

# Zeitschrift für angewandte Chemie.

1901. Heft 14.

## Ein Entwurf zur einheitlichen Werthbestimmung chemischer Desinfectionsmittel mit besonderer Berücksichtigung der neueren Theorien der Lösungen.

(Ein Beitrag zu der auf der 72. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte zu Aachen, am 20. September 1900, in einer gemeinschaftlichen Sitzung der Abtheilungen Chemie und Medicin angeregten Ertheilung ärztlicher Gutachten über neu erfundene Heilmittel.)

Von Dr. Theodor Paul, a. o. Professor an der Universität Tübingen.

(Mit 8 Abbildungen im Text.)

*Inhaltsangabe:* 1. Die Unzulänglichkeit des bisher bei der Prüfung chemischer Desinfectionsmittel eingeschlagenen Weges und die Notwendigkeit eine einheitliche Werthbestimmung einzuführen. — 2. Allgemeines über Desinfection. — 3. Nach welchen Grundsätzen ist die Werthbestimmung eines chemischen Desinfectionsmittels auszuführen? — 4. Versuchsanordnung bei Prüfung der bakterientötenden Wirkung chemischer Desinfectionsmittel nach der Methode von B. Krönig und Th. Paul: Princip der Versuchsanordnung; Zubereitung der mit Bakterien beschickten Taringranaten; Ausführung des Desinfectionsversuches; die Übertragung der Bakterien auf den Nährboden; die Zubereitung des Nährbodens; Angaben über die Desinfectionsdauer und die Zahl der zu verwendenden Bakterien und anzulegenden Culturen. — 5. Nachweis für die Brauchbarkeit dieser Prüfungsmethode. — 6. Welche Concentrationen sollen die Lösungen eines Desinfectionsmittels bei der Bestimmung der bakterientötenden Wirkung haben? — 7. Zusammenstellung der Daten, welche für die einheitliche Werthbestimmung eines Desinfectionsmittels und für die Beurtheilung seiner Verwendung in der Praxis notwendig oder wünschenswerth sind. — 8. Schlussbetrachtungen über die Beziehungen, welche zwischen der bakterientötenden Wirkung eines Stoffes und dessen physiologischem und pharmakologischem Verhalten bestehen.

### I. Die Unzulänglichkeit des bisher bei der Prüfung chemischer Desinfectionsmittel eingeschlagenen Weges und die Notwendigkeit eine einheitliche Werthbestimmung einzuführen.

Seitdem uns Robert Koch in Gemeinschaft mit seinen Schülern mit einer Reihe chemischer Stoffe bekannt machte, denen eine mehr oder weniger bedeutende Desinfectionskraft zukommt, hat man sich unablässig bemüht, neue Desinfectionsmittel unter den bekannten chemischen Stoffen auf-

zufinden oder neue Verbindungen eigens zu diesem Zwecke herzustellen. Besonders die Fabriken pharmaceutisch-chemischer Präparate haben es sich angelegen sein lassen, eine Fülle neuer Körper synthetisch darzustellen, so dass die Zahl der gegenwärtig bekannten Desinfectionsmittel sehr gross ist. Da es aber leider bisher an einer einwandfreien, einheitlichen Methode fehlte, nach welcher der Desinfectionswert eines chemischen Stoffes im Laboratorium bequem festgestellt werden kann, waren die Fabrikanten darauf angewiesen, das betreffende Präparat dem Leiter eines grösseren chirurgischen Krankenhauses oder auch einem praktischen Arzt mit der Bitte zu übersenden, dasselbe auf seinen Desinfectionswert und seine Brauchbarkeit praktisch zu erproben. Abgesehen davon, dass die praktische Anwendung eines neuen Stoffes unter keinen Umständen eher erfolgen sollte, als seine desinficirenden Eigenschaften nach allen Seiten hin festgestellt und seine etwaige Giftwirkung auf den thierischen und menschlichen Organismus pharmakologisch untersucht worden ist, muss die Ausführung der bakteriologischen Prüfung vom Leiter jener Anstalten aus Mangel an Zeit meist jüngeren Assistenzärzten überwiesen werden, denen vielfach die nöthige Erfahrung in diesen Dingen fehlt. Gerade die bakteriologische Prüfung eines Desinfectionsmittels und die sich darauf aufbauende Beurtheilung seines Werthes für die Praxis erfordern aber eine so vielseitige naturwissenschaftliche und besonders chemische Vorbildung, dass es nur zu verständlich ist, warum die verschiedenen Experimentatoren in der Regel zu so verschiedenen Resultaten kommen, wie wir sie häufig in der bakteriologischen und medicinischen Litteratur finden. Die klinischen Resultate dürfen nur ausnahmsweise und auch dann nur mit grosser Vorsicht verwerthet werden und können niemals die objective bakteriologische Prüfung ersetzen, da bei ihnen die Zufälligkeiten eine so bedeutende Rolle spielen.

Diesen Thatsachen gegenüber musste es als eine dankenswerthe Aufgabe erscheinen, ein Verfahren auszuarbeiten, nach welchem die bakteriologische Prüfung eines chemischen Desinfectionsmittels im Laboratorium ausgeführt werden kann, und das die Beurtheilung

von dessen Werth und Anwendung nach einem einheitlichen Maassstabe gestattet. Schon früher sind in dieser Beziehung mehrfach Vorschläge gemacht worden, so z. B. von Max Gruber<sup>1)</sup> (Wien) auf dem VII. internationalen Congress für Hygiene und Demographie zu London 1891, doch haben dieselben, trotzdem sie sich auf vorzügliche experimentelle Erfahrungen stützten, keine allgemeine praktische Verbreitung erlangt. Die Einführung allgemeiner einheitlicher Untersuchungsmethoden und Maasseinheiten pflegt auf allen Gebieten der Wissenschaft einen ganz bestimmten Gang zu nehmen. Vom rein wissenschaftlichen Standpunkt aus betrachtet, sind solche Maassnahmen wohl sehr wünschenswerth, doch sind sie für das Fortschreiten der Wissenschaft nicht unumgänglich nöthig und deshalb unterbleiben sie. Erst, wenn sich die Praxis dieser Dinge bemächtigt und grössere materielle Interessen in Frage kommen, werden einheitliche Untersuchungs- und Bestimmungsmethode vereinbart und schliesslich gesetzlich eingeführt. So kam es u. a. zur Einführung der Pharmacopöen, zur gesetzlichen Regelung bei Untersuchung der Nahrungsmittel und Gebrauchsgegenstände und zur gesetzlichen Festlegung elektrischer Maasseinheiten und Maassmethoden. Als Beispiel aus der jüngsten Zeit sei an die Referate „Über Ertheilung ärztlicher Gutachten über neu erfundene Heilmittel“ erinnert, welche auf der 72. Versammlung deutscher Naturforscher und Ärzte zu Aachen im September vorigen Jahres in einer gemeinschaftlichen Sitzung der Abtheilungen Chemie und Medicin erstattet wurden. Wie einer der betreffenden Herren Referenten, Prof. Dr. Wilh. His jun. in Leipzig, ausführte<sup>2)</sup>, „ist das planmässige Aufsuchen und Darstellen neuer Arznei- und Nährmittel heute ein wichtiger Zweig der chemischen Industrie, der eine gewaltige ökonomische Bedeutung für das Deutsche Reich besitzt, Tausende von Arbeitern und Hunderte von wissenschaftlichen Kräften andauernd und intensiv beschäftigt. Unter den Producten, welche diese Thätigkeit gezeigt hat, sind nicht wenige, die den Ansturm der Mode überdauert und sich in unserem Arzneischatz fest eingebürgert haben, die wir nicht mehr missen möchten, und für deren Erfindung und Darstellung Ärzte und leidende Menschen allen Grund haben, der Industrie dankbar zu sein. Es handelt sich darum, Normen zu finden für einen Zweig der ärztlichen Thätigkeit (gemeint ist die

Ertheilung ärztlicher Gutachten über neu erfundene Heilmittel), der durch die heutige Entwicklung der Heil- und Nährmittel-industrie zum Bedürfniss geworden ist, der aber andererseits so viel Missstände gezeigt hat, dass deren Besprechung an weithin sichtbarer Stelle gewiss ihre hohe Berechtigung hat“. Da die Desinfectionsmittel ebenfalls zu den „Heilmitteln“ im weiteren Sinne des Wortes gehören, hat auch die Frage nach einer einheitlichen Regelung ihrer Werthbestimmung actuelles Interesse erlangt und drängt in absehbarer Zeit zu einem Abschlusse.

In dieser Abhandlung soll der Versuch gemacht werden, für die Werthbestimmung chemischer Desinfectionsmittel ein einheitliches Verfahren anzubauen. Wie gleich im Voraus bemerk't werden soll, bezweckt dieser Entwurf nicht, Normen für die gesamte bakteriologische Prüfung und Begutachtung zu schaffen, sondern nur für einen Theil derselben, die Feststellung der keimtödenden Wirkung eines Stoffes, die experimentellen Grundlagen in einem fest begrenzten Rahmen darzulegen. Eine nach diesen Grundsätzen ausgeführte Werthbestimmung wird den Fabrikanten instandsetzen, sich in kurzer Zeit Aufklärung über die desinficirenden Eigenschaften eines neuen Stoffes zu verschaffen, und die auf diese Weise ermittelten Daten, welche jeder Zeit nachgeprüft werden können, geben die Grundlagen für die weitere bakteriologische und klinische Prüfung ab. Ich verkenne nicht, dass dem nachstehend beschriebenen Verfahren noch mancherlei Mängel anhaften, doch steht zu erwarten, dass es durch weitere Vorschläge und Verbesserungen allen Anforderungen gerecht werden wird. Da diese Methode der Werthbestimmung in erster Linie praktischen Interessen dienen soll, habe ich gerade diese Zeitschrift für die Veröffentlichung gewählt, auch hat mich hierzu noch ein anderer Grund veranlasst. Wie ich in einer früheren Abhandlung<sup>3)</sup> dargethan habe, hat die Desinfectionslehre, besonders soweit es sich um Salze, Säuren und Basen handelt, durch die modernen physikalisch-chemischen Theorien eine tief eingreifende Umwandlung erfahren, welche auch für die Praxis von Bedeutung ist. Der Umstand, dass diese praktischen Consequenzen sich bisher nur auf

<sup>1)</sup> Vergl. das Referat im Centralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde 11, 115 (1892).

<sup>2)</sup> Sonderabdruck aus dem „Ärztlichen Vereinsblatt für Deutschland“ Jahrgang 1900, No. 433.

<sup>3)</sup> Theodor Paul, Die Beziehungen der pharmaceutischen Chemie zur Bakteriologie (Vortrag, gehalten auf der 29. Hauptversammlung des Deutschen Apothekervereins in Stuttgart vom 3. bis 6. September 1900). Pharmaceutische Zeitung 1900, No. 72—74.

wenige Nutzanwendungen beschränken<sup>4)</sup>), obgleich die grundlegenden Experimentaluntersuchungen<sup>5)</sup> schon vor mehreren Jahren veröffentlicht worden sind, ist zum Theil darauf zurückzuführen, dass die medicinischen Vertreter der Bakteriologie, in deren Händen gegenwärtig nicht nur die wissenschaftliche Desinfectionslehre, sondern auch deren praktische Anwendung fast ausschliesslich liegen, mit jenen modernen Lehren nicht in dem Maasse vertraut sein können, wie es für den vorliegenden Fall unbedingt nothwendig ist. Aus diesem Grunde halte ich es für sehr zweckmässig, dass sich auch die pharmaceutischen Chemiker an der experimentellen Erforschung dieses Gebietes der Bakteriologie betheiligen, welche sich vielfach im Rahmen des chemischen Experiments abspielt und zweifellos ebenso gut zu einem Theile der angewandten Chemie, speciell der pharmaceutischen Chemie gehört, wie zur Medicin. Ich habe diese Anschauungen in dem obenerwähnten Vortrage ausführlich auseinandergesetzt und darf es in meiner Eigenschaft als Arzt auch hier nochmals aussprechen, dass gewisse Zweige der Bakteriologie, deren Schwerpunkt auf chemischem Gebiete liegt, erst durch die Mitarbeiterchaft der wissenschaftlich thätigen Apotheker erschlossen werden und auf andere Wissensgebiete befruchtend einwirken können. Ehe wir zur Beschreibung der Werthbestimmung der Desinfectionsmittel übergehen, sollen mit Rücksicht auf die der Bakteriologie etwas ferner stehenden Leser dieser Zeitschrift einige Punkte aus der Desinfectionsllehre kurz besprochen werden.

## 2. Allgemeines über Desinfection.

Wenn wir das Verhalten eines chemischen Stoffes zu den Bakterien prüfen wollen, haben wir zwei Punkte streng zu scheiden: die entwickelungshemmende Wirkung und die bakterientödtende Wirkung. Unter

<sup>4)</sup> Vergl. u. A. O. v. Sicherer, Über den antiseptischen Werth des Quecksilberoxycyanids. Münchener medicin. Wochenschrift 47, 1002 (1900). Die Anwendung der elektrolytischen Dissociationslehre veranlasste B. Krönig und M. Blumberg zur Einführung des Quecksilberäthylendiamins in die Händedesinfectionspraxis. Münchener medicinische Wochenschrift 47, 1044 (1900).

<sup>5)</sup> Th. Paul und B. Krönig, Über das Verhalten der Bakterien zu chemischen Reagentien. Zeitschrift für physikalische Chemie 21, 414 (1896).

Dieselben, Die gesetzmässigen Beziehungen zwischen Lösungszustand und Wirkungswert der Desinfectionsmittel. Münchener medicin. Wochenschrift 1897, No. 12.

Dieselben, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfection. Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten 25, 1 (1897).

der entwickelungshemmenden Wirkung eines Stoffes verstehen wir die Fähigkeit desselben, das Wachsthum und die Vermehrung der Bakterien so lange zu verhindern, als er im Nährboden der betreffenden Bakterien anwesend ist. Entfernt man ihn oder verpflanzt man die Bakterien auf einen anderen geeigneten Nährboden, so entwickeln sie sich sofort weiter. Es beruht also die Entwicklungshemmung auf einer mehr oder weniger weitgehenden Verzögerung der Lebensthätigkeit. Mit der bakterientödtenden Wirkung eines Stoffes ist ein so weitgehender Eingriff in die Lebensthätigkeit der Bakterien verbunden, dass diese auch nach der Entfernung des betreffenden Stoffes nicht im Stande sind, sich weiter zu entwickeln.

Setzen wir z. B. zu Nährgelatine eine geringe Menge Quecksilberchlorid (nach R. Koch genügt hierzu ein Gehalt von 1 : 1000000), so wachsen Milzbrandbacillen, welche auf diese Gelatine gebracht werden, nicht weiter. Dass aber nur eine Entwicklungshemmung und keine Abtötung vorliegt, sehen wir daran, dass die Milzbrandbacillen sofort weiter wachsen, wenn wir sie auf normale Nährgelatine übertragen. Erst wenn wir die Bacillen sehr lange auf der quecksilberhaltigen Gelatine lassen, degenerieren sie allmäthlich und gehen zu Grunde. Wir können daraus schliessen, dass unter sonst gleichen Verhältnissen für die Entwicklungshemmung nur die Concentration des giftigen Stoffes in Frage kommt, wird diese überschritten, so hört das Wachsthum der Bakterien innerhalb gewisser Grenzen auf. Diese Concentration ist für dasselbe Desinfectiens bei den verschiedenen Bakterienarten sehr verschieden und schwankt auch bei denselben Individuen sehr bedeutend, je nach der Zusammensetzung des Nährbodens, der Temperatur, dem Feuchtigkeitsgrad, dem Alter der Culturen etc. Bringt man dagegen die Milzbrandbacillen in eine wässrige Sublimatlösung, lassen sie eine gewisse Zeit lang darin liegen und übertragen sie dann nach sorgfältigster Entfernung des Sublimats auf einen geeigneten Nährboden, so gedeihen sie nicht, auch wenn wir ihnen die günstigsten Wachstumsbedingungen geben. Die Bakterien sind abgetötet. Das Eintreten dieses Effectes hängt von zwei Factoren ab: von der Concentration der Sublimatlösung und von der Dauer ihrer Einwirkung. Mit einer schwachen Sublimatlösung können wir die Abtötung ebenso gut bewirken, wie mit einer starken, nur müssen wir die schwächere entsprechend länger auf die Mikroorganismen einwirken lassen; die schwächere Concentration können wir also durch die Dauer der Einwir-

kung compensiren. Es besteht demnach ein prinzipieller Unterschied zwischen Entwickelungshemmung und bakterientödender Wirkung: bei der entwickelungshemmenden Wirkung kommt im Allgemeinen die Zeit der Einwirkung nicht in Betracht, es ist vielmehr nur die Concentration des wirksamen Stoffes maassgebend, dagegen hängt die keimtödende Wirkung einer Lösung sowohl von der Concentration des wirksamen Stoffes, als auch von der Zeit der Einwirkung ab. Wir können daher nicht ohne weiteres aus der bakterientödenden Kraft eines Desinficiens einen Rückschluss auf seine entwickelungshemmende Wirkung ziehen und umgekehrt. Immerhin hat die Erfahrung gelehrt, dass ein Stoff, welcher die Bakterien in kurzer Zeit abtötet, auch stark entwickelungshemmend wirkt, doch ist hierbei stets in Betracht zu ziehen, dass viele Stoffe (und zu diesen gehören u. a. die umfangreiche Klasse der Salze der Schwermetalle und die starken Oxydationsmittel: Chlor, Brom, Jod, Kaliumpermanganat etc.) durch die im Nährboden enthaltenen Substanzen so tiefgreifende Umwandlungen erleiden können, dass ihr chemischer Charakter gegenüber dem in wässriger Lösung vollkommen verändert wird. So tödtet z. B. das Chlorwasser auch die resistentesten Milzbrandsporen innerhalb weniger Minuten ab, während es als entwickelungshemmendes Mittel ganz unbrauchbar ist, da das Chlor die organischen Substanzen der Nährböden sehr energisch oxydiert und dabei in indifferente Verbindungen übergeht. Andererseits ist die bakterientödende Wirkung complexer Metallsalze wie z. B. der complexen Cyanide des Silbers und Quecksilbers und der Silber- und Kupferammoniakverbindungen nur sehr gering, während diese Verbindungen auch noch in sehr grossen Verdünnungen eine mächtige entwickelungshemmende Wirkung entfalten. Mit Rücksicht auf diese Verhältnisse soll in diesem Entwurf ausschliesslich die Werthbestimmung der chemischen Desinfectionsmittel in Bezug auf ihre keimtödende Wirkung behandelt werden. Wir wollen nun dazu übergehen, den Maassstab festzulegen, den man bei der Beurtheilung der keimtödenden Wirkung anlegen soll, und die näheren Bedingungen zu besprechen, welche bei der experimentellen Ausführung der Prüfung eingehalten werden müssen.

### 3. Nach welchen Grundsätzen ist die Werthbestimmung eines chemischen Desinfectionsmittels auszuführen?

Der Weg, den wir hierbei einzuschlagen haben, ist schon durch zahlreiche Unter-

suchungen vorgezeichnet. Man bringt eine gewisse Anzahl Bakterien einer bestimmten Art in die Desinfectionslösung und untersucht, wie viele Individuen sich nach verschiedenen Zeitabschnitten noch lebensfähig erweisen und nach welcher Zeit sämmtliche Keime abgetötet sind. Dieses Verfahren führt aber auch unter Beobachtung der gleichen Versuchsbedingungen zu verschiedenen Resultaten, weil die Widerstandsfähigkeit der Bakterien derselben Species auch dann noch sehr erheblich schwankt, wenn sie unter gleichen Culturbedingungen gezüchtet werden, und weil sogar Individuen derselben Cultur sich je nach ihrem Alter und der Art der Aufbewahrung sehr verschieden verhalten. Das Ergebniss der Prüfung richtet sich demnach ganz nach dem jeweiligen Grad der Widerstandsfähigkeit der benutzten Bakterien, und dementsprechend sind auch die auf diese Weise ermittelten Angaben zu beurtheilen. Früher, als man das verschiedene Verhalten der Mikroorganismen in dieser Beziehung noch nicht genügend kannte, pflegte man dies Verfahren allgemein anzuwenden, und auch heute noch begegnet man öfters Angaben, wie z. B. Milzbrandsporen werden in einer 2 proc. Lösung innerhalb von 10 Minuten abgetötet. Solche Bestimmungen haben nur qualitativen Werth, und können für eine quantitative Werthbestimmung nicht benutzt werden. Es ist deshalb nothwendig, die oben angegebene Prüfung nicht nur mit dem fraglichen Desinfectionsmittel auszuführen, sondern auch gleichzeitig Bakterien derselben Cultur und gleichen Alters der Einwirkung bekannter Desinfectionsmittel auszusetzen, um damit einen Maassstab für die Resistenz der benutzten Mikroorganismen zu gewinnen. Aus später zu erörternden Gründen wählt man hierzu am besten ein chemisch verwandtes Desinfectionsmittel, wie z. B. für Quecksilbersalze das Quecksilberchlorid, für Silbersalze das salpetersaure Silber, für Phenole und Kresole die Karbolsäure, für Säuren und Basen die Salzsäure und die Kalilauge etc. Da das Sublimat in der Desinfectionspraxis eine sehr grosse Rolle spielt, stellt man neben dem eben erwähnten Vergleichsdesinfectiess ähnlicher chemischer Zusammensetzung bei allen Werthbestimmungen auch noch vergleichende Versuche mit Sublimatlösungen an. Mit Hülfe der auf diese Weise erhaltenen Resultate vermag dann jeder Sachverständige unter Berücksichtigung der sonstigen spezifischen Eigenschaften des betreffenden Desinfectionsmittels, wie z. B. Löslichkeit in Wasser, Verhalten zu Eiweissstoffen und zu Metallen, Geruch, Flüchtigkeit etc. sich ein ungefähres Bild von der Brauchbarkeit und dem Werth desselben zu machen, welches

dann nur noch durch die Untersuchung der Entwicklungshemmung zu vervollständigen ist.

Es handelt sich nun darum, die Bedingungen festzustellen, welche bei der Ausführung der Desinfectionsversuche eingehalten werden müssen, um direct vergleichbare Resultate zu erhalten. Im Anschluss an die in der Litteratur über diesen Gegenstand schon vorliegenden Angaben haben B. Krönig und Th. Paul<sup>6)</sup> folgende Forderungen als unbedingt nothwendig befunden:

1. Die für eine vergleichende Versuchsreihe benutzten Bakterien müssen gleiche Widerstandsfähigkeit haben.

2. Die Anzahl der zu den einzelnen Versuchen verwendeten Bakterien muss annähernd die gleiche sein.

3. Die Bakterien müssen in die desinfizirende Lösungen gebracht werden, ohne dass etwas von dem Nährsubstrat, auf dem sie gezüchtet wurden, mit übertragen wird.

4. Die Desinfectionslösungen müssen während der Einwirkung stets die gleiche Temperatur haben.

5. Nach der Einwirkung der desinfizirenden Mittel müssen die Bakterien wieder möglichst vollständig von diesen befreit werden.

6. Die Bakterien müssen, nachdem sie der Einwirkung der desinfizirenden Lösungen ausgesetzt sind, auf gleichen Mengen desselben günstigen Nährbodens bei gleicher Temperatur, wenn möglich beim Optimum, zum Wachsthum gebracht werden.

7. Die Zahl noch entwickelungsfähig gebliebenen Bakterien muss nach Ablauf derselben Zeit festgestellt werden. Aus diesem Grunde können nur feste Nährböden benutzt werden.

8. Handelt es sich um wissenschaftliche Untersuchungen, dürfen die Concentrationen der Lösungen nicht nach Gewichtsprozenten verglichen werden, sondern es müssen äquimolekulare Mengen der betreffenden Stoffe zur Anwendung kommen.

Betreffs der ausführlichen Begründung und Erläuterungen zu diesen Forderungen verweise ich auf die schon mehrfach erwähnte Abhandlung (Seite 3 ff.), doch sollen bei Befprechung der näheren Versuchsbedingungen des besseren Verständnisses wegen auch hier einige erläuternde Angaben Platz finden.

<sup>6)</sup> Diese Versuchsbedingungen, wie auch viele der später folgenden eingehenden Angaben über die Versuchsanordnung sind der ausführlichen Abhandlung entnommen: B. Krönig und Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfection. Zeitschrift für Hygiene und Infectionskrankheiten 25, 1 (1897).

#### 4. Versuchsanordnung bei Prüfung der bakterientödenden Wirkung chemischer Desinfectionsmittel nach der Methode von B. Krönig und Th. Paul.

Princip dieser Versuchsanordnung. Von den Bakterien wird eine wässrige Aufschwemmung bereitet und diese nach dem Filtriren an sorgfältig gereinigte böhmische Tarigranaten gleicher Grösse angetrocknet. Eine gewisse Menge dieser mit Bakterien beschickten Granaten bringt man in die auf einer bestimmten Temperatur gehaltene Desinfectionslösung, nimmt eine bestimmte Anzahl derselben nach verschiedenen passend gewählten Zeitabschnitten heraus, und befreit sie durch Behandeln mit geeigneten Chemikalien vom anhängenden Desinficiens. Nach nochmaligem Abspülen mit Wasser werden die Granaten in Reagensgläschchen energisch mit etwas Wasser geschüttelt, wobei die Bakterien von den Granaten losgelöst werden, hierauf mischt man die so erhaltene wässrige Bakterienaufschwemmung mit einem geeigneten fest werdennden Nährboden, giesst in Petri'sche Schalen aus und stellt nach gewissen Zeitabschnitten die Zahl der bei einer bestimmten Temperatur entwickelten Colonien fest.

Bezüglich der Wahl der Bakterien ist Folgendes zu bemerken. Man ermittelt zunächst durch einige Vorversuche, zu welcher Classe von Desinficientien der fragliche Stoff gehört, ob er innerhalb eines nicht zu langen Zeitraumes (bis zu einigen Tagen) Sporen, d. h. die Dauerformen der Bakterien abtötet vermag, oder ob sich seine Wirkung nur auf die vegetativen Formen erstreckt. Die Widerstandsfähigkeit der Bakterien in diesen beiden Zuständen ist bekanntlich außerordentlich verschieden; während der Dauer ihres Wachsthums und Vermehrung, also in ihren vegetativen Formen, sind sie sehr empfindlich gegen äussere Einflüsse und Giftstoffe, die Sporen sind dagegen sehr widerstandsfähig. So sind Sporen beobachtet worden, die nach stundenlangem Verweilen in flüssiger Luft (bei ca. — 190° C.), sowie in strömendem Wasserdampf noch auskeimten. Ich habe wiederholt Milzbrandsporen gezüchtet, die noch entwickelungsfähig blieben, nachdem sie 25 Minuten in wässriger 2 prozentiger Quecksilberchloridlösung gelegen hatten. Die Zählebigkeit der Sporen ist es besonders, welche die Desinfection der Gebrauchsgegenstände so sehr erschwert; dieselbe Eigenschaft ist es aber auch, welche es ermöglicht, vergleichende Versuche mit starkwirkenden Desinfectionsmitteln in grösseren Concentrationen anzustellen. Da die vegetativen Formen nach dem Antrocknen an die Granaten meist schon

nach einigen Tagen absterben, müssen diese öfters von neuem mit Bakterien beschickt werden, was nicht nur ziemlich zeitraubend ist, sondern auch immer neue Vorversuche zur Prüfung der Widerstandsfähigkeit nötig macht. Ferner darf nicht unerwähnt bleiben, dass die vegetativen Formen der Bakterien oft sehr empfindlich gegen einen plötzlichen Wechsel des osmotischen Druckes der sie umgebenden Flüssigkeiten sind, so dass sie innerhalb kurzer Zeit zu Grunde gehen, wenn sie aus Bouillon in reines Wasser oder in eine concentrirtere indifferent Salzlösung gebracht werden. Wenn es irgend angängig ist, soll man deshalb die Werthbestimmung der Desinfectionsmittel mit Sporen ausführen, deren Resistenz durch das Austrocknen nur wenig leidet beim Aufbewahren im Eisschrank erst nach Wochen allmählich sinkt und innerhalb eines Zeitabschnittes von einigen Tagen als constant angenommen werden kann. Außerdem haben B. Krönig und ich durch besondere Versuche mit verschiedenen Desinfectionsmitteln dargethan, dass die mit Sporen gewonnenen Resultate auf die vegetativen Formen übertragen werden können, da die Desinficientien dieselbe Reihenfolge in Bezug auf ihre keimtödende Wirkung beibehalten, gleichgültig, ob sie auf Sporen oder vegetative Formen zur Einwirkung gelangen. Wie ich ferner in jüngster Zeit nachweisen konnte, bleiben die Verhältnisse dieselben, wenn man die Versuche mit frischen Bakterienaufschwemmungen oder mit den an die Granaten angetrockneten Bakterien ausführt. Dieser Umstand ist deshalb sehr wichtig, weil das Arbeiten mit frischen Bakterienaufschwemmungen mit so vielen Schwierigkeiten verknüpft ist, dass ihre Benutzung zu einer praktischen Prüfungsmethode fast ganz ausgeschlossen ist; denn abgesehen davon, dass jede Bakterienaufschwemmung in Folge des Filtriren im gleichen Volum eine sehr verschiedene Anzahl von Individuen enthält, Letztere ausserdem sehr verschiedene Widerstandsfähigkeit besitzen, so dass sich zahlreiche Vorprüfungen und öftere Wiederholungen der Versuche nötig machen, gelingt es nicht, die Bakterien auf die Nährböden zu bringen, ohne dass ein Theil des Desinficiens bez. der zur Unschädlichmachung desselben benutzten Chemikalien mit übertragen wird. Wie Geppert nachgewiesen hat, können aber ausserordentlich kleine Mengen derartiger Verunreinigungen die Weiterentwicklung der zwar geschwächten, aber entwicklungsfähig gebliebenen Bakterien verhindern und einen Desinfectionserfolg vortäuschen. Die an den Granaten angetrockneten Bakterien sind, wie B. Krönig und ich durch ausserordentlich

zahlreiche Versuche bewiesen haben, für die Desinfectionslösung vollkommen zugänglich und haften doch so fest, dass sich nur verhältnissmässig wenige beim Verweilen in diesen Flüssigkeiten und beim Waschprocess loslösen. Ausserdem ist die Zahl der auf diese Weise verloren gehenden Bakterien durchschnittlich dieselbe, so dass das procentuarische Verhältniss keine Änderung erleidet. Andererseits wird durch anhaltendes kräftiges Schütteln mit Wasser der grösste Theil der angetrockneten Bakterien und auch hier immer wieder derselbe Procentsatz von den Granaten losgesprengt und im Schüttelwasser vertheilt. Die sorgfältig präparirten Tarigranaten haben vor den Glas- und Porzellanzäppchen oder -Perlen und den Metallkügelchen den grossen Vorzug, dass sie beim Einbringen in die Desinfectionslösungen sofort gleichmässig besetzt werden.

Schliesslich noch einige Worte über die Wahl der zur Prüfung der Desinfectionsmittel zu verwendenden Bakterien. Zu den Versuchen mit den vegetativen Formen wählt man am besten den *Staphylococcus pyogenes aureus*, weil er als Eitererreger bei der Wundinfection eine bedeutende Rolle spielt und als Typus dieser Art von Mikroorganismen aufgefasst werden kann; ferner ist bei ihm noch keine Sporenbildung beobachtet worden, und ausserdem ist er stets sehr leicht zu beschaffen. Als Dauerform hat sich am besten die Spore des Milzbrandbacillus (*Bacillus anthracis*) bewährt, welche im Vergleich zu den Sporen anderer Bakterienarten eine mittlere Resistenz gegen Desinficientien besitzt und auf den gebräuchlichen Nährböden bei Bluttemperatur sehr gut gedeiht. Sie wurde wegen dieser Eigenschaften auch schon von Robert Koch bei seinen classischen Desinfectionversuchen benutzt. Der Milzbrandbacillus bildet ferner auf den festen Nährböden, welche hier nur in Frage kommen können, sehr charakteristische Colonien, die leicht von anderen zufällig hinzugekommenen Keimen unterschieden werden können, und ausserdem breiten sich die Milzbrandcolonien nur so langsam aus, dass es noch nach 24 Stunden gelingt, auf der Fläche einer Petri'schen Schale von ca. 65 qcm 6000 Colonien mit der Lupe und einem Wolffhügel'schen Apparat zu zählen. Schliesslich lässt sich der Milzbrandbacillus gegebenenfalls sehr bequem zum Thierexperiment verwenden. Der einzige Nachtheil, welcher den beiden genannten Bakterienarten anhaftet und besonders für die Milzbrandspore in Betracht kommt, ist ihre Pathogenität für den Menschen. Die Gefahr lässt sich aber leicht beseitigen, wenn man sich daran gewöhnt, wie dies ja

ohnehin bei allen bakteriologischen Arbeiten vorgeschrieben ist, alle Geräthe ohne Ausnahme nach dem Gebrauch  $\frac{1}{2}$  bis 1 Stunde mit einer halbprozentigen wässerigen Sodalösung auszukochen. Werden solche Werthbestimmungen in grösserer Anzahl ausgeführt, so empfiehlt sich die Benutzung des von B. Krönig und Th. Paul<sup>7)</sup> construirten Apparates zur Sterilisirung von Laboratoriumsgeräthen, von dem Fig. 1 eine Totalansicht und Fig. 2 einen Verticalschnitt zeigt, und in welchem gleichzeitig Schaalens und Reagensgläser mit Culturen, zerbrechliche Glasgeräthe

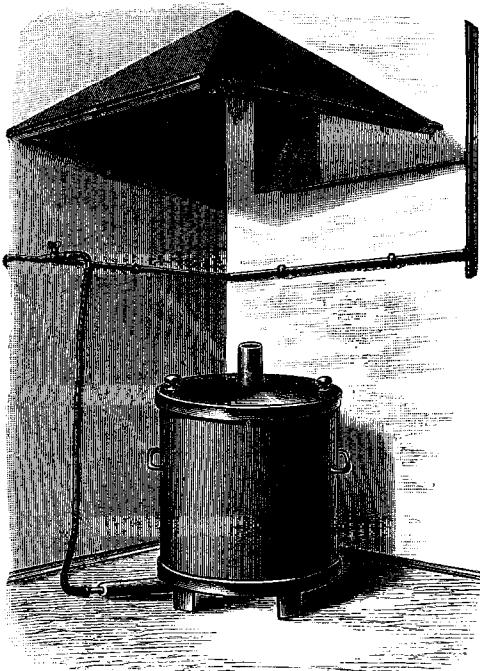


Fig. 1.

Apparat nach B. Krönig und Th. Paul  
zur Sterilisirung von Laboratoriumsgeräthen bei  
Versuchen mit pathogenen Mikroorganismen.  
(Totalansicht.)

und massivere Gegenstände durch Auskochen mit halbprozentiger wässriger Sodalösung keimfrei gemacht werden können, ohne ein Zerbrechen durch die wallende Bewegung des siedenden Wassers befürchten zu müssen. Da auch die Aussenwände des Behälters mit den zu sterilisirenden Gegenständen von der siedenden Sodalösung umspült werden, kann dieser nach beendeter Sterilisation mit seinem Inhalt in beliebige Arbeitsäume gebracht und dort ohne jede Infectiongefahr gereinigt werden.

Zubereitung der mit Bakterien beschickten Tarirgranaten. Zur Erzielung

<sup>7)</sup> B. Krönig und Th. Paul, Ein Apparat zur Sterilisirung von Laboratoriumsgeräthen bei Versuchen mit pathogenen Mikroorganismen. Münchener medicin. Wochenschrift No. 46 (1899).

von 50 ccm wässriger Bakterienaufschwemmung hat man ungefähr 15 auf schrägerstarrten Agarröhrchen angelegte Reinculturen nöthig. Die Staphylococcenculturen verwendet man, nachdem sie 1—2 Tage im Brutschrank bei ca.  $37,5^{\circ}$  gestanden haben. Die Milzbrandculturen, zu deren Anlegung man am besten eine frische, aus der Milz einer unmittelbar vorher an Milzbrand gestorbenen Maus gewonnene Reincultur benutzt, hält man 3 Tage lang bei ca.  $24^{\circ}\text{C}.$ , um die Bildung von Sporen zu veranlassen. Auch Kartoffelscheiben eignen sich zur Cultur sehr gut, nur hat man Sorge zu tragen, dass die den Kartoffeln häufig anhängenden äusserst resistenten Sporen gewisser Erdbakterien durch wiederholtes Sterilisiren abgetötet werden.

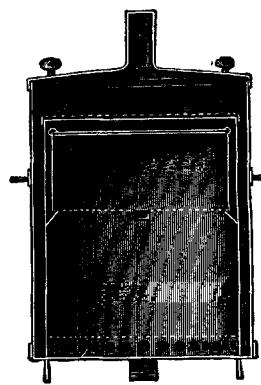


Fig. 2.

Apparat nach B. Krönig und Th. Paul  
zur Sterilisirung von Laboratoriumsgeräthen bei  
Versuchen mit pathogenen Mikroorganismen.  
(Verticalschnitt.)

(Die obere Abtheilung des herausnehmbaren Einsatzgefäßes dient zur Aufnahme der Reagensgläser und anderer kleiner Geräthe. In die untere geräumigere Abtheilung werden die Petri'schen Schalen, Glaskolben und grössere Gegenstände gebracht.)

Die Zubereitung der Bakterienemulsion geschieht in der Weise, dass man 2—3 Tropfen steriles destillirtes Wasser über die Oberfläche der Cultur fliessen lässt, den Bakterienbelag mittels steriler Platinöse mit dem Wasser verreibt und den so erhaltenen dünnen Brei mit ein wenig Wasser in einen Schüttelcylinder spült, wobei sorgfältig darauf zu achten ist, dass möglichst wenig Nährboden in die Emulsion gelangt. Nachdem die Bakterienaufschwemmung auf das gewünschte Volum verdünnt worden ist, schüttelt man einige Minuten gut durch und filtrirt durch ein im Dampfapparat auf dem Glastrichter sterilisirtes und kurz vorher mit steriles Wasser angefeuchtetes Filter. Es versteht sich von selbst, dass man zu allen diesen, wie auch den folgenden Arbeiten nur sterilisierte Geräthe, sterilisiertes destillirtes Wasser und andere sterilisierte Flüssigkeiten, soweit diese nicht an und für sich steril sind, be-

nutzen darf. Zum Aufbewahren und zur Entnahme sterilisirter Flüssigkeiten bedient man sich am besten der in Fig. 3 abgebildeten Vorrichtung, bei welcher die durch einen Quetschhahn verschliessbare Ausflussöffnung durch einen Überfangzylinder vor Verunreinigungen geschützt ist, während die nachströmende Luft durch einen mit Watte gefüllten Cylinder sterilisiert wird. Der ganze Apparat nebst Inhalt wird, sofern die betreffenden Flüssigkeiten nicht darunter Schaden leiden, im Dampfapparat

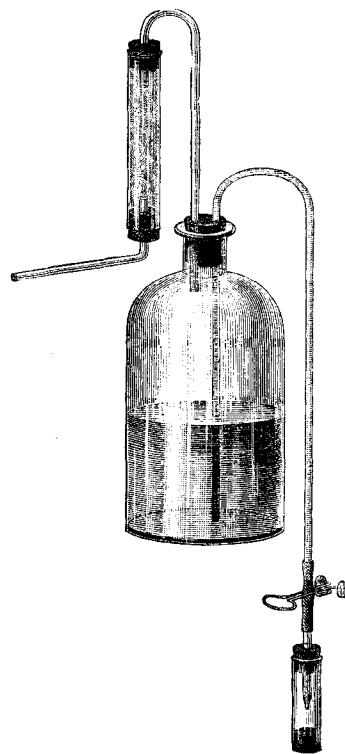


Fig. 3.

Flasche mit Watteverschluss und Hebervorrichtung zum Aufbewahren und zur Entnahme steriler Flüssigkeiten.

sterilisiert, und ist es im Interesse der Haltbarkeit angezeigt, statt der in der Figur abgebildeten Standflasche dünnwandige Kochflaschen oder Erlenmeyer'sche Kolben zu verwenden. Im anderen Falle werden Apparat und Flüssigkeit getrennt sterilisiert.

Die im Handel vorkommenden rohen böhmischen Tarigranaten, an welche die Bakterien angetrocknet werden sollen, haben in der Regel sehr verschiedene Grösse und enthalten außerdem allerlei Verunreinigungen, von denen sie zuvor befreit werden müssen. Zunächst sucht man mittels zweier passender Siebe Granaten möglichst gleicher Grösse aus; dabei kommt es auf die absoluten Maasse gar nicht an, sondern nur darauf, dass sie unter einander gleich gross sind. Gesteinsreste, welche durch ihre Farbe kenntlich sind,

werden ausgelesen, zur Befreiung von anhaftendem Staub und säurelöslichen Verbindungen (kohlensaure Salze, Eisenverbindungen etc.) werden sie wiederholt mit einer Mischung aus 1 Volum roher concentrirter Salzsäure und 3 Volumina Wasser ausgekocht, anhaltend mit Wasser geschüttelt, bis dieses vollkommen klar abläuft, dann mit Alkohol, Äther und wiederum Alkohol unter Umschütteln gewaschen, mit destillirtem Wasser abgespült, an einem staubfreien Ort getrocknet und schliesslich in einem Erlenmeyer'schen Kölbchen durch halbstündiges Erhitzen auf ca. 200° C. sterilisiert. Diese so vorbereiteten Granaten, welche sich beim Eintauchen in Wasser sofort gleichmässig benetzen sollen und deshalb sorgfältig vor jeder Berührung mit fettigen Stoffen bewahrt werden müssen, werden in einem Schüttelyylinder mit der filtrirten wässerigen Bakterienaufschwemmung geschüttelt, worauf man die überschüssige Flüssigkeit auf einem enghalsigen Trichter, der mit einer flachen Glasschaale bedeckt wird, gut abtropfen lässt. Das Trocknen geschieht am zweckmässigsten in dem von B. Krönig und Th. Paul hierzu construirten Apparate (Fig. 4). Er besteht aus einem inneren flachen rechteckigen Kasten aus Nickelblech von 28 cm Länge, 17 cm Breite und 9 cm Tiefe, der mit einem Siebboden aus Nickeldrahtnetz versehen ist und zur Aufnahme der Granaten dient. Um gleichzeitig zwei verschiedene Sorten Granaten trocknen zu können, ist der Kasten der Länge nach in zwei Abtheilungen getheilt. Dieser Kasten steht innerhalb eines geräumigen, mit gut schliessendem Überfangdeckel versehenen, Blechgefäßes aus Zink in einer flachen Schaale mit gekörntem entwässertem Chlorcalcium. Während des Trocknens, welches ca. 12 Stunden in Anspruch nimmt, wird der Apparat in den Eisschrank gestellt. Das Sterilisiren des inneren Kastens geschieht durch directes Erhitzen mit einem Bunsenbrenner; zu diesem Zwecke sind seine einzelnen Theile durch Nieten unter Vermeidung jeder Löthstelle verbunden. Der äussere Kasten wird im Anfang und beim Wechsel der Bakterienarten längere Zeit ausgekocht und durch gelindes Erwärmen mit einem Brenner getrocknet. Die trockenen Granaten werden in sterilisierte Gläser mit eingeschliffenen Stopfen gebracht, über welche zur Abhaltung des Staubes eine Glaskappe gestülpt wird, und dauernd im Eisschrank aufbewahrt. Bei der niederen Temperatur und vor Licht geschützt behalten die Milzbrandsporen ziemlich lange ihre Widerstandsfähigkeit gegen Desinficientien; erst allmäthlich geht diese zurück und nach Ablauf mehrerer Monate beträgt sie nur einen Bruchtheil

der ursprünglichen. Bei Zimmertemperatur verläuft dieser Process bedeutend schneller. Die mit Staphylokokken beschickten Granaten müssen trotz der Aufbewahrung im Eisschrank innerhalb weniger Tage aufgebraucht werden.

Ausführung des Desinfectionsversuches. Wie schon oben bemerkt wurde, muss die Temperatur der Desinfectionslösungen während der Einwirkung auf die Bakterien constant erhalten werden. Da die Desinfectionsprocesse in der Praxis im Allgemeinen bei Zimmertemperatur vor sich gehen, ist es zweckmässig, sämmtliche Versuche bei  $+18^{\circ}\text{C}$ . auszuführen und

durch einen W. Ostwald'schen Thermoregulator geregelt wird. Damit die Temperatur überall die gleiche ist, ist im Wasser eine Rührvorrichtung angebracht, aus einem schiffsschraubenähnlichen Flügelrad bestehend, welches durch kleine von dem aufsteigenden Luftstrom einer Gasflamme getriebene Windmühlenflügel in rotirende Bewegung versetzt wird. Da im Sommer die Zimmertemperatur oft über  $18^{\circ}\text{C}$ . liegt, befindet sich einige Centimeter über dem Boden des Wasserbehälters ein Schlangenrohr aus Blei, welches mit der Wasserleitung in Verbindung gesetzt wird. Während die Desinfectionslösungen im

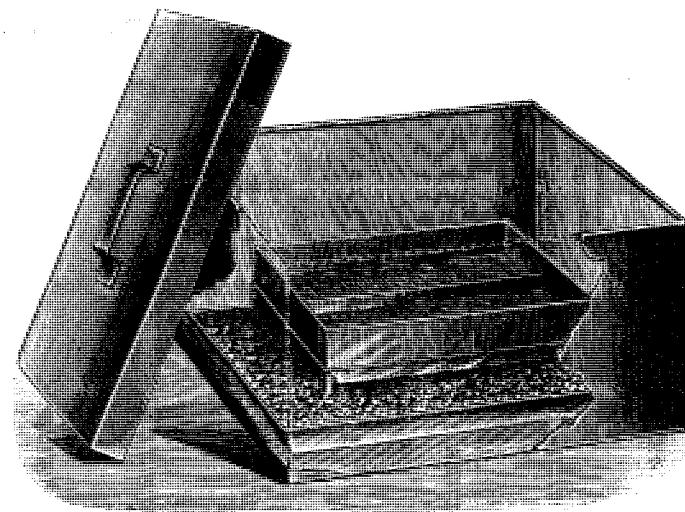


Fig. 4.

Apparat nach B. Krönig und Th. Paul  
zum Trocknen der mit wässriger Bakterienemulsion benetzten Tarigranaten.

(ca.  $\frac{1}{7}$  der natürl. Grösse.)

(Der innere mit einem Siebboden aus Nickeldrahtnetz versehene Kasten dient zur Aufnahme der Granaten und steht in einer flachen Schale, in welcher sich gekörntes entwässertes Chlorcalcium befindet.)

diese Temperatur innerhalb 1—2 Zehntelgrade einzuhalten, damit die Resultate direct mit einander verglichen werden können. Hierzu werden die Lösungen in starkwandigen (um das Herumschwimmen und Umfallen der nur theilweise gefüllten Schalen zu verhindern) Glasschalen mit aufgeschliffenem Deckel von ca. 3,5 cm Höhe und 7 cm Durchmesser in einen Thermostaten nach Wilh. Ostwald<sup>8)</sup> gebracht, dessen Einrichtung aus Fig. 5 ersichtlich ist. In einem runden mit Wasser gefüllten emaillirten Blechgefäß von ca. 30 cm Höhe und 35 cm Durchmesser befindet sich ca. 2 cm unter der Oberfläche des Wassers ein Siebboden zur Aufnahme der die Desinfectionslösungen enthaltenden Schalen. Die Erwärmung des Apparates geschieht mittels einer kleinen Gasflamme, deren Gaszufuhr

Thermostaten die Versuchstemperatur annimmt, was ca. 20—30 Minuten in Anspruch nimmt, zählt man mittels einer mit Platinarmen versehenen Pincette (Fig. 6) die für jede Lösung nötige Anzahl Granaten in kleine mit übergreifenden Deckeln versehene Glasschälchen von ca. 2—3 cm Durchmesser ab. Zur festgesetzten Zeit werden die Granaten aus diesen Schälchen in die Lösungen geschüttet, und hierauf bringt man je 30 Stück derselben (siehe unten) innerhalb der Lösung mit der Pincette auf kleine Platinsiebchen (Fig. 7) von ca. 2 cm Länge und 2 cm Breite, welche aus dünnem durchlochtem Platinblech hergestellt und mit einem Henkel aus Platin draht versehen sind. Die Granaten dürfen nicht auf diesen Platinsiebchen in die Lösungen gebracht werden, weil sonst sehr leicht Lüfträume zwischen den Granaten erhalten bleiben, welche die unbedingt erforderliche gleichmässige Benetzung derselben mit den Desinfectionslösungen verhindern.

<sup>8)</sup> W. Ostwald, Hand- und Hülfsbuch zur Ausführung physiko-chemischer Messungen. Leipzig 1893. Seiten 66 und 70.

Die Unschädlichmachung der Desinfectionsmittel. Nach Ablauf der bestimmten Zeit<sup>9)</sup> werden die Siebchen mit den Granaten aus den Lösungen herausgehoben und in einem oder zwei Schälchen mit ca. 15 ccm Wasser oder einer anderen geeigneten Flüssigkeit abgespült; dann werden die Granaten

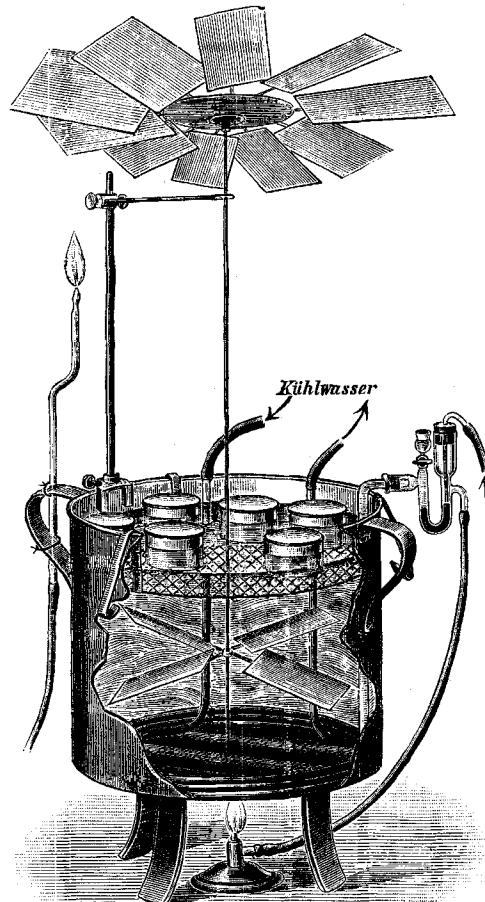


Fig. 5.

Thermostat nach Wilh. Ostwald, in welchem die Temperatur der Desinfectionslösungen während der Einwirkung auf die Bakterien bei 18° C. gehalten wird.  
(ca.  $\frac{1}{8}$  der natürl. Grösse.)

(Die von der oberen Flamme aufsteigende warme Luft bewegt die aus Glimmerplättchen oder kleinen japanischen Papierfächern bestehenden Windmühlenflügel, wodurch ein im Wasser befindliches schiffsschraubenähnliches Flügelrad in Rotation versetzt und das Wasser in steter Bewegung erhalten wird. Die Gaszufuhr wird durch einen W. Ostwaldschen Thermoregulator geregelt.)

in Schalen geschüttet, welche das zur Unschädlichmachung des Desinfectionsmittels nothwendige Reagens enthalten. Da in der Regel erst das Einbringen der Bakterien in dieses

<sup>9)</sup> Für die Zeitbestimmungen eignen sich sehr gut die sogenannten „Rennuhren“ mit Secunden- und Minuteneinteilung, welche von jeder grösseren Uhrenhandlung (u. A. bei L. Döring, Leipzig, Grimmaische Strasse 27) ziemlich wohlfeil bezogen werden können.

Reagens der Einwirkung des Desinficiens eine Grenze setzt, ist die Desinfectionsdauer bis dahin zu rechnen. Auf die Unschädlichmachung des Desinfectionsmittels ist, wie schon oben angedeutet wurde, grosse Sorgfalt zu verwenden,

Fig. 6.  
Pinzette mit Platinarmen zum Anfassen der in den Desinfectionslösungen liegenden, mit Bakterien beschickten Tarirgranaten.  
( $\frac{1}{2}$  der natürl. Grösse.)



da schon sehr kleine Mengen des auf den Nährboden übertragenen Desinfectionsmittels im stande sind, die durch den Desinfectionssprocess geschwächten Bakterien am Auskeimen zu verhindern. Besonders gilt dies für Quecksilber-, Silber- und Kupferverbindungen, Formaldehyd, Phenole etc. Ein

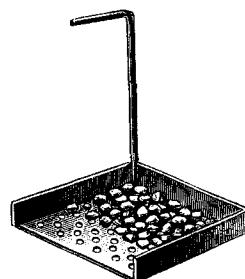


Fig. 7.  
Platinsiebchen,  
auf welchem die mit Bakterien beschickten Tarir-  
granaten aus den Desinfectionslösungen herau-  
gehoben und mit Wasser abgespült werden.  
(Natürliche Grösse.)

grosser Theil der bis zur Entdeckung dieser Thatsache (1889) angestellten Desinfectionssversuche ist dadurch ziemlich werthlos geworden und das Gleiche gilt für die seit jener Zeit unter Ausserachtlassung dieser Maassregeln angestellten Untersuchungen. Zur Unschädlichmachung der Salze von Schwermetallen steht uns ein vorzügliches Hülfsmittel im Schwefelammonium zur Verfügung, welches auch in grossen Verdünnungen die außerordentlich schwer löslichen Metallsulfide erzeugt. Dabei hat das Schwefelammonium noch den Vorzug, dass es in entsprechender Verdünnung auch gegen die vegetativen Formen sehr indifferent ist, wie

B. Krönig und Th. Paul durch besondere Versuche nachgewiesen haben. Für Versuche mit Sporen kann man unbedenklich eine 3 proc. Lösung des, aus dem officinellen Liquor ammonii causticus (= 10 Proc. NH<sub>3</sub>) durch Einleiten von Schwefelwasserstoff bereiteten, Schwefelammoniums benutzen, bei vegetativen Formen geht man auf 3 pro Mille herab. Basen lassen sich sehr gut mit verdünnter Essigsäure, Säuren mit verdünntem Ammoniak neutralisiren, und ist diesen Stoffen unbedingt der Vorzug vor verdünnter Salzsäure bez. Kali- oder Natronlauge zu geben, da die schädliche Wirkung derselben fast ausschliesslich von der Concentration der Wasserstoff- bez. Hydroxylionen abhängt, und diese in den Lösungen jener Stoffe ca. 100mal kleiner ist, wie in denen der letztgenannten. Chlor und Brom können mit verdünntem Ammoniak, Jod mit wässriger Natriumthiosulfatlösung unschädlich gemacht werden. Leider kennen wir für verschiedene Desinfectionsmittel noch keine Reagentien, welche sie momentan in unschädliche Verbindungen überführen. So wird z. B. das Formaldehyd CH<sub>2</sub>O durch Ammoniak nur allmählich in Hexamethylenamin (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub>N<sub>4</sub> übergeführt sowie durch angesäuerte Kaliumpermanganatlösungen nur langsam oxydiert, und für die Carbolsäure haben wir überhaupt kein geeignetes Reagens, welches schwer lösliche oder andere unschädliche Verbindungen erzeugte; die Überführung in das schwer lösliche Tribromphenol ist wegen der überaus giftigen Wirkung des Bromwassers vollkommen ausgeschlossen. In letzterem Falle leistet verdünntes Ammoniak noch die besten Dienste, da dann das Phenol nur sehr wenig giftig wirkt und außerdem mit Wasser ziemlich vollständig ausgewaschen werden kann. Unter allen Umständen ist die Forderung zu erfüllen, dass die zur Unschädlichmachung der Desinfectionsmittel benutzten Reagentien möglichst indifferent sein müssen, und dass hierfür der Beweis stets durch besondere Versuche zu erbringen ist. Für die Auswahl solcher Stoffe ist vielleicht der Hinweis nicht ohne Werth, dass die Säuren im Allgemeinen für Sporen und vegetative Formen viel giftiger sind, wie die Basen. Wie weit es überhaupt gelingt, der Desinfectionswirkung in ihrem ganzen Umfange Einhalt zu thun, müssen wir zur Zeit dahin gestellt sein lassen<sup>10)</sup>

<sup>10)</sup> Vergl. den Abschnitt: „Aufhebung der Desinfectionswirkung“ in der Abhandlung von B. Krönig u. Th. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Giftwirkung und Desinfection. Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten 25, 1 (1897) Seite 34ff.

Die Übertragung der Bakterien auf den Nährboden. Im Allgemeinen wird ein 10 Minuten langes Verweilen der Bakterien in der die Reagentien enthaltenden Flüssigkeit genügen, die Unschädlichmachung des Desinficiens zu bewirken, so dass die Granaten nach Ablauf dieser Zeit zum Abspülen der Reagentien in Schalen mit destillirtem Wasser übertragen werden können, in denen sie ebenfalls 10 Minuten lang liegen bleiben, um dann zu je 5 Stück in graduirte Probierrörchen (Fig. 8) mit 3 ccm Wasser gebracht

Fig. 8.

Graduirtes Reagensglas, in welchem nach der Einwirkung der Desinfectionsmittel die Bakterien von den Tarirgranaten durch Schütteln mit 3 ccm Wasser losgesprengt werden und das Mischen der Bacterienaufschwemmung mit 12 ccm verflüssigtem Agarnährboden erfolgt.



zu werden. Sämtliche Probierrörchen der Versuchsreihe werden hierauf gleichzeitig in einem Drahtkörbchen 3 Minuten lang energisch geschüttelt, wobei man Sorge tragen muss, dass das Wasser nicht an den Wattepropfen spritzt, da es von diesem aufgesaugt wird und dadurch zahlreiche Bakterien dem Versuch entzogen werden können. Zu der so erhaltenen Bacterienaufschwemmung fügt man 12 ccm verflüssigten und auf 42° C. abgekühlten Agarnährboden, giesst die Mischung in Petri'sche Schalen aus, lässt den Agar auf einem möglichst horizontalen Tisch erstarrten und bringt die Schalen in den auf 37,5° eingestellten Brutschrank. Da das am Deckel der Schalen sich condensirende Wasser häufig auf den Nährboden herunter tropft und Keime einer Colonie über die ganze Oberfläche desselben verbreitet, ist es zweckmässig, zwischen Schale und Deckel in Dampf sterilisierte Filtrirpapierscheiben zu legen, welche das Condenswasser aufsaugen.

Die erste Zählung der Colonien wird nach 24 stündigem Aufenthalt der Schalen im Brutfen vorgenommen, nach Ablauf des 2. und 3. Tages werden die hinzugekommenen notirt. Dieses wiederholte Zählen ist deshalb nöthig, weil bei sehr reichlichem Erscheinen von Colonien nur in der ersten Zeit eine genaue Zählung vorgenommen werden kann, da dieselben später in einander übergehen. Beträgt die Zahl in einer Schale von ca. 65 qcm Oberfläche nicht mehr als 500, wird jede einzelne Colonie mit der Lupe gezählt, wobei man, um Irrungen zu

vermeiden, über jeder gezählten Colonie auf den äusseren Boden der Schale mit der Feder einen Tintenpunkt macht. Zur Zählung

einer grösseren Anzahl von Colonien verwendet man den Wolffhügel'schen Zählapparat.

*(Schluss folgt.)*

## Sitzungsberichte.

**Sitzung der Chemical Society.** Vom 7. März 1901.

Vorsitzender: Dr. Perkin. — J. J. Sudborough liest über Nomenklatur der Säureester unsymmetrischer Dicarboxylsäuren. Er schlägt vor, denjenigen Ester den  $\alpha$ -Ester zu nennen, welcher die höhere Esterificationskonstante besitzt; der andere Ester erhält das Prefix  $\beta$ . Die Vortheile dieser Nomenklatur sind: 1. Gleichartig konstituierte Ester erhalten gleichartige Namen; 2. bei einfach konstituierten Säuren ist der Substituent, welcher die Asymmetrie bedingt, in  $\alpha$ -Stellung zur alkylirten Carboxylgruppe; 3. Leichtigkeit, mit welcher zwei Ester identifiziert werden können. — Derselbe Forscher liest über Additionsprodukte von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Naphthylamin mit Trinitrobenzolderivaten. Die dargestellten Verbindungen sind roth bis purpurroth, krystallisiren leicht aus Eisessig und werden nur langsam durch verdünnte HCl zersetzt. — Derselbe: Über Acetylierung von Arylaminen. Nach Uiffers und von Janson (Ber. 1894, 27, 93) halten saure o-Substituenten die Acetylierung eines primären Arylamins zurück, und erleichtern zu gleicher Zeit die Bildung einer Diacetylverbindung. Quantitative Versuche mit Anilin, o- und p-Tolidin, Pseudocumidin,  $\alpha$ - und  $\beta$ -Naphthylamin ergaben, dass eine Methyl- oder Phenylengruppe in der o-Stellung Diacetylierung erleichtern, d. h. alle o-Substituenten erleichtern Diacetylierung, gleichviel ob sie positiven oder negativen Charakters sind. Eine grosse Zahl neuer Verbindungen wurde dargestellt.

R. H. Pickard und W. Carter berichten über

die Bildung von Amiden aus Aldehyden. Aldehyde geben durch Oxydation mit Ammoniumpersulfat in Gegenwart von CaO die Amide der correspondirenden Säuren. Die Ausbeute kann bis zu 70 Proc. vom Gewicht des angewandten Aldehyds betragen. Substituierte Amide entstehen bei Anwendung von Kaliumpersulfat und einem Amin. — A. C. Hill spricht über eine Methode zur Abscheidung von Maltose in Mischung mit Glucose. Dieselbe besteht in Entfernung von Glucose durch Fermentation mit Saccharomyces Marxianus.

E. P. Pennau macht Mittheilung über Dampfspannung von wässriger Ammoniaklösung. Die Curve, welche die Veränderung in der Spannung anzeigt, hat angenähert die Gleichung  $p(100 - c) = ac + b^2$ ; a und b sind Constanten, c ist der NH<sub>3</sub>-Gehalt der Lösung. — Derselbe: Einfluss von Natriumsulfat auf Dampfspannung von Ammoniaklösungen. Es scheint, dass Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> nicht als Hydrat in der Lösung besteht. — Die folgenden Vorträge wurden als gelesen betrachtet: W. T. Lawrence und W. H. Perkin jun.: Bildung aromatischer Verbindungen aus Äthylglutaconat und seinen Derivaten. — Reduction von Trimesinsäure und Überführung von Tetrahydrotrimesinsäure in Tetrahydroisophtalsäure. — P. A. Guye: Optische Aktivität gewisser Äther und Ester. — A. E. Dixon: Halogensubstituierte Thiosinamine. — Derselbe: Eine Art Tautomerismus in Thiocyanaten von elektronegativen Radicalen.

A. F.

## Patentbericht.

### Klasse 12: Chemische Verfahren und Apparate.

**Gewinnung von Aetzalkali durch feuerflüssige Elektrolyse.** (No. 118 391. Vom 22. August 1899 ab. Charles Ernest Acker in Niagara Falls (Niagara City, New York, V. St. A.)

Vorliegende Erfindung bezweckt, die zur Durchführung des Prozesses von aussen hinzuzuführende Wärmeenergie durch Benutzung der Wärmekraft des bei dem Verfahren gebildeten Wasserstoffes nach Möglichkeit herabzusetzen. Die Verbrennung des frei werdenden Wasserstoffes wird in einem neben dem elektrolytischen Zersetzungsbehälter für das Kochsalz angeordneten Nebenschmelzofen, welcher mit dem Zersetzungsbehälter communicirt, in unmittelbarer Berührung mit dem für die Elektrolyse bestimmten Salz vorgenommen.

Die Alkalimetalllegirung wird in dem elektroly-

tischen Ofen (Fig. 9) erzeugt, dessen Seitenwände 2 auf einem Boden 3 ruhen und der nach oben durch einen Hauptdeckel 4 mit Durchbrechungen 5 für den Durchtritt der Anoden 6 versehen ist, welche letzteren von Nebendeckeln 7 behufs völligen Abschlusses der Öffnungen 5 umgeben sind. Die Oxydation des Alkalimetallaltes der Legirung erfolgt in dem Kanal 11, der in das Gefäß 12 mündet, aus welchem Kanäle nach dem elektrolytischen Ofen zurückführen. Dampf wird durch eine Röhre 17 mit Regulirventil 18 eingeleitet. Die Scheidung des Ätzalkalis von der alkalimetallarmen Legirung erfolgt in dem Gefäß 12, dessen abnehmbarer Deckel 14 auf der Unterseite eine Vertiefung 19 besitzt, von welcher eine Röhre 20 nach einem Behälter 21 führt. Die Röhre 20 dient zur Ableitung des während des Prozesses gebildeten Ätzalkalis und Wasserstoffes. Vom oberen Theile des Gefäßes 21 geht eine Röhre 22 nach dem Brenner 23, welcher auch mit einer Luftröhre 24 in Verbindung