

# Über die neuen Untersuchungsmethoden zum Nachweis der Mikrokosmen in Boden, Luft und Wasser.<sup>1)</sup>

Von

Dr. R. Koch,  
Geh. Regierungsrat.

M. H.! Es ist eine ganz bekannte Tatsache, daß eine Anzahl von Krankheiten, besonders die Infektionskrankheiten, in unverkennbarer Weise von den Verhältnissen der Luft, des Wassers und des Bodens abhängig sind. Die Vorstellungen, welche man sich von der Art und Weise dieser Abhängigkeit gemacht hat, richteten sich natürlich nach den jederzeit herrschenden Ansichten über das Wesen der Krankheitsursachen. Solange man noch den Luftströmungen, der Temperatur und der Feuchtigkeit der Luft, den mineralischen Bestandteilen des Wassers, den gasförmigen Ausdünstungen des Bodens einen überwiegenden Einfluß auf die Entstehung der Krankheiten zuschrieb, hat man sich fast ausschließlich darauf beschränkt, die rein chemischen und physikalischen Eigenschaften der Luft, des Wassers und des Bodens zu untersuchen. Es hat sich aber später immer mehr die Überzeugung Bahn gebrochen, daß nicht sowohl die rein chemischen und physikalischen Verhältnisse Krankheit erregend und befördernd wirken, sondern vielmehr der Einfluß, den sie auf gewisse Zersetzungs Vorgänge organischer Natur ausüben. Die Folge davon war, daß man nunmehr sein Augenmerk darauf richtete, das Wesen dieser Zersetzungs Vorgänge zu ergründen. Man bestrebte sich, namentlich die Bedingungen zu erforschen, welche auf diese Zersetzungs Vorgänge hindernd oder fördernd einwirken, so z. B. die Durchlässigkeit des Bodens, die Schwankungen des Grundwassers. Man suchte ferner nach Kennzeichen für den Grad der Verunreinigung, welche diese Zersetzungs Vorgänge mit sich bringen, um so ein Urteil über die Gesundheitsschädlichkeit derselben gewinnen zu können. In dem Kohlensäuregehalt der Luft, in dem Gehalt des Wassers an oxydierbaren organischen Substanzen, an Ammoniak, Salpetersäure, Chlor ist denn auch ein bestimmter Maßstab gefunden, nach dem sich wenigstens in gewisser Richtung und für manche Fälle eine vollständig ausreichende Kenntnis der Verunreinigung von Luft und Wasser erhalten läßt. Daß diese erweiterte Auffassung der Aufgaben, welche hinsichtlich der ätiologischen Erforschung von Luft, Wasser und Boden zu erfüllen sind, zu den wichtigsten Resultaten geführt hat, die wir vor allem den bahnbrechenden Arbeiten von P e t t e n k o f e r verdanken, ist Ihnen ja allen bekannt.

Nun hat aber die neuere Zeit über diese als wichtig erkannten Zersetzungs Vorgänge weitere Aufschlüsse gebracht. Es hat sich herausgestellt, daß alle diese Zersetzungs Vorgänge, die so große Ähnlichkeit mit den Gärungsprozessen haben, ohne Ausnahme

<sup>1)</sup> Vortrag auf dem XI. Deutschen Ärztetag in Berlin am 23. Juni 1883. Aus Ärztliches Vereinsblatt für Deutschland, 1883, Nr. 137. Kommissions-Verlag von F. C. W. Vogel, Leipzig.

durch niedrigere Organismen bedingt sind, und zwar gehören die Organismen, um die es sich handelt, zu den niedrigsten Formen der Pflanzenwelt, den Pilzen und Bakterien. Ja, es ist wohl schon als festgestellt anzusehen, daß eine Anzahl von diesen niederen Organismen, vorzugsweise Bakterien, direkt Krankheiten verursachen können. Damit ist aber auch die Notwendigkeit gegeben, in Zukunft nicht mehr allein, wie früher, den Produkten der Zersetzung seine Aufmerksamkeit zuzuwenden, sondern außerdem auch die Erreger der Zersetzung, die Mikroorganismen selbst ins Auge zu fassen, und es wird notwendig sein, neben dem Kohlensäuregehalt der Luft, dem Gehalt des Wassers an oxydierbaren organischen Bestandteilen, Salpetersäure, Chlor usw. auch die Pilze und Bakterien in Luft, Wasser und Boden der Zahl und Art nach zu bestimmen, wenn man ein ausreichendes Urteil über die gesundheitsschädlichen Eigenschaften der uns umgebenden Medien gewinnen will. Diese Überzeugung hat vielfach schon zu Bestrebungen geführt, die eben angedeutete Aufgabe zu lösen. Zu diesem Zwecke wurde versucht, die in der Luft suspendierten geformten Bestandteile, namentlich die Keime von Mikroorganismen in der Weise zu bestimmen, daß Luft durch Schießbaumwolle filtriert wurde, welche man in Äther auflöste und so direkt mikroskopisch untersuchte. Nach einem anderen Verfahren wird die Luft gegen eine klebrige Flüssigkeit, z. B. einen Tropfen Glycerin oder Glukose, getrieben oder angesaugt, in der Voraussetzung, daß die festen Bestandteile der Luft an dieser Flüssigkeit haften bleiben, um sie so der mikroskopischen Untersuchung zugänglich machen zu können. Schließlich hat man noch versucht, die Luft direkt durch Nährflüssigkeiten zu leiten, d. h. durch Lösungen von Substanzen, welche zur Ernährung von Bakterien besonders geeignet sind. Man hoffte, daß sämtliche entwicklungsfähigen Keime, welche die Luft enthielt, zurückbleiben, sich vermehren und so in Art und Zahl erkannt werden könnten. Ähnlich ist man mit dem Wasser verfahren, man hat es entweder direkt untersucht, nachdem es ganz oder teilweise verdunstet war, oder mit Mitteln behandelt, welche die suspendierten Bestandteile zu Boden reißen, z. B. Chlorkalziumlösung, Osmiumsäure, oder mit Substanzen, welche zugleich färbend wirken, wie Anilinfarben. Ob ähnliche Untersuchungen in bezug auf den Boden vorgenommen sind, ist mir nicht bekannt.

Alle diese Methoden, nach welchen man bis jetzt untersucht hat, sind jedoch unvollkommen und unsicher. Es würde zu weit führen, wenn ich die Fehler jeder einzelnen Methode kennzeichnen wollte, ich muß mich darauf beschränken, im allgemeinen darauf hinzuweisen, daß die direkte mikroskopische Untersuchung für Luft und Wasser keine Auskunft darüber gibt, ob die Mikroorganismen, welche man gefunden hat, lebend oder tot sind, und es kommt doch vor allen Dingen darauf an, gerade dies zu wissen. Auch die anderen Untersuchungsmethoden, welche die in der Luft befindlichen Keime in eine Nährflüssigkeit bringen, rechnen nicht mit den besonderen Eigenschaften der Bakterien bezüglich ihrer Entwicklung und ihres Wachstums. Die Bakterien und Pilze wachsen nämlich nicht alle in gleichmäßiger Weise. Einige vermehren sich ungemein schnell, andere langsam. Außerdem sind einige beweglich, andere unbeweglich. Denken Sie sich nun eine Lösung, in welcher vielleicht 10, 20 verschiedene Keime aus der Luft zurückgeblieben sind, so wird binnen kurzer Zeit eine Art alle anderen überwuchern, die beweglichen Formen werden sich mit den übrigen vermengt haben, kurz es gibt schließlich ein Gewirr von Formen und Gestalten, aus dem man sich nicht herausfindet und am wenigsten ersehen kann, wieviele und welche Arten in der Luft gewesen sind, die man untersucht hat.

Die Erkenntnis der Schwierigkeiten, welche sich diesen Untersuchungen entgegenstellten, führte nun aber auch zu den Mitteln, die unvollkommenen Methoden durch bessere zu ersetzen. Stellen Sie sich vor, daß es sich nicht um eine Nährflüssigkeit,

sondern um einen festen Nährboden handelte und daß auf diesen festen Nährboden eine Anzahl Keime gelangen würden, die sich getrennt voneinander ablagern. Dann werden sich natürlich die beweglichen nicht mit den unbeweglichen mischen können, auch werden nicht die schnellwachsenden die anderen überwuchern, weil sie in ihrer Ausbreitung durch den festen Nährboden an eine mehr oder weniger eng begrenzte Stelle gebunden werden. Man wird also den wesentlichen Teil der vorhin angedeuteten Fehler vermeiden können.

Daß diese Voraussetzung nicht etwa eine rein hypothetische ist, sondern sich auch experimentell als richtig erweisen läßt, dafür kann ich Ihnen hier Beispiele zeigen. Ich muß indessen noch vorausschicken, daß bei allen Untersuchungen über niedere Organismen, so bald man sie in getrennten Arten zur Entwicklung bringen will, es besonderer Vorsichtsmaßregeln bedarf, die ich nur andeuten will.

Sie werden erfahren, daß in der Luft, im Wasser, an den Gerätschaften, kurz fast überall, eine Menge Keime von Mikroorganismen vorhanden sind. Macht man also den Versuch, irgendeine Art rein zu erhalten, so ist man stets der Gefahr ausgesetzt, daß von überallher Verunreinigungen in die Kultur hineingeraten. Hiergegen kann man sich aber dadurch schützen, daß man alle Gerätschaften und Nährsubstanzen durch Hitze frei von fremden Keimen macht, d. h. sterilisiert. Die Apparate, welche zur Sterilisierung durch Hitze dienen, sind hier nicht ausgestellt, aber ich bitte Sie, am Nachmittag, wenn Sie den Pavillon des Gesundheitsamtes in Augenschein nehmen, im Laboratorium für Untersuchungen über Infektionskrankheiten dieselben sich ansehen zu wollen. Alle metallenen und gläsernen Instrumente und die zum Verschuß der Kulturgefäße dienende Baumwolle werden mit trockener Hitze, und zwar bei einer Temperatur von mindestens 150—160° C keimfrei gemacht. Flüssigkeiten oder andere Substanzen, welche man als Nährboden benutzen will, kann man nicht gut durch sehr hohe Temperatur keimfrei machen, weil dadurch in ihnen chemische Umsetzungen entstehen, durch welche sie möglicherweise als Nährsubstanz ungeeignet gemacht werden. Zur Sterilisierung dieser Substanzen hat sich strömender Wasserdampf von 100° als das zweckmäßigste Mittel erwiesen.

Ich kehre nunmehr zu dem Verhalten der auf einem festen Nährboden abgelagerten Keime zurück. Dieselben müssen sich, wie gesagt, auf dem festen Boden, auf welchem sie sich getrennt abgesetzt hatten, auch getrennt entwickeln, so daß man die aus den Keimen herangewachsenen Kolonien einzeln beobachten und sich über ihr Verhalten informieren kann. Ein in dieser Beziehung sehr instruktives Experiment läßt sich in der Weise anstellen, daß man eine gekochte und durchgeschnittene Kartoffel nimmt und die Schnittfläche derselben dem Einfluß der Luft aussetzt. Die Kartoffel ist ein vorzüglicher Nährboden für Bakterien und Pilze, wie sie an den hier vorgelegten Beispielen von Kartoffeln mit verschiedenen Reinkulturen von Bakterien und Pilzen sehen können. — Die Kartoffel, welche der Luft ausgesetzt werden soll, ist natürlich sterilisiert. Dieselbe befindet sich in einem durch Hitze keimfrei gemachten Glase und unter Verschuß von Watte. In dieser Weise geschützt, kann sie beliebig lange aufbewahrt werden, ohne daß sie irgendwelche Veränderung erleidet; es wächst nichts auf ihr, trotzdem sie ein vorzüglicher Nährboden ist. Sobald aber der schützende Watteverschluß eine Zeitlang, z. B. einige Stunden gelüftet wird, dann fallen eine Anzahl von Keimen aus der Luft auf die Oberfläche der Kartoffel und es entwickelt sich durch das Wachstum dieser Keime ein Bild, wie Sie es hier an verschiedenen Beispielen sehen; es erscheint auf der Kartoffel eine Menge von kleinen Pünktchen, Tröpfchen und Pilzmyzelien. Wenn Sie diese genau betrachten, dann sehen Sie, daß fast alle ein verschiedenes Aussehen haben; sie differieren in bezug auf Größe, Farbe, Konturen, und wenn man sie

mikroskopisch untersucht, so ist man von ihrer Mannigfaltigkeit noch mehr überrascht. — Durch dieses einfache Experiment ist also schon eine gewisse Auskunft über die in der Luft befindlichen Keime von Mikroorganismen zu erhalten. Nun ist aber eine solche Kartoffel nicht geeignet, um nach allen Richtungen hin die Untersuchung auf Mikroorganismen zu ermöglichen: für Wasser- oder Bodenuntersuchung würde sie nicht zu verwerthen sein. Es war demnach notwendig, noch nach andern Substanzen für einen festen Nährboden sich umzusehen, die bequem zu handhaben sind und außerdem in besserer Weise die unmittelbare mikroskopische Untersuchung gestatten. Für diesen Zweck erwies sich der Zusatz von *Gelatin*e zu irgendwelchen Nährlösungen als besonders geeignet, um diese in feste Nährsubstanzen zu verwandeln. Man nimmt Gelatine, von welcher hier eine Probe vorgelegt wird, setzt dieselbe der Nährlösung zu, läßt sie quellen, bringt sie in der Wärme zur Lösung, sterilisiert durch Kochen und läßt nachher wieder erstarren. Man kann sich natürlich die verschiedenartigsten Nährgelatinen herstellen, z. B. mit einem Infus von Weizen oder Backobst, welche letztere sich ganz besonders nährfähig für die Schimmelpilze gezeigt hat. Eine sehr geeignete Gelatine ist die mit Fleischinfus bereitete, und zwar deswegen, weil nicht sowohl derjenige Nährboden als der vorteilhafteste erscheinen muß, auf welchem die Bakterien und Pilze überhaupt gedeihen, sondern vielmehr ein solcher, auf welchem besonders die uns in erster Linie interessierenden pathogenen Bakterien zu wachsen vermögen. Für diese hat sich aber gerade die Fleischinfusgelatine mit Zusatz von etwas Pepton als beste Gelatinekomposition erwiesen. Sie wird in folgender Weise zubereitet: 1 kg gehacktes Rindfleisch und 2 l Wasser werden gemischt und eine Nacht hindurch in einem kalten Raum, am besten im Eisschrank, stehen gelassen. Dann wird das Wasser ausgepreßt, Gelatine im Verhältnis von 5—10%, also auf 2 l Flüssigkeit 100—200 g Gelatine, und Pepton 1%, also 20 g, sowie  $\frac{1}{2}$ % Kochsalz zugesetzt. Eine Flasche mit den gemischten, eben genannten Ingredienzien zeige ich Ihnen hier. Man läßt das Ganze eine kurze Zeit stehen und bringt darauf bei mäßiger Wärme die Gelatine zur Lösung. Diese Lösung wird mit kohlen-saurem Natron möglichst genau neutralisiert und alsdann in den Apparat zur Dampfsterilisierung gebracht. Bei der Erhitzung tritt eine Gerinnung ein und es muß die Lösung filtriert werden, was am besten mit Hilfe eines Heißwassertrichters geschieht. Nach dem Filtrieren erhält man eine ganz klare, durchsichtige, schwachgelbliche Lösung, die sehr bald erstarrt und wie die Ihnen hier vorgezeigte Probe aussieht. Es könnten aber während dieser Manipulationen, insbesondere während des Filtrierens, Keime aus der Luft in die Nährlösung eingedrungen sein, und es ist deshalb notwendig, die fertige Nährgelatine in dem mit Watte verschlossenen Gefäß nochmals durch den heißen Dampfstrom zu sterilisieren. Jetzt bleibt die Gelatine trotz ihrer besten Nährfähigkeit im geschlossenen Glase ganz unverändert, klar und kann lange aufbewahrt werden. Das Bild ändert sich aber sofort, wenn man den Wattepfropfen entfernt und der Luft Zugang verschafft. Dann fällt ebenso, wie es bei der Kartoffel der Fall war, eine Anzahl Keime aus der Luft auf die Oberfläche der Gelatine und kommt hier zur Entwicklung. Sie sehen hier einige solcher Beispiele. An der Oberfläche der in diesen Flaschen befindlichen Nährgelatine sind kleine Pilzmyzelien und Tröpfchen sichtbar, die wegen der Durchsichtigkeit der Gelatine weit besser als auf der Kartoffel zu erkennen sind. Ich möchte Sie noch besonders darauf aufmerksam machen, daß die Kolonien in diesen Gefäßen fast ausschließlich unter der Öffnung liegen, welche durch den Hals der Flasche gebildet wird; schon hieraus ist zu ersehen, daß diese Keime nicht etwa durch Urzeugung aus der Nährsubstanz oder durch Verunreinigungen der Gelatine oder des Gefäßes ihren Ursprung genommen haben können, denn im ersteren Falle müßten sie im Innern der Gelatine, im letzteren dicht an den Glaswänden liegen;

sie liegen jedoch unter der Öffnung, welche der Luft den Zutritt gestattet, und können nur durch diese an die Oberfläche der Gelatine gelangt sein; sie stammen also aus der Luft und sind, dem Gesetz der Schwere folgend, in das Gefäß hinabgefallen. Wenn Luftströmungen in das Gefäß hineindringen, dann wirken sie auf die Ablagerung der Keime ein. Sie sehen hier zum Unterschiede von jenen Gefäßen ein solches, welches im Freien gestanden hat und den Luftströmungen ausgesetzt war. An der Lage der Kolonien, welche sich nach der einen Seite hin gruppieren, erkennen Sie die Windrichtung, welche während der Ablagerung der Keime geherrscht hat. Nun ist aber in einem solchen Glaskolben die Beobachtung und weitere Untersuchung der Kolonien noch zu sehr erschwert. Man kann dieselben nicht in unmittelbarer Nähe betrachten und namentlich nicht direkt unter das Mikroskop bringen, um sie vergrößert untersuchen zu können. Deshalb ist es zweckmäßig, die Gelatine nicht in einem solchen flaschenartigen, sondern in einem flachen, weit offenen Gefäß oder auf einer Glasplatte ausgebreitet der Luft auszusetzen. Auch dann entstehen auf der Oberfläche der Gelatine sehr viele Kolonien aus den abgelagerten Keimen, wie Sie an diesem Beispiel einer mit Nährgelatine überzogenen Glasplatte, welche 2 Stunden außerhalb des Fensters gestanden hatte, ganz vorzüglich ansehen können. Besonders ist in diesem Falle die Mannigfaltigkeit der Formen sehr auffallend; auch möchte ich Sie darauf aufmerksam machen, daß einige Kolonien die Gelatine verflüssigen, während andere die Konsistenz derselben nicht verändern. Hier lege ich Ihnen eine andere Platte vor, welche einen ganz anderen Typus repräsentiert. Dieselbe war kaum  $\frac{1}{2}$  Stunde im Stalle unserer Versuchstiere der Luft ausgesetzt. Sie sehen auf derselben eine erheblich größere Anzahl von Kolonien und darunter sehr viele von ganz anderem Charakter als die in den vorher gezeigten Beispielen vorkommenden.

Nun kann man aber noch manche andere mehr oder weniger zweckmäßige Formen den zur Aufnahme der Gelatine bestimmten Gefäßen geben. Sehr einfach und bequem sind kleine viereckige Glasnäpfe mit einer Höhlung und einem Glasdeckel, von denen hier eine Anzahl vorgelegt werden. Dieselben sind sämtlich mit Nährgelatine gefüllt und wurden einige Stunden lang der Luft ausgesetzt. Auf der Gelatineoberfläche befinden sich sehr verschiedene Kolonien von Pilzen und Bakterien. Besonders mache ich auf eins der Glasnäpfchen aufmerksam, in welchem nebeneinander ein schöner brauner Pilz, dann in fast gleicher Größe und Form eine weiße, daneben eine rote, und ferner zwei gelbe Bakterienkolonien entstanden sind. Dieselben haben ein so zierliches und schönes Aussehen, daß man meinen könnte, sie seien künstlich hergestellt, dennoch hat nur der Zufall sie in dieser Weise und auf natürlichem Wege entstehen lassen. In den bis jetzt gezeigten Beispielen von Luftuntersuchung fehlt jeder Anhalt für die Bestimmung der Luftmenge, welche ihre Keime auf der Oberfläche der Gelatine abgelagert hatte. Um nun zunächst möglichst gleiche Luftmengen zu untersuchen und damit einen Vergleich in den Resultaten zu ermöglichen, wurde dieser Apparat konstruiert, der die Bedingungen, die man an ihn stellen kann, aufs einfachste erfüllt. Derselbe besteht aus einem ziemlich hohen, zylindrischen Glase, dessen unterer Teil, wie sich wohl voraussetzen läßt, eine nicht in Bewegung befindliche Luftschicht enthält, aus welcher sich die Keime ungestört absetzen können. Selbst wenn über die obere Öffnung des Glases Luftströmungen hinweggehen, so wird doch unten eine mehr oder weniger große Luftsäule bleiben, welche unbewegt ist. Um nun ferner die Kolonien, welche sich auf der Gelatine entwickeln, gleich für die mikroskopische Untersuchung zugänglich zu machen, wird die Gelatine in ein kleines Glasgefäß gegossen, welches auf den Boden des Zylinders gestellt wird und durch einen Blechstreifen herausgehoben werden kann. Es bleibt nun, wenn das Gefäß dicht mit Watte geschlossen ist, die sterilisierte Gelatine vollständig

ohne jede Veränderung. Sobald aber die Watte entfernt wird, fallen Luftkeime auf die Gelatine und wir sehen bald wieder vielfache Kolonien heranwachsen, wie an diesen Beispielen, welche an verschiedenen Orten und verschieden lange Zeiten der Luft ausgesetzt waren, zu sehen ist. Es war leider nicht möglich, Ihnen einzelne dieser Kolonien unter dem Mikroskop zu demonstrieren, doch habe ich Ihnen hier Photogramme von Vergrößerungen solcher auf Gelatine zur Entwicklung gekommenen Kolonien mitgebracht, um Ihnen eine Idee davon zu geben, wie mannigfaltig sich die Formen derselben gestalten, wenn man sie vergrößert betrachtet. Ihre Ränder erscheinen bald rund, bald wellenförmig, strahlenförmig usw. Es ist selbstverständlich ferner notwendig, die Kolonien und die in ihnen enthaltenen Mikroorganismen mit allen Methoden und Hilfsmitteln der neueren Mikroskopie, also mit Ölimmersionssystemen, Beleuchtungsapparat, Färbungsmethoden usw. zu untersuchen. Hierbei findet man, daß fast jedes dieser Tröpfchen eine Reinkultur ist und von einer solchen aus kann man in einfachster Weise die Reinkultur einer Bakterienart weiterzüchten. Man nimmt zu diesem Zweck einen Platindraht, der in einen Glasstab eingeschmolzen ist; derselbe wird ausgeglüht und wieder abgekühlt; dann berührt man damit ein Tröpfchen und überträgt es weiter auf andere Nährgelatine, welche in einem mit Watteverschluß versehenen Reagenzglas sich befindet. Es entsteht dann wieder eine ebensolche Kolonie, und zwar ist diese gleichfalls eine Reinkultur von den Bakterien der ursprünglichen Kolonie. Ich zeige Ihnen hier eine Anzahl in dieser Weise erhaltener Reinkulturen, aus der Luft Berlins. Es sind teils Mikrokokken, teils Bazillen, ferner verschiedene Aspergillusarten und andere weiße, schwarze, blaugrüne Schimmelpilze. — Diese Luftuntersuchungsgläser lassen, wie gesagt, nur eine vergleichsweise Bestimmung des Gehaltes der Luft an entwicklungsfähigen Keimen zu. Mit der Aufgabe, die Anzahl der Keime in einem bestimmten, abgemessenen Luftquantum zu bestimmen, hat sich Herr Bezirksarzt Dr. Hesse, aus Schwarzenberg in Sachsen, längere Zeit im Laboratorium des Gesundheitsamtes beschäftigt.

Zur Lösung dieser Aufgabe kam es darauf an, der Gelatine eine Gestalt zu geben, welche gestattete, abgemessene Quantitäten Luft über dieselbe so hinwegzuleiten, daß sämtliche Keime sich auf der Oberfläche der Gelatine ablagern mußten. Ich müßte zu ausführlich werden, wenn ich alle Vorversuche beschreiben wollte, die zur Konstruktion des Hesse'schen Luftuntersuchungsapparates geführt haben. Derselbe besteht aus einem Glasrohr, das mit Nährgelatine soweit gefüllt wird, daß die erstarrte Gelatine ungefähr ein Viertel des Umfangs bedeckt, wenn das Rohr horizontal gelegt ist. Auf beiden Seiten ist das Rohr mit einem Kautschukverschluß versehen, welcher nach dem Öffnen die Durchleitung von Luft gestattet. Das Ganze befindet sich auf einem besonderen Stativ. Wenn man nun eine bestimmte Quantität Luft durch das mit sterilisierter Nährgelatine versehene Rohr mit Hilfe eines Flaschenaspirators hindurchsaugt, so gibt die Luft alle ihre Keime an die Gelatine ab. Ein am Ende des Rohres befindlicher Wattepfropf, welchen die aspirierte Luft passieren muß, ist mit Gelatine angefeuchtet und es muß also jeder Keim, der bis an das Ende des Rohres gelangt, an diesem Wattepfropf zur Entwicklung kommen. Das Freibleiben des Wattepfropfs von Pilzen und Bakterienkolonien dient also als Kontrolle dafür, daß auch sämtliche in der Luft vorhandenen Keime in dem Rohr zurückgehalten wurden. Durch das Rohr, welches ich Ihnen hier vorlege, sind 10 l Berliner Luft hindurchgeführt. Wenn Sie die darin entstandenen Kolonien betrachten und zählen, so stimmt die Zahl derselben ungefähr mit dem, was Dr. Hesse in einer großen Reihe von Versuchen festgestellt hat, daß nämlich ungefähr auf 2 l Luft in Berlin eine Pilzspore und ein Bakterienkeim kommt. Durch dieses zweite Rohr sind 12 l Luft aspiriert. Die Durchleitung ist etwas unregelmäßig vor sich gegangen, und es sind deshalb zu viele Keime am Anfang des Rohres liegen geblieben; die

Luft, welche sehr reich an Keimen war, stammt aus einem Tierstall. Durch das dritte Rohr ist ebenfalls Berliner Luft, und zwar 9 l geleitet.

Diese Bestimmungen der entwicklungsfähigen Keime in der Luft haben schon zu einigen interessanten Resultaten geführt. Wie ich schon sagte, ist die Luft in Berlin derartig beschaffen, daß man auf 2 l ungefähr einen Pilzkeim und einen Bakterienkeim rechnen kann. Ich habe in ähnlicher Weise Gelegenheit gehabt, in London Luftuntersuchungsgläser aufzustellen. Nach ungefährender Schätzung betrug die Zahl der auf der Gelatine gewachsenen Kolonien wenigstens das Fünffache von dem, was gewöhnlich aus Berliner Luft erhalten wird. Die Untersuchungen haben ferner ergeben, daß es einen außerordentlichen Unterschied macht, ob sich die Luft in Ruhe oder in Bewegung befindet, ob derselben Staubteile beigemischt sind oder nicht. Die Luft kann arm an Kohlensäure sein und eine Unmasse von diesen Keimen niederer Organismen enthalten und umgekehrt. Ich hatte früher schon gefunden, daß Zimmer, welche unbewohnt und ungelüftet sind, fast frei von Keimen sind. Die Luft in einem Keller kann dumpfig erscheinen und trotzdem nur wenige Keime enthalten. Umgekehrt ist überall da, wo viel Bewegung und viel Staub ist, eine außerordentliche Menge von entwicklungsfähigen Keimen in der Luft vorhanden. Ich habe schon den Gegensatz hervorgehoben zwischen der Luft im Freien und im Tierstall, in welchem zahlreiche Tiere beständig in Bewegung sind und der Luft viele Staubteile zuführen. Hier lege ich Ihnen noch einige von den Zeichnungen vor, die Herr Dr. Hesse nach seinen Luftuntersuchungsröhren anfertigen ließ und einen sehr guten Einblick in diese Verhältnisse geben. Bei der Untersuchung eines Schulzimmers hatte Herr Dr. Hesse seinen Apparat vor Beginn des Unterrichts aufgestellt und ließ 2 l Luft durch das Rohr gehen. Es waren, wie aus der Zeichnung zu ersehen ist, später nur ein einziges Pilzmyzel und zwei Bakterienkolonien zur Entwicklung gekommen. In demselben Schulzimmer und an demselben Tage gingen dann während des Unterrichts 2 l Luft durch ein Rohr mit Nährgelatine. Wie Sie sehen, ergab sich hierbei schon ein ganz anderes Bild; denn es kamen 20—30 verschiedene Kolonien zur Entwicklung. Als aber die Luft untersucht wurde, während die Kinder das Zimmer verließen, also eine Menge Staub aufgewirbelt wurde, da führte dies zu einem Resultat, welches dem im Tierstall erhaltenen in bezug auf die Menge der zur Entwicklung gekommenen Kolonien nicht viel nachgibt. Sie sehen also, einen wie großen Einfluß auf das Vorhandensein der Mikroorganismen die Bewegung der Luft und der Gehalt derselben an staubförmigen Bestandteilen hat<sup>1)</sup>.

Ich komme nunmehr zu der Untersuchung des Wassers nach dieser Methode. Es würde nicht ausführbar sein, dasselbe in gleicher Weise wie die Luft auf die Oberfläche der Gelatine wirken zu lassen. Nun kann man sich aber leicht in der Weise helfen, daß man die Gelatine bei ungefähr 30° verflüssigt, das Wasser zusetzt und sorgfältig mischt. Beim Erstarren der Gelatine werden die im Wasser enthaltenen Keime voneinander getrennt, fixiert und müssen also auch voneinander getrennte Kolonien zur Entwicklung bringen, welche sich jedoch in diesem Falle nicht wie bei der Luftuntersuchung an der Oberfläche der Gelatine, sondern im Innern derselben verteilt finden. Jede einzelne der so entstandenen Kolonien ist, wie die mikroskopische Untersuchung ergibt, eine Reinkultur, sie muß also aus einem einzigen Keime hervorgegangen sein und die Zahl der zur Entwicklung gekommenen Kolonien entspricht demnach annähernd der Zahl der im Wasser vorhandenen entwicklungsfähigen Keime. Sie sehen hier verschiedene Reagenzgläser mit Nährgelatine, der etwas Spreewasser zugesetzt ist. Die Gelatine

<sup>1)</sup> Die Arbeit von Dr. Hesse über quantitative Bestimmung der entwicklungsfähigen Keime von Mikroorganismen in der Luft wird binnen kurzem in den „Mitteilungen aus dem kaiserlichen Gesundheitsamte“ publiziert werden.

enthält eine sehr große Menge von kleinen Pünktchen und kugelförmiger Kolonien. Ich mache noch besonders auf die Gasentwicklung aufmerksam, die in einzelnen dieser Kugeln vor sich gegangen ist. Das Gas kann in diesem Falle nur ein Produkt der Bakterienvegetation sein, und es ist nicht unwahrscheinlich, daß auch die Entwicklung des Gases in Sumpfen nichts ist als das Produkt bestimmter Bakterienarten.

In gleicher Weise wie bei den Luftuntersuchungen kam es auch hier darauf an, die Methode so zu gestalten, daß man die Kolonien zählen und für die direkte mikroskopische Untersuchung sowie für die Weiterzüchtung in Reinkulturen zugänglich macht. Es ließ sich dies in einer sehr einfachen Weise dadurch erreichen, daß man die flüssige Gelatine, der das Wasser zugesetzt ist, auf eine Glasplatte ausgießt. Die Platte wird zu diesem Zwecke auf einem Nivellierständer in eine horizontale Lage gebracht, die flüssige Gelatine ausgebreitet und sofort verdeckt. Natürlich muß die Glasplatte, sowie die zur Mischung der Gelatine mit dem Wasser dienenden Gefäße zuvor durch Hitze desinfiziert sein. Da man die Gelatine beim Zutritt der Luft ausbreiten muß und hierbei Keime aus der Luft in die Gelatine geraten, so war es notwendig, die Fehler zu bestimmen, welche bei dieser Methode der Wasseruntersuchung nicht zu vermeiden sind. Um die Zahl der aus der Luft stammenden Keime zu erfahren, wurden bei jeder Untersuchung zur Kontrolle eine oder mehrere Platten in der Weise präpariert, daß der Nährgelatine 1 ccm gekochtes, destilliertes Wasser zugesetzt wurde. Dann schwankte die Menge der in einer solchen Platte zur Entwicklung kommenden Keime zwischen 0 und 5 oder 6. Wenn also auf einer Platte, welche mit einem bakterienhaltigen Wasser präpariert wurde, 1000 oder 10000 Kolonien zur Entwicklung kommen, so ist der in der Methode liegende Fehler verschwindend klein. Ich werde Ihnen nunmehr einige solcher Platten vorlegen. Hier haben Sie z. B. eine Platte, der 1 ccm Wasser aus der Tegeler Wasserleitung zugesetzt ist. Sie sehen, daß die Zahl der Keime vielleicht 50—60 beträgt. Das ist eine verhältnismäßig niedrige Zahl. Zum Vergleich gebe ich Ihnen eine Platte, die mit 1 ccm Brunnenwasser präpariert ist, Auch dieses ist noch als recht gut zu bezeichnen, da die Zahl der Kolonien ungefähr 100 beträgt. Man kann die Zählung der Kolonien entweder in der Weise vornehmen, daß man, wenn ihre Zahl nicht zu groß ist, dieselben direkt zählt, oder daß man bei einer großen Menge von Kolonien die Platte auf ein Netz mit qcm-Einteilung legt und nun die Kolonien auf einer Anzahl qcm zählt, aus diesen das Mittel nimmt und danach die Zahl für die ganze Fläche berechnet. Weiter zeige ich Ihnen hier einige Beispiele von schlechterem Wasser, z. B. eine Platte, deren Gelatine mit einem einzigen Tropfen Spreewasser versetzt ist. Die Zahl der Kolonien geht in die Tausende. Das Wasser, welches dazu genommen ist, sieht trotzdem durchaus nicht so schlecht aus, wie man meinen sollte. Das Brunnenwasser, welches der vorhin gezeigten Platte zugesetzt war, befindet sich in dieser Flasche; dasselbe sieht trotz des geringen Gehaltes an Bakterien trübe und weit schlechter als das bakterienreiche Spreewasser aus. Hier ist ein Beispiel von dem schlechtesten Wasser, das man wohl zur Untersuchung bekommen kann, es ist eine Platte mit einem einzigen Tropfen vom Pankewasser. Diese letzte Platte zeigt dasselbe Pankewasser bei hundertfacher Verdünnung. Die Platte mit dem unverdünnten Pankewasser enthält fast unzählbar viele Kolonien. Bei hundertfacher Verdünnung liegen die Kolonien schon so weit getrennt, daß sie zählbar werden und durch noch weitergehende Verdünnung würde man die Trennung der einzelnen Kolonien so weit treiben können, daß man aus jeder einzelnen Kolonie bequem Reinkulturen erzielen könnte. Nach dieser Methode hat Herr Professor v. R o z s a h e g y i im Gesundheitsamte eine große Reihe von Untersuchungen angestellt. Ich zeige Ihnen hier Abbildungen, die nach Platten aus diesen Untersuchungen angefertigt sind. Hier sehen Sie eine Platte mit 1 ccm Wasserleitungswasser, ferner zwei



Beispiele von Brunnenwasser. Diese Methode der Wasseruntersuchung eignet sich sehr gut zur Kontrolle der Wirkung von Filtrierapparaten. Ich lege Ihnen hier einige hierauf bezügliche Abbildungen vor. Diese erste zeigt eine Platte mit einem Tropfen von unfiltriertem Spreewasser und die zweite eine solche mit einem Tropfen Spreewasser, nachdem dasselbe durch ein Kohlenfilter gegangen war. Es ist infolge der Filtration eine gewisse Abnahme in der Zahl der Kolonien zu bemerken, aber eine so unbedeutende, daß man von einer wirklichen Reinigung des Wassers nicht sprechen kann. Nur die größeren im Wasser suspendierten Verunreinigungen mit den daran haftenden Bakterien scheinen durch das Filter zurückgehalten und dadurch die Zahl der Kolonien etwas verringert zu sein. Herr Professor v. R o z s a h e g y i hat außerdem eine Anzahl von Filterapparaten, wie sie in Haushaltungen vielfach benutzt werden, in gleicher Weise untersucht und gefunden, daß bei fast allen der Gehalt an Bakterien durch die Filtration nicht verringert wurde.

In einem kürzlich von mir untersuchten Falle hat sich sogar herausgestellt, daß ein Filtrierapparat geradezu verschlechternd auf das Wasser einwirken kann, weil die größeren vom Filter zurückgehaltenen Verunreinigungen sich schließlich in größerer Menge ansammeln, in Fäulnis übergehen und dem zu filtrierenden Wasser Bakterien in großer Zahl zuführen. Man kann nun aus dem Wasser in derselben Weise, wie ich es vorhin bei der Luft gesagt habe, Reinkulturen machen. Sie sehen hier eine Reihe solcher Reinkulturen, und ich habe gerade solche gewählt, die durch ihre Farberscheinungen charakteristisch sind. Dieselben stammen sämtlich aus Berliner Brunnenwasser.

Beiläufig sei bemerkt, daß nach demselben Prinzip die verschiedensten Substanzen untersucht werden können; man kann genau wie mit dem Wasser z. B. mit der Milch verfahren, es lassen sich schließlich auch feste Substanzen, z. B. Fäkalien, in gleicher Weise mit Nährgelatine in einem Verhältnis mengen, daß die zur Entwicklung kommenden Kolonien weit genug voneinander getrennt sind, um Reinkulturen daraus gewinnen zu können.

Es würde mir nun noch übrig bleiben, Ihnen die Anwendung dieser Methode auf die Bestimmung von Mikroorganismen im Boden auseinanderzusetzen. Nach dem Gesagten werde ich mich wohl kurz fassen können. Man verfährt entweder wie bei der Wasseruntersuchung und setzt die Erde, die man untersuchen will, der flüssigen Gelatine zu, oder man streut sie einfach auf der Oberfläche der Gelatine aus. Ich gebe Ihnen hier einige solcher Beispiele von Gelatineplatten, auf denen Erde ausgestreut ist und auf denen, wie Sie sehen, zahlreiche Kolonien von eigentümlichen Formen entstanden sind. Auch bei diesen Erduntersuchungen haben sich bereits einige interessante Tatsachen herausgestellt, an die man von vornherein nicht gedacht hatte. Sie wissen, daß nach der Anschauung von N ä g e l i die tieferen Bodenschichten im Bereich des Grundwassers eine Stätte für die umfangreichste Pilzvegetation sein sollen. Bis jetzt wüßte ich allerdings nicht, daß für diese Ansicht eine positive Unterlage gegeben wäre. Wenn man nun den Boden nach unserer Methode untersucht, so stellt sich gerade das Gegenteil von dem heraus, was die bisher geltenden Anschauungen voraussetzten. Früher schon hatte ich verschiedentlich Gelegenheit, Berliner Bodenproben zu untersuchen, und zwar waren diese absichtlich aus möglichster Nähe der Panke entnommen. Man sollte denken, daß die nächste Umgebung dieses seit langer Zeit mit einer jauchigen Flüssigkeit erfüllten Wasserlaufs von Fäulnisbakterien ganz infiltriert sein müßte. Als ich aber bei Gelegenheit eines unmittelbar neben der Panke ausgeführten Hausbaues eine Untersuchung des Bodens aus verschiedenen Tiefen vornahm, fand ich zu meiner größten Überraschung, daß nur die oberste Kulturschicht, die schwarze Erde,

welche mit Dung und Abfallstoffen vermischt ist, reich an Pilzen und Bakterien, besonders Bazillen ist. Die tieferen Schichten bis herab zum Wasserniveau der Panke waren dagegen fast frei von Bakterien, und zwar enthielten die tiefsten, dicht neben dem Bette der Panke gelegenen Schichten die wenigsten Mikroorganismen. Ich habe dann zufällig vor einigen Tagen bei einer Aufgrabung zu Kanalisationszwecken in der Nähe der Panke aufs neue Gelegenheit gehabt, Erdproben zu untersuchen. Sie sehen hier in Gläsern Proben von der oberen, schwarzen Schicht, dann eine solche aus einer Tiefe von zwei Fuß und endlich eine aus drei Fuß Tiefe. Ich lege Ihnen hier Gelatineplatten vor, auf welchen die drei verschiedenen Erdproben ausgestreut sind. Die obere Erde ist auch in diesem Falle sehr reich an Bakterien. Fast jedes Körnchen der Erde hat eine mannigfaltige Vegetation von Bakterien und Pilzmyzelien zur Entwicklung gebracht; dagegen ist auf der mit Erde aus zwei Fuß Tiefe besäten Platte fast gar nichts gewachsen, und die Erde aus drei Fuß Tiefe, welche auf dieser dritten Platte sich befindet, scheint ganz rein zu sein; wenigstens sind bis jetzt keine Kolonien zur Entwicklung gekommen. Es ist nicht unwahrscheinlich, daß später auch auf dieser Platte noch einige Kolonien entstehen; aber das geht aus diesem Versuch mit Sicherheit hervor, daß die Mikroorganismen im Boden nach der Tiefe zu nicht zunehmen, sondern fast ganz verschwinden. Mit Hilfe dieser Untersuchungsmethode muß man also zu neuen Aufschlüssen über die Beziehungen der Mikroorganismen im Boden kommen, welche uns auch zu neuen Anschauungen über die Gesundheitsschädlichkeit der Verunreinigungen des Bodens durch Mikroorganismen führen werden. Dasselbe gilt, wie wir gesehen haben, von dem Vorkommen der Mikroorganismen in Luft und Wasser.

Es würde sich nun noch fragen, welche Bedeutung man solchen Befunden beimessen soll. Soll man Luft oder Wasser oder Boden, welche Mikroorganismen in Menge enthalten, ohne weiteres für gesundheitsschädlich erklären? Davor möchte ich jedoch warnen. Es ist bis jetzt noch nicht gelungen, unter allen diesen zahlreichen in Luft, Erde und Wasser gefundenen Bakterien pathogene Arten zu finden, und es läßt sich annehmen, daß unter der großen Zahl nur verhältnismäßig sehr wenige schädliche vorkommen. Andererseits dürfen wir aber auch nicht außer acht lassen, daß, wenn man ein Wasser z. B. nach seinem Gehalte an Ammoniak, Chlor, Salpetersäure usw. beurteilt und danach allein schon für gesundheitsschädlich erklärt, es noch mehr zu solch einem Urteil berechtigen würde, wenn man in dem Wasser außerdem noch eine Menge von Mikroorganismen nachweist, selbst wenn darunter keine pathogenen gefunden sind. Außerdem ist es aber durchaus nicht unwahrscheinlich, daß es auch noch gelingen wird, die pathogenen Bakterien, z. B. die Typhusbazillen, direkt im Wasser oder Boden nachzuweisen. Denn von den pathogenen Bakterien wachsen mehrere, so z. B. die von Dr. G a f f k y in Reinkulturen gewonnenen Typhusbazillen, die Erysipelmikrokokken, die Milzbrandbazillen ausgezeichnet in derselben Nährgelatine, welche für die Untersuchung von Luft, Wasser, Boden diente. Es würde nur darauf ankommen, große Reihen von Untersuchungen anzustellen, um diese nicht überall verbreiteten pathogenen Bakterien doch irgendwo einmal anzutreffen. Ihre Unterscheidung von anderen gleichzeitig sich entwickelnden Kolonien ist nicht sehr schwierig, da sie in der Gelatine charakteristische und ziemlich leicht kenntliche Formen annehmen, was Sie an einigen Reinkulturen dieser Typhus-, Erysipel- und Milzbrandbakterien, welche ich Ihnen hier vorzeige, ersehen können.

Ich glaube, m. H., Ihnen hinreichende Beispiele dafür geliefert zu haben, daß diese neueren Untersuchungsmethoden in der Tat schon in einer Menge von Fragen auf dem Gebiete der Hygiene und der Ätiologie der Infektionskrankheiten wichtige Aufschlüsse geliefert haben. Es ist zu erwarten, daß mit Hilfe derselben auch noch wei-

tere Resultate erreicht werden und es ist deswegen erforderlich, daß ein jeder Arzt, der sich für die Ätiologie der Infektionskrankheiten und die damit zusammenhängenden Fragen der Hygiene interessiert, sich mit diesen Untersuchungsmethoden bis zu einem gewissen Grade vertraut macht. Aus diesem Grunde habe ich auch, als ich die ehrenvolle Aufforderung von seiten des Ausschusses erhielt, einen Vortrag zu übernehmen, gerade dieses Thema gewählt.

Es sollte mich freuen, wenn es mir gelungen wäre, durch das, was ich Ihnen mitgeteilt und in möglichst instruktiven Beispielen demonstriert habe, Ihnen wenigstens eine orientierende Übersicht und einen Einblick in dies neue Forschungsgebiet verschafft zu haben.

---