

## XVI.

# Ueber die Zerlegung des Wasserstoffsuperoxyds durch die Zellen, mit Bemerkungen über eine makroskopische Reaction für Bakterien.

Von Dr. Adolf Gottstein in Berlin.

Die Mittheilungen von L. Lilienfeld „Ueber den flüssigen Zustand des Blutes“<sup>1)</sup> und „Ueber die Wahlverwandtschaft der Zellenelemente zu gewissen Farbstoffen“<sup>2)</sup>, sowie der Vortrag von C. Posner auf dem Congress für innere Medicin 1893 über „farbenanalytische Studien“ veranlassen mich zu einem kurzen Berichte über eine kleine Zahl von Einzelbeobachtungen, deren Inhalt in einem gewissen Zusammenhange mit den Ergebnissen der genannten Forscher steht, und welche ich gelegentlich anderer Untersuchungen gemacht habe.

Von Herrn Geheimrath Liebreich darauf hingewiesen, dass es leicht gelingt, lebende Bakterien von solchen, welche durch Erhitzen getödtet sind, durch ihr verschiedenes Verhalten gegen Wasserstoffsuperoxyd zu unterscheiden, da aus diesem die ersteren makroskopisch sichtbar Sauerstoffbläschen entwickeln, die letzteren nicht, verfolgte ich diese Thatsache und deren Ursache weiter.

Bekanntlich entdeckte Schönbein die Eigenschaft der Fermente, Wasserstoffsuperoxyd nach Art des Platins zu zerlegen, und sprach die Hypothese aus, dass fermentative Eigenschaften und die Spaltung von  $H_2O_2$  aus den gleichen Ursachen herrühren. Seit diesen Untersuchungen ist für eine ganze Reihe anderer Körper ausser den unbelebten und belebten Fermenten, sowie ausser dem Blute die gleiche Eigenschaft festgestellt worden; es besitzen dieselbe überhaupt alle lebenden thierischen und pflanzlichen Zellen, unter welchen sich durch besondere

<sup>1)</sup> Verhandlungen der Berliner physiologischen Gesellschaft. Juli 1892.

<sup>2)</sup> Ebenda 7. April 1893.

Intensität der Spaltung die Hefezellen, das Blut und die Eiterkörperchen auszeichnen, ferner eine Reihe den Zellen entstammender, zu den Eiweisskörpern gehöriger Stoffe, wie das Fibrinogen (Hammarsten), Fibrin und andere. Man nimmt vielfach gleich Schönbein an, dass diese Eigenschaft der Zellen und ihrer Produkte einfach auf ihren Gehalt an Enzymen zurückzuführen ist, deren weite Verbreitung im Thier- und Pflanzenreiche diesen Schluss berechtigt erscheinen lässt. Indess ist diese Anschauung nicht ohne begründeten Widerspruch geblieben. Es soll nicht als Einwand gelten, dass einige so energische Fermente, wie das Papayotin, nur äusserst geringe Spaltungskraft, andere, wie das jetzt so hypothetisch gewordene Fibrinferment von A. Schmidt überhaupt keine solche besitzen; aber schon Nägeli<sup>1)</sup> macht gegen diese Deutung gegründete Gegenbemerkungen; unsicher wurde sie durch die Untersuchung von John Jacobson<sup>2)</sup>, in welcher der Nachweis geführt ist, dass es gelingt, die Fähigkeit der Fermente  $H_2O_2$  zu zerlegen, ohne gleichzeitige Schädigung der Fermentwirkung durch verschiedene Eingriffe zu zerstören. Auf der andern Seite hat Bergengruen<sup>3)</sup> in einer unter A. Schmidt's Leitung angefertigten Dissertation den Nachweis geliefert, dass die Fähigkeit der Zerlegung von  $H_2O_2$  eine allgemeine Eigenschaft des lebenden Protoplasmas ist, deren Energie je nach der Protoplasmaform wechselt; das Hämoglobin besitzt nach Bergengruen gar keine katalytische Kraft; die höchste dagegen das Stroma der rothen Blutkörperchen, sowie der Hefezellen; eine etwas geringere die weissen Blutzellen und die Milzzellen; Bergengruen kommt somit direct zu dem Schluss, es läge gar kein Grund zu der Annahme vor, dass die sogenannten chemischen Fermente das Wasserstoffsuperoxyd katalysiren; die entsprechende Wirkung derselben beruhe vielmehr auf der Verunreinigung durch Protoplasmabestandtheile, ohne welche die Fermente bisher wohl nicht dargestellt seien.

Unter diesen Umständen erscheint die Frage berechtigt,

<sup>1)</sup> Theorie der Gährung. 1879. S. 51.

<sup>2)</sup> Ueber ungeformte Elemente. Berlin 1891.

<sup>3)</sup> Ueber die Wechselwirkung zwischen Wasserstoffsuperoxyd und verschiedene Protoplasmaformen. Dorpat 1888.

welchem Bestandtheile der Zellen die  $H_2O_2$  spaltende Wirkung zukommt. Meine eigenen Untersuchungen behandelten diese und einige andere die Spaltung des  $H_2O_2$  durch Zellen betreffenden Fragen mit den folgenden Ergebnissen:

1) Die Fähigkeit der Zelle,  $H_2O_2$  zu spalten, ist nicht an das Leben derselben gebunden.

In der vorliegenden Fassung ist der Beweis des Satzes streng genommen abhängig von einer Definition über den Begriff des Lebens. Als wesentliches Zeichen desselben können wir eigentlich nur die Fähigkeit zur Hervorbringung gleichartiger Substanz ansehen, sei es durch Wachsthum oder durch Vermehrung, da ein anderes Zeichen des Lebens, die spontane Bewegung, nach neueren Untersuchungen, speciell denen von Verworn, auch durch andere Vorgänge erzeugt werden kann. (Amöboide Bewegung durch Ausbreitung von Oeltropfen). Und thatsächlich hat ja auch die Forschung stillschweigend die erstere Eigenschaft als Maassstab angenommen; denn wir stellen die Aufhebung des Lebens z. B. von Mikroorganismen dadurch fest, dass wir sie nach Einwirkung des tödtlichen Agens auf frischen Nährboden übertragen und aus dem Ausbleiben der Vermehrung auf den Tod schliessen. In Wirklichkeit bleiben eine Reihe höchst activer Eigenschaften trotz der Einwirkung des die Fortpflanzung vernichtenden Mittels noch bestehen, wie die Wirkung sterilisirter Culturen beweist und dennoch nehmen wir ohne Widerspruch den eingetretenen Tod der Culturen an.

In diesem Sinne ist das Folgende aufzufassen.

Die Eigenschaft des Protoplasmas,  $H_2O_2$  zu spalten, wird durch Erhitzung auf  $70^\circ C.$  und höhere Temperaturen vernichtet, während trockene Fermente durch diese Wärmegrade ihre chemischen Eigenschaften noch nicht verlieren. Die erhöhte Temperatur ist der einzige Eingriff, welcher zugleich mit dem Leben auch die Spaltung von  $H_2O_2$  aufhebt. Ausser der Hitze bewirken das letztere noch eine Reihe anderer Substanzen, wie dies für Cyanwasserstoff Schönbein, für Chloralhydrat und Chloralcyanhydrin Schär<sup>1)</sup>, für eine Reihe anderer Substanzen Jacobson nachwies. Aber die ersteren Körper sind keine Anti-

<sup>1)</sup> Schär, Ueber Einwirkungen der Cyanwasserstoffs, des Chloralhydrats und des Chloralcyanhydrins auf Enzyme u. s. w. Zürich 1891.

septica im engeren Sinne, wie noch besonders Rohrer<sup>1)</sup> zeigte und verhindern die Spaltung nur so lange, als sie im Contact mit der Zelle sind; die letzteren sind entweder ebenfalls keine Antiseptica oder solche Stoffe, wie Säuren und Alkalien, welche die ganze chemische Struktur der Zelle vernichten.

Für die grössere Zahl der wirklichen Antiseptica und Desinficientia, für diejenigen Stoffe, welche die Vermehrung der Zelle, ihr Leben, hemmen oder dauernd vernichten, konnte ich den Nachweis bringen, dass sie, selbst noch während ihres Zusammenseins mit der Zelle, die  $H_2O_2$  spaltende Eigenschaft in keiner Weise vernichten; sie heben zwar die Fortpflanzungsfähigkeit der Zelle, nicht aber deren Contactwirkung auf  $H_2O_2$  auf. Ich habe Blut, Hefezellen, Eiterzellen tagelang der Wirkung von Repräsentanten der einzelnen Gruppen von Antiseptica, Haloide, Metallsalze, Alkohol, Aether, Benzolderivate, ätherische Oele u. s. w. ausgesetzt und habe in den ersten Stunden und Tagen keine Aufhebung, nach Tagen und Wochen eine Verminderung, nach Monaten erst (1 pro mille Sublimat) eine völlige Vernichtung der Wirkung gesehen. Allerdings ergeben sich quantitative Differenzen in dem Grade der Sauerstoffentwicklung, deren Grösse von der Beschaffenheit und Concentration des Antisepticums und von der Zahl der der Einwirkung ausgesetzten Zellen abhängig ist. Dass jedesmal Controlversuche gemacht wurden, ob nicht der betreffende Körper an sich katalytisch auf  $H_2O_2$  wirkt, ist selbstverständlich. Von 5procentigem Carbol möchte ich noch ausdrücklich hervorheben, dass dasselbe bei stundenlanger Einwirkung auf Hefe und Blut keine Aufhebung, sondern nur eine Verminderung der katalytischen Wirkung hervorruft, selbst wenn man einfach das  $H_2O_2$  zur Carbollösung hinzusetzt, weil diese Beobachtung in Widerspruch mit Angaben von Schär<sup>2)</sup> steht. Schär giebt an, dass Phenol zwar die katalytische Wirkung der ungeformten Fermente und des Bluts auf  $H_2O_2$  nicht beeinflusst, wohl aber 1procentige Lösung diejenige der Hefe zugleich mit ihrer Gährthätigkeit vernichtet.

Gleich den Antiseptics sind auch die Alkaloide, wie Morphinum, Chinin, unwirksam, ebenso das als allgemeines Proto-

<sup>1)</sup> Centralbl. f. Bakteriologie. XIII. No. 2.

<sup>2)</sup> Zeitschr. f. Biol. 1870. VI. S. 503.

plasmagift bekannte Cocain, sowie die von Loew<sup>1)</sup> als Zellkerngift gedeutete Oxalsäure.

Man könnte diese oben erwiesene Thatsache als eine Bestätigung der Ansicht von Schönbein ansehen, dass nicht die Zellen, sondern die in denselben vorhandenen Fermente (Enzyme) die Spaltung erzeugen, denn dass die Enzyme durch Antiseptica nicht vernichtet werden, ist eine von Kühne, Salkowski, Fermi und vielen Anderen lange erwiesene Thatsache.

Es bleibt aber noch eine andere Deutung möglich, dass die Spaltung auf der Wirkung eines in jeder Zelle vorhandenen Körpers von grosser Resistenz gegen chemische Eingriffe beruht.

2) Die Fähigkeit der Zelle,  $H_2O_2$  zu spalten, ist auf das in derselben enthaltene Nuclein zurückzuführen.

Wenn man Hefezellen der Verdauung durch salzsaures Pepsin unterzieht, dann filtrirt, den Rückstand lange mit Wasser ausspült, mit Alkohol und Aether auswäscht und bei Zimmertemperatur trocknet, so erhält man ein Präparat, das weder lebende Zellen einschliesst, noch auch nur Spuren von Invertin oder des zur Verdauung benutzten Pepsins enthält, wie Zusatz zu Rohrzuckerlösung oder Eiweiss beweist. Trotzdem besitzt diese Substanz, welche als reines Hefenuclein zu bezeichnen ist, ob trocken oder in schwachen alkalischen Lösungen gelöst, die Eigenschaft  $H_2O_2$  mit derselben Intensität zu spalten, wie frische Hefe und behält diese Kraft durch mehrere Wochen, um sie meist allmählich zu verlieren. Ich habe diesen Versuch sehr oft mit dem gleichen Erfolge gemacht. Für den getrockneten Körper wäre der Einwand möglich, dass er als Pulver einfach durch Contactwirkung spaltend wirkt; es genügt aber, dasselbe zu erhitzen, um es dieser Eigenschaft trotz der Pulverform zu berauben.

Genau wie bei der Hefe, habe ich wiederholt Verdauungsversuche mit Eiter, Leberzellen, welche sehr stark katalysiren, mit Hirnsubstanz und Knochenmark, welche viel schwächer spalten, gemacht und mit dem erhaltenen Rückstand, dem Nuclein jener Zellen, die gleiche Wirkung erzielt. Das Casein der Milch

<sup>1)</sup> Münch. med. Wochenschr. 1892. No. 32.

besitzt in seiner Eigenschaft als Nucleoalbumin ebenfalls, wenn auch sehr schwach, katalysirende Kraft; dem entsprechend wirkt auch der Verdauungsniederschlag der frischen ungekochten Kuhmilch schwach spaltend auf  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Es mag hier gelegentlich erwähnt werden, dass, wie frische Kuhmilch, auch Milch der menschlichen Brustdrüse schwach, aber deutlich Sauerstoff aus  $\text{H}_2\text{O}_2$  abspaltet. Das Nuclein des Fischsperma habe ich nur einmal und zwar mit negativem Ergebnisse, untersucht, ebenso nur einmal den Niederschlag von Metaphosphorsäure im Hühner-eiweiss und zwar ebenfalls mit negativem Ergebniss, was mir wegen der Angaben von L. Liebermann, Pohl und Malfatti über künstliche Erzeugung von Nucleinen von Interesse erschien. Hühnereiweiss selbst bewirkt schwache Sauerstoffentwicklung. Auch für das Blut gilt die gleiche Erscheinung, wie für die Zellen anderer Herkunft, dass der das  $\text{H}_2\text{O}_2$  spaltende Körper, welcher im Blute eine besondere Intensität besitzt und welchen Bergengruen in's Stroma der rothen Blutkörperchen verlegt, nach der Einwirkung von salzsaurem Pepsin bei der Filtration mit Wasser nicht oder nur in Spuren durch das Filter geht und hauptsächlich im Niederschlage vorhanden ist. Dass in den Blutkörperchen Nucleoalbumin vorhanden ist, hat Pekelharig betont; ob aber der vorliegende Körper mit diesem identisch oder nur eine physiologisch gleichwirkende, chemisch aber andere Substanz ist, bin ich nicht in der Lage zu entscheiden. Bekanntlich erhält sich die höchst energische  $\text{H}_2\text{O}_2$  spaltende Wirkung des Blutes auch im trocknen Zustande so lange, dass sie zu gerichtlich medicinischen Zwecken Empfehlung gefunden hat. Ich möchte hier anfügen, falls nicht schon von anderer Seite hierauf aufmerksam gemacht sein sollte, dass eingreifende Krankheiten diese Eigenschaft des Blutes in keiner Weise vermindern, wie schwere Anämien, Diabetes und Nephritis beim Menschen, Milzbrand und mit dem Tode beendete Tuberculose bei Kaninchen und Meerschweinchen. Ja, da nachgewiesen, dass Cyanwasserstoff in Berührung mit Blut ausserhalb des Körpers dessen katalytische Wirkung aufhebt, erregte es mein Erstaunen, dass, als ich weisse Mäuse durch Einathmung oder Einspritzung von Cyanwasserstoff tödtete, deren Blut unmittelbar nach dem Tode entnommen, gegenüber demjenigen von Controlmäusen anschei-

nend nur eine geringe, deren Gewebszellen (Leber, Milz, Nieren) aber sicher keine Verminderung der spaltenden Kraft auf  $\text{H}_2\text{O}_2$  zeigten.

Es entsteht nun die Frage, wie diese spaltende Eigenschaft des Nucleins auf  $\text{H}_2\text{O}_2$  zu erklären ist. Bei der Prüfung der katalytischen Wirkung anorganischer Körper kann man an den wirksamen Substanzen zwei verschiedene Vorgänge beobachten; Kohlenpulver, sterilisirter Sand bewirken eine langsame, spärliche Abspaltung von Sauerstoff, Kaliumpermanganat eine äusserst stürmische und reichliche; im ersteren Falle handelt es sich um eine sogenannte Contactwirkung, bei welcher nur das  $\text{H}_2\text{O}_2$  verändert wird, im zweiten um einen chemischen Prozess, bei welchem beide Substanzen Sauerstoff abgeben und eine Aenderung erfahren; der Vorgang bei Einwirkung der Nucleine gleicht entschieden mehr der letzteren Erscheinung; ob er in gleicher Weise zu deuten ist, wäre nur durch genaue Bestimmung der Menge des entwickelten Sauerstoffs zu entscheiden; für eine rein chemische Auffassung des Vorgangs durch Abspaltung von O aus beiden auf einander wirkenden Körpern dürfte vielleicht die später mitzutheilende Thatsache sprechen, dass die Grösse der Sauerstoffentwicklung direct abhängig ist von der Zahl der bei dem Vorgang betheiligten Zellen. An sich ist nach den Feststellungen von Pflüger und Ehrlich über den Sitz der Sauerstoffübertragung in den Zellen diese Hypothese nicht unwahrscheinlich, und es stimmt mit den neueren Untersuchungen über die Bedeutung des Zellkerns durchaus überein, wenn wir als den Träger dieser Zelleigenschaft die chemische Grundlage des Zellkerns anzunehmen haben, deren sonstige Beschaffenheit wir hauptsächlich aus den Untersuchungen von Kossel kennen.

Jedenfalls aber geht aus den obigen Nachweisen hervor, dass in den Zellen nicht etwaige in denselben vorhandene Enzyme, sondern die in denselben vorhandenen Nucleinsubstanzen die Spaltung des  $\text{H}_2\text{O}_2$  bewirken.

Zu diesen Ergebnissen war ich schon gelangt, als die bedeutsamen Untersuchungen von Lilienfeld über die Blutgerinnung erschienen; in diesen Mittheilungen hebt Lilienfeld beson-

ders hervor, dass das von ihm aus den Leukocyten dargestellte Nuclein  $H_2O_2$  spaltet. Durch diesen Nachweis erhalten die obigen Ausführungen eine gewichtige Stütze.

3. Auch die Mikroorganismen bewirken energische Spaltung des  $H_2O_2$ .

Schon Schönbein wies die katalytische Wirkung der Schimmelpilze auf  $H_2O_2$  nach, und Bergengruen führt in seiner Dissertation an, dass er eine Spaltung derselben durch Infusorien unter Absterben der Thiere unter dem Mikroskop beobachtet habe. Ich selbst habe für eine Reihe von Reinculturen von Bakterien, speciell für Schimmelpilze, *Bacillus prodigiosus*, *Bacterium coli*, *Tuberkelbacillus*, verschiedene Wasserbakterien makroskopisch und unter dem Mikroskop die energische Spaltung des  $H_2O_2$  feststellen können, gleichviel welchem Nährboden dieselben entstammten. Von der Frage der desinficirenden Wirkung des  $H_2O_2$  und dessen Verwerthung zur Conservirung von Milch und Wasser, über welche ja eine umfangreiche Literatur vorliegt, sehe ich hierbei als nicht hierher gehörig ganz ab. Thatsächlich ist die Intensität der Spaltung dieser von mir untersuchten Arten nicht geringer als die der Hefe. Es ist dabei gleichgültig, ob die Bakterien noch lebend oder durch Eintrocknung oder durch Antiseptica vernichtet sind. Noch in ganz vertrockneten, Jahre alten Rollröhrchen konnte der Sitz einer jeden, einmal vorhanden gewesenen Cultur durch die starke Gasblasenentwicklung wieder aufgefunden werden. Auch der Filtrerrückstand verdauter Culturen von *Prodigiosus* giebt die gleiche Reaction; nur die Erhitzung hebt dieselbe auf.

Es entsteht nun die Frage, ob diese Eigenschaft einen Schluss auf die chemische Constitution der Bakterien zulässt. Bekanntlich ist diese Frage ganz neuerdings Gegenstand der Behandlung von biologischer, wie von chemischer Seite her gewesen (Bütschli, Nencki). Es handelte sich einerseits um die Ansicht, dass auch die einfacher organisirten Spaltpilze gleich anderen Zellen Kernsubstanz enthalten, während andererseits Nencki in seinem Mykoprotein keinen Phosphor, den wesentlichen Bestandtheil der Nucleine, auffand. Neumeister meint in seiner physiologischen Chemie<sup>1)</sup> über diesen Punkt, „dass eine gewisse Aehnlich-

<sup>1)</sup> Neumeister, Phys. Chemie. S. 95.



keit mit dem Nucleoalbumin gefunden werden könne, aber die Substanzen erwiesen sich vollkommen frei von Phosphor“ (unter Berufung auf Nencki). Hertwig<sup>1)</sup> ist der Ansicht, man müsse zugeben, „dass die Annahme, nach welcher die Mikroorganismen ganz oder vorzugsweise aus Kernsubstanz bestehen, ebenso viel, wenn nicht mehr für sich hat, als die Annahme, sie seien nur kleinste, einfache Protoplasmaklumpchen; denn für die erste Annahme fällt ihre ausserordentliche Neigung, Farbstoffe in sich aufzunehmen, sehr in die Wagschale“. Der Widerspruch ist wohl durch die neuere Feststellung von Lilienfeld und Monti<sup>2)</sup>, nach welcher auch Bakterien die von diesen Autoren entdeckte mikroskopische Phosphorreaction geben, im Sinne der Auffassung beseitigt, dass auch den Bakterien Kernsubstanz zugeschrieben werden muss.

Die neuen farbenanalytischen Studien von Lilienfeld und Posner, nach welchen die Nucleinsäure gerade mit den basischen Anilinfarben, die alkalischen Protoplasmasubstanzen mit sauren Anilinfarben Verbindungen eingehen, sind geeignet, zur Entscheidung der Frage von der chemischen Constitution der den Bakterienleib bildenden Substanzen beizutragen. Denn gerade dieser giebt vorzugsweise die farbenanalytische Nucleinreaction. Dass die Nucleinkörper der Bakterien nicht völlig identisch mit denjenigen der thierischen Zelle sind, erweisen ja die bekannten Differenzen der Gram'schen und Weigert'schen, sowie anderer Färbungsmethoden. Historisch interessant ist es, dass schon Fol, wie Hertwig erwähnt, auf Grund der Tinction Schlüsse über die chemische Beschaffenheit des Zellkerns zog, aber merkwürdigerweise ihm eine alkalische Reaction zuschrieb.

Die Reaction der Bakterien auf  $H_2O_2$  würde für sich allein nicht viel für die chemische Constitution der in ihnen vorhandenen Substanzen beweisen, da ausser dem Nuclein noch andere Körper die gleiche Eigenschaft besitzen. In Zusammenhang mit den angeführten Thatsachen aber ist sie eine neue Stütze für die Annahme, dass auch der Bakterienkörper grossentheils aus einer Substanz zusammengesetzt ist, welche chemisch den Nucleoalbuminaten der thierischen und pflanzlichen Zelle nachsteht.

<sup>1)</sup> Hertwig, Die Zelle. 1892. S. 47.

<sup>2)</sup> Lilienfeld und Monti, Zeitschr. f. phys. Chem. 16.

#### 4. Die Spaltung des $\text{H}_2\text{O}_2$ als makroskopische Reaction auf Bakterien.

Die Eigenschaft der Bakterien,  $\text{H}_2\text{O}_2$  energisch zu spalten, ist eine so charakteristische, die Intensität der Gasentwicklung eine so grosse, dass es nahelag, sie unter geeigneten Umständen geradezu als Reaction zur Auffindung unsichtbarer Bakteriencolonien zu benutzen. Ich habe mich oft davon überzeugt, dass auf Nährböden von gekochten Kartoffeln oder in Plattenculturen bei Uebergiessung mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  die rapide Entwicklung von Gasblasen eben nur dort stattfand, wo Bakterienrasen den Nährboden überzogen hatten; die übrigen Stellen des Präparates blieben vollkommen frei von Gasentwicklung; das entstehende Bild bei Uebergiessung einer Plattencultur nicht verflüssigender Arten mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  ist ein ungemein zierliches wegen der distincten, jeder einzelnen Colonie entsprechenden Entwicklung von Gasbläschen; die gleiche Reaction konnte, wie dies auch für Hefezellen gilt, mehrere Tage hinter einander in gleicher Weise vorgenommen werden. Ich habe dann wiederholt an offenstehendem Urin, an Reagenzgläsern mit Leitungswasser, an gekochten festen und flüssigen Speisen mich überzeugt, dass es gelingt, bei Zusatz von  $\text{H}_2\text{O}_2$  durch das Eintreten oder Fehlen der Gasentwicklung das Vorhandensein oder das Fehlen von Bakterien zu erweisen.

Sollte diese Eigenschaft als Reaction benutzt werden, so wären für ihre Anwendung von vornherein ausgeschlossen solche Substanzen, welche pflanzliche oder thierische Zellen enthalten konnten, wofern diese nicht durch Erhitzen ausgeschaltet waren. Es fielen also von den in Frage kommenden Substanzen als Gegenstand der Untersuchung von vornherein aus alle ungekochten Nahrungsmittel, und es blieben nur übrig schon gekocht gewesene feste oder flüssige Nahrungsstoffe, vor allem gekochte Milch, bei der es gelegentlich von Belang sein konnte, ob sie durch nachträgliche Bakterienentwicklung minderwerthig oder unbrauchbar geworden war. Es kam aber vor allem in Betracht das Trinkwasser, dessen Bakteriengehalt durch eine makroskopische Probe festzustellen, eine verlockende Aufgabe erschien.

Bekanntlich ist der gegenwärtige Stand der bakteriologischen Trinkwasseruntersuchung derjenige, dass an sich weniger Werth

auf die Zahl der im Cubikcentimeter vorhandenen Mikroorganismen zu legen ist, als auf die Art derselben. 1000 Keime des *Bacillus fluorescens* sind ziemlich gleichgültig gegenüber einem Keime von Typhus oder Cholera, deren Nachweis oft gar nicht oder zu spät gelingt. Dagegen kommt die Untersuchung auf den Bakteriengehalt unbedingt in Betracht zur Prüfung der Leistungsfähigkeit der Sandfilter; die Zahl der nach der Filtration noch vorhandenen Keime in der Raumeinheit giebt einen Anhalt für die bekanntlich Schwankungen unterliegende Leistungsfähigkeit der Filter in den Wasserleitungsanlagen grosser Städte; hier wird das filtrirte Wasser einer regelmässigen Controle durch Zählung der in ihm noch vorhandenen Colonien mittelst der Plattenculturmethode unterzogen. Ich prüfte nun, ob für diese Zwecke der Zusatz von Wasserstoffsuperoxyd und die diesem Zusatz folgende Gasentwicklung als praktisch brauchbare Methode zur Ergänzung für die bakteriologische Untersuchung herangezogen werden könnte, welche längere Zeit beansprucht und nur von geschulten Persönlichkeiten auszuführen ist. Die Methode der Untersuchung war eine einfache. Zu 10 ccm sterilisirten Wassers wurden eine oder mehrere Platinöhsen bestimmter Bakterienarten hinzugefügt, nach gehöriger Mischung je zwei Reagenzgläsern mit 10 ccm Wasser je 1 ccm der Mischung hinzugefügt (Verdünnung 1) und in gleicher Weise weitere Verdünnungen bis zur fünften Stufe jedes Mal doppelt angefertigt, von denen jede den zehnten Theil der Bakterien der vorhergehenden Verdünnung enthielt. Dann wurde durch Zusatz von 10 ccm  $H_2O_2$  zu je einem Glase jeder Verdünnung diejenige Stufe festgestellt, bei welcher eben noch deutliche Entwicklung von Gasblasen stattfand und diejenige (nächstfolgende), bei welcher eine solche nach Ablauf einer Viertelstunde ausgeblieben war. Von diesen beiden Proben wurde je 1 ccm des entsprechenden anderen Glases mit 10 ccm verflüssigter Nährgelatine gemischt in Petri'sche Schalen gegossen und so durch Zählung in bekannter Weise mit Zuhülfenahme des Mikroskops die Zahl der Bakterien im Cubikcentimeter bestimmt. Die Genauigkeit der Methode ist eine grosse, insofern als das Mittel einer Reihe von Zählungen thatsächlich in der einen Platte das ziemlich genaue Zehnfache der in der anderen Platte enthaltenen Colonie ergab.

Als Ergebniss einer grösseren Zahl von derartigen Versuchen erhielt ich die folgenden zwei Punkte.

1) Die Quantität des entwickelten Sauerstoffs, sowie die Intensität seiner Abspaltung ist direct proportional der Menge der in der Mischung enthaltenen Bakterien. Mit blossen Auge kann man aus der Heftigkeit der Gasentwicklung und der Höhe des Schaumes, welche je nach der Verdünnung abnehmen, den Grad der Verunreinigung mit Bakterien beurtheilen; bei der ersten und zuweilen auch der zweiten Mischung ist die Gasentwicklung deutlich hörbar.

2) Die Empfindlichkeit der Probe ist eine verhältnissmässig geringe; die untere Grenze, bei welcher nach Ablauf einer Viertelstunde eine, wenn auch sehr spärliche, doch für das blosse Auge deutliche Gasbläschenbildung an den Rändern des Reagenzglases und an der Oberfläche der Flüssigkeitsschicht erkennbar war, erhielt ich bei mehr als 1000 Keimen im Cubikcentimeter; unterhalb einer Zahl von 1000 Colonien war das Ergebniss in hohem Grade zweifelhaft oder negativ; je nach der Art der verwendeten Bakterien ergaben sich gewisse Schwankungen in der Zahl; so sah ich bei einer Cultur von *Prodigiosus* aus Agar bei 5000 Colonien nur noch eine sehr schwache Reaction, bei einer solchen aus Nährgelatine noch bei 1500 Colonien eine deutliche, bei *Bacterium coli* bei 1200 eine nicht zu verkennende, wenn auch schwache Gasblasenentwicklung, bei einem verflüssigenden *Bacillus* aus der Luft bei 8000 Colonien eine schwache Reaction, bei 800 nicht einmal eine Andeutung einer solchen.

Gerade diese schwache Empfindlichkeit der Reaction dürfte derselben in Anbetracht ihrer leichten Ausführbarkeit eine praktische Bedeutung geben. Denn überall wenn in einem filtrirten Wasser eine, wenn auch noch so schwache Gasblasenentwicklung bei Zusatz von  $\text{H}_2\text{O}_2$  auftritt, darf man auf das Vorhandensein von mehr als 1000 Bakterien im Cubikcentimeter schliessen. Nun soll aber ein gut functionirender Filter das Wasser derart von Bakterien reinigen, dass nicht mehr als 50—100 Keime im Cubikcentimeter enthalten sind, während das unfiltrirte Flusswasser deren zu 10000 und mehr enthält. Ein schlechtes Functioniren der Filteranlage, über deren Ursachen und praktische Bedeutung ja eine umfangreiche Literatur vorliegt, macht

sich sofort in der Vermehrung der im Cubikcentimeter enthaltenen Keime bemerkbar, welche dann ebenfalls auf mehrere Tausende steigen kann. Die Bedeutung des Nachweises eines solchen Versagens der Filteranlagen wurde bei Gelegenheit der Cholera-epidemie in Nietleben zur Genüge betont<sup>1)</sup>).

Die oben geschilderte Reaction giebt nun ein einfaches und bequemes Mittel in die Hand, um täglich zu controliren, ob die Filter gut functioniren, als Vorprobe und zum theilweisen Ersatz für die umständlichere Plattenculturmethode. Die genannte Methode kann auch von jedem nicht bakteriologisch geübten Ingenieur ausgeführt werden, der bei dem regelmässigen Ausbleiben der Sauerstoffentwicklung zwar noch nicht die Dichtigkeit der Filter bestimmt voraussetzen darf, bei einer, wenn auch sehr geringen Entwicklung von solchen aber mit Sicherheit weiss, dass jetzt im Cubikcentimeter mehr als 1000 Keime enthalten sind, dass also der Filter nicht mehr zuverlässig arbeitet und beanstandet werden muss. Die einzige Vorsicht, deren es bedarf, ist diejenige, dass das zum Versuch dienende Probirglas vor dem Einfüllen des Wassers ausgeglüht und dann genügend abgekühlt wird; bei Unterlassung dieser Vorsicht kann leicht die dem Glase anhaftende Verunreinigung ein positives Ergebniss der Reaction vortäuschen.

Die Einfachheit der Reaction lässt sie zur Anstellung von Versuchen auf ihre praktische Bedeutung namentlich für Wasserfiltrationsanlagen und Brunnenprüfungen empfehlenswerth erscheinen.

<sup>1)</sup> R. Koch, Zeitschr. f. Hyg. XIV. 3.

---