten keine Cholerabacillen gefunden werden. Nach 2 mal 24 Stunden war auch die dritte Verdünnung ganz verflüssigt, während auch in dieser verflüssigten Masse mikroskopisch keine Kommabacillen zu entdecken waren. Die vierte Platte enthielt eine die Gelatine nicht verflüssigende Colonie.

Auf den fünf Platten des Badewassers waren nach 2 mal 24 Stunden ziemlich viele Colonien zu sehen. Auf der Controlplatte waren 150 Choleracolonien vorhanden, wie mikroskopische Präparate zeigten. Auf der zweiten Platte waren im Ganzen ungefähr 100 Colonien, keine einzige aber enthielt Cholerabacillen; alle Colonien, welche nur einigermaassen denen von Cholerabacillen ähnelten, habe ich durch Ausstrichpräparate mikroskopisch geprüft. Die dritte Platte enthielt ungefähr 2000 Colonien, ebenso die vierte und fünfte. Auch auf diesen Platten war ich nicht im Stande, trotz aller aufgewendeten Mühe Kommabacillen nachzuweisen. Jeden folgenden Tag habe ich die Platten auf das Vorhandensein von Choleracolonien genau untersucht, habe aber durchaus keine finden können; nach 5 mal 24 Stunden begannen die Platten dermaassen zu verflüssigen, dass sie länger aufzubewahren nutzlos war.

Die starke Vermehrung der Anzahl von Bakterien auf der 3. Platte gegenüber der auf der 2. ist begreiflicherweise davon abhängig, dass die an der Haut stets anwesenden Mikroorganismen durch das Reiben beim Einseifen ins Wasser gebracht wurden. Auffallend ist dabei nur, dass fast nur Coccen bei der mikro-

skopischen Untersuchung zahlreicher Colonien auf der Platte gefunden wurden. Ob hieraus zu schliessen ist, dass sich auf der Körperoberfläche unter der Kleidung mehr Coccen ansammeln können als Bacillen, oder ob letztere leichter unter dem Einflusse der Sublimatwirkung zu Grunde gegangen sind als Coccen, wage ich nicht zu entscheiden, sondern muss dies weiteren Untersuchungen überlassen, welche im hiesigen hygienischen Institute ausgeführt werden.

Die ins Badewasser gebrachten Cholerabacillen, in einer Zahl von 150 pro 70 mg oder 320 Millionen im ganzen Bade, waren also, wie sich aus dem angewendeten Verfahren ergibt, schon in der Zeit, welche ich zum Entkleiden brauchte, durch den Zusatz von 5 mg Sublimat getödtet.

Hiermit war also gefunden, was gesucht worden: das Mittel, die eventuell im Badewasser vorhandenen Cholerabacillen zu tödten, noch bevor das Wasser zum Baden gebraucht wird. Dieses Mittel ist auch in der Praxis anwendbar; denn Sublimatpastillen à 5 mg, welche in den Apotheken gleich den käuflichen Angerer'schen Sublimatpastillen herzustellen sind, können leicht in die Wanne, während des Einfließens von Wasser, gethan werden, ehe man sich entkleidet. Dadurch werden Cholerabacillen, wenn sie in dem Wasser enthalten wären, getödtet, schon bevor man sich ins Wasser begibt. Will man ganz sicher gehen, so kann man sich während des Badens noch mit einer 1 % igen Sublimatseife waschen.

Dass das Sublimat ein Gift ist, steht seiner Anwendbarkeit in diesem Falle nicht im Wege. Würde man selbst während des Badens Wasser verschlucken, so wäre die darin vorhandene Quantität Sublimat viel zu gering, um giftig wirken zu können. Nimmt man an, dass zu einem Bade mit 150 l Wasser 24 g einer 1 % igen Sublimatseife verwendet würden — die grösste Quantität Seife, welche nach unseren Beobachtungen gebraucht wurde —, und dass zuvor dem Badewasser 5 mg Sublimat zugesetzt worden wären, so würde das Wasser im Ganzen 29 mg Sublimat, wenn nichts davon zersetzt oder gebunden worden wäre, enthalten, der Liter also 0,19 mg, dies ist $\frac{1}{200}$ der officinellen

Maximaldosis Sublimat, die nach der niederländischen Pharmakopoe, auf einmal gegeben werden darf. Man wird jedoch kaum annehmen können, dass je einmal ein Liter Wasser während des Bades verschluckt würde.

Uebersehen wir die Ergebnisse der sämtlichen in meiner Mittheilung beschriebenen Versuche, so zeigt sich zunächst, dass schon die gewöhnlichen Seifensorten das Leben der Cholerabacillen, wenn diese sich in Wasser befinden, in relativ geringen Concentrationen schädigen. Ein Zusatz von 1,8 ‰ Seife bewirkt in kurzer Zeit schon eine starke Verminderung der Zahl von Cholerabacillen, die in Wasser gebracht worden sind, und nach einer Viertelstunde selbst eine Abtödtung derselben, wenn die Menge der Cholerabacillen nicht zu gross ist. Die Beifügung von desinficirenden Stoffen zu den Seifen erhöht in einigen Fällen deren Wirkung; in anderen dagegen, dann nämlich, wenn der Zusatz eine Bindung der Seifenbestandtheile und des Desinfectionsmittels zur Folge hat, wird die Wirkung, wie übrigens zu erwarten war, verringert. Obenan in der Wirkung steht in der Reihe der desinficirenden Seifen die Sublimatseife: sie tödtet in einer Verdünnung von 0,03 ‰ schon innerhalb 10 Minuten die Cholerabacillen in Wasser, während eine Verdünnung derselben von 0,06 ‰ im Stande ist, nach einer 15 Minuten langen Einwirkung den grössten Theil der Cholerabacillen, welche in Wasser eingeführt werden, zu vernichten. Indessen ist in dieser Beziehung wohl zu beachten, dass vermuthlich nicht alle käuflichen Sublimatseifen von gleich günstiger Wirkung sind.

Behring¹⁾, der die antibacterielle Wirkung der Seifen untersucht hat, sagt: »Wie wenig rationell übrigens für Desinfectionszwecke die medicamentösen Seifen hergestellt werden, geht daraus hervor, dass aus hiesigen Apotheken bezogene Sublimat-, Theer- und Carbolseifen und mannigfache andere Compositionen den desinficirenden Werth unserer einfachen Institutsseife und — wie ich hinzufügen kann — der gewöhnlichen Schmierseife nicht

1) Zeitschr. f. Hygiene, Bd. IX, 1890.

erreichten, dagegen hat in dankenswerther Weise die Fabrik von Gude & Co. eine sehr wirksame und haltbare flüssige Quecksilbercyanidseife hergestellt«. Was die Carbol- und Salicylseife anbelangt, kann ich Behring beipflichten, aber nicht in Hinsicht auf die Sublimatseife, da diese in meinen Versuchen eine sehr viel stärkere Wirkung ausübte, als der gewöhnlichen Seife zukam. Vielleicht steht dies im Zusammenhange mit einer weniger guten Weise der Herstellung der Sublimatseife, welche Behring zur Verfügung stand, gegenüber der, mit welcher ich experimentiren konnte, und die ich füglich auf Grund der obigen Versuche für ausgezeichnet erklären kann.

Alle Seifen, auch die Sublimatseife, übertrifft jedoch in der Wirkung auf das Leben der im Wasser vertheilten Cholerabacillen das Sublimat selbst. Denn dieses tödtet die im Vechtleitungswasser enthaltenen Kommabacillen bereits in einer Verdünnung von 1 auf 30 Millionen Wasser in weniger als 10 Minuten.

Unsere Beobachtungen und Versuchsergebnisse gelten zunächst nur für das Vechtleitungswasser, oder für Wassersorten, welche dem Vechtwasser in seiner chemischen Zusammensetzung oder in seinem bacteriologischen Zustande ungefähr gleichkommen. Das filtrirte Vechtleitungswasser ist, bezw. war zur Zeit unserer Versuche ein weiches Flusswasser mit einem Gehalte von 300 bis 400 mg fester Stoffe per Liter; zur Oxydation der in ihm enthaltenen organischen Stoffe werden etwa 9—14 mg Chamaeleon per Liter verbraucht, sein Bacteriengehalt beträgt in der Regel weniger als 100 per Cubikcentimeter.

Man muss annehmen, dass andere, namentlich unreinere Wassersorten mehr Sublimat zur gleichen Wirkung erfordern. Oben schon habe ich auf die Erscheinung aufmerksam gemacht, dass die bacterientödtenden Eigenschaften des Sublimats beeinflusst werden durch die chemischen Eigenschaften des Desinfectionsobjectes.

Wir haben daher — auch mit Rücksicht auf die Frage, in wie weit es möglich ist, anderes Wasser, z. B. das Wasser unserer

»Grachten«¹⁾, mit gleichem Erfolg und in gleicher Weise zu behandeln — noch einige Untersuchungen angestellt, welche in Prof. Forster's Laboratorium fortgesetzt werden. Ich wünsche hiervon nur die folgenden Versuche mitzuthellen.

Statt des Vechtleitungswassers verwendete ich zur Mischung mit Cholera bacillen und Sublimatlösung Wasser aus der Gracht, an welcher das hiesige hygienische Institut gelegen ist, und in welche die Abfallwässer u. s. w. der daranliegenden Häuser ausmünden. Nach Untersuchungen dieses Wassers, die häufig unter Prof. Forster's Leitung ausgeführt wurden, enthält dieses Wasser in der Regel 70—100 000 Bacterien per Cubikcentimeter. Um sonach die eingebrachten Cholera bacterien bestimmen und deren eventuelle Abnahme nach dem Sublimatzusatze nachgehen zu können, habe ich das Wasser vor dem Zusatze das eine Mal aufgeköcht, das andere Mal durch einen Pasteur-Chamberland'schen Filter filtrirt. Nun wurde in der früheren Weise weiter gehandelt und nach der Beimischung von Cholera bacterien 0,000 03 ‰ (1 auf 30 Millionen) Sublimat beigelegt. Das Ergebnis der Culturversuche war nunmehr:

I.

Nach dem Zusatze	Anzahl der Chol. Bact. pro ½ cem des Wassers	
	Filtrirtes Wasser	Gekochtes Wasser
Nach 1 Minute	> 500	> 750
» 5 Minuten	> 250	> 750
» 10 »	> 100	> 750
» 15 »	> 75	> 750
» 15 » (in Bouillon)	Entwicklung	Entwicklung
Vor dem Zusatze	> 500	> 750

In dem unreineren Wasser werden sonach die Cholera bacillen bei einem Gehalte an Sublimat, welcher in reinem Wasser dieselben in 10 Minuten schon abtödtet, in 15 Minuten und länger noch nicht getödtet. In dem durch Kochen sterilisirten Wasser

1) Die schiffbaren Canäle in unseren Städten.

sind die Cholerabakterien dem Anscheine nach gar nicht in Zahl vermindert, was wohl dem Umstande zuzuschreiben ist, dass hier noch eine etwas grössere Menge der Substanzen, welche das Sublimat unwirksam machen können, anwesend ist als in dem gut filtrirten Wasser.

In einer zweiten Versuchsreihe wurden zunächst die Cholerabakterien statt in Leitungswasser in völlig reine sterilisirte 0,75 % ige Kochsalzlösung gebracht und dann Sublimat — und zwar zu den früheren, aber auch noch zu stärkeren Verdünnungen — beigefügt. Nun wurden folgende Zahlen erhalten:

II.

Nach dem Zusatze	Anzahl der Cholerabact. pro $\frac{1}{2}$ ccm		
	0,00003 ‰ = 1 auf 30 Mill.	0,000015 ‰ = 1 auf 60 Mill.	0,00001 ‰ = 1 auf 100 Mill.
Nach 1 Minute	> 250	> 500	> 1000
„ 5 Minuten	1	3	> 1000
„ 10 „	0	0	> 1000
„ 15 „	0	0	> 1000
„ 15 „ (in Bouillon)	keine Entwick.	keine Entwick.	Entwicklung
Vor dem Zusatze	> 1000	> 1000	> 1000

In einer reinen Kochsalzlösung, in welche geringe Mengen einer Cultur möglichst ohne Beimengung des Nährsubstrates (organische Stoffe, Phosphate etc.) gebracht sind, werden die Cholerabacillen also schon bei einem Gehalte von 1 Sublimat auf 60 Millionen Wasser beinahe sofort getödtet; erst bei 1 auf 100 Millionen ist eine Wirkung innerhalb 15 Minuten nicht mehr nachzuweisen.

Wiederholt man nun aber die gleichen Versuche, während man gleichzeitig etwas organische Stoffe (mit Phosphaten) beifügt, so ist zu dem gleichen Erfolge (der Tödtung der Cholerabacillen) diese geringe Sublimatmenge nicht mehr ausreichend.

So erhielten wir bei Anwendung von 0,00003 ‰ Sublimat (1 auf 30 Millionen) bei einem gleichzeitigen Zusatze von 1 und 10 mg Pepton auf 500 ccm der sterilisirten Kochsalzlösung folgende Zahlen. (Siehe S. 44).

Die Wirkung des Sublimats wird also im Verhältnisse zu der Menge des zugesetzten Peptons abgeschwächt, was selbstverständlich durch Bindung und Umsetzung des Sublimates zu erklären ist. Es verhält sich sonach das Sublimat ähnlich dem Ozon in den bekannten Versuchen von Ohlmüller¹⁾.

III.

Nach dem Zusatze	Anzahl v. Chol. Bact. pro $\frac{1}{2}$ ccm	
	Mit 1 mg Pepton	Mit 10 mg Pepton
Nach 1 Minute	> 100	> 500
„ 5 Minuten	2	> 500
„ 10 „	0	> 500
„ 15 „	0	> 500
„ 15 „ (in Bouillon)	keine Entwick.	Entwicklung
Vor dem Zusatze	> 500	> 500

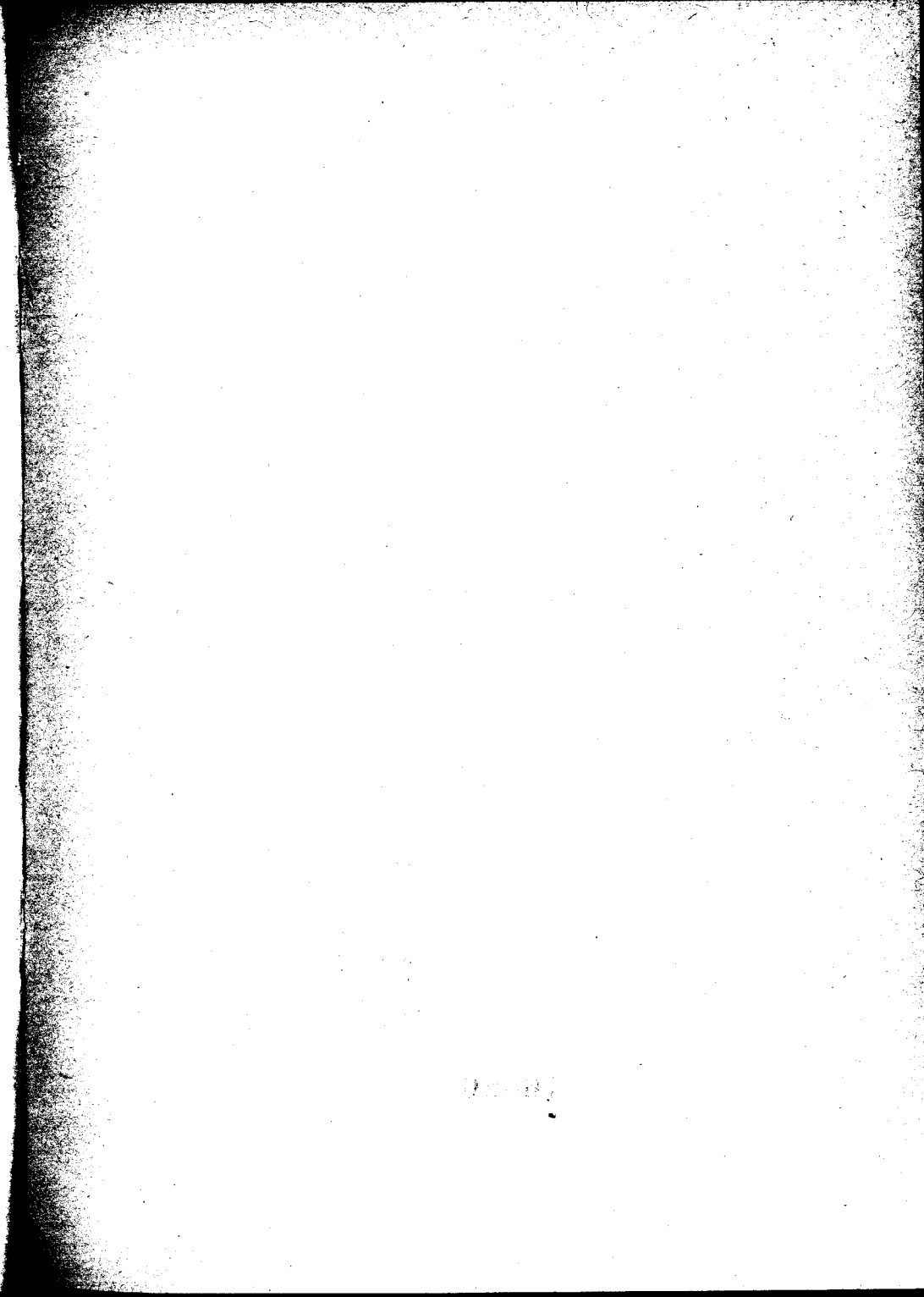
Aus der letzten Versuchsreihe im Vereine mit den früheren Beobachtungen aber geht hervor, worauf bereits aufmerksam gemacht wurde, dass die Resultate der im Obigen geschilderten Versuche ihre Anwendung zunächst nur bei relativ reinen Wassersorten zu finden haben.

Amsterdam, Juni 1893.

1) Arbeiten aus dem kais. Gesundheitsamte, 1892, Bd. VIII, S. 245 u. ff.



16086



25526