

# Experimentelle Untersuchungen zur Feststellung der Mindestzahl von Bazillen, die beim Meerschweinchen noch Tuberkulose hervorruft. 1. Mitteilung

Autor(en): Thöni, I. / Thaysen, A.C.

Objektyp: Article

Zeitschrift: **Mitteilungen aus dem Gebiete der Lebensmitteluntersuchung und Hygiene = Travaux de chimie alimentaire et d'hygiène**

Band (Jahr): **7 (1916)**

Heft 1-2

PDF erstellt am: **12.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-984116>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

# MITTEILUNGEN

AUS DEM GEBIETE DER

## LEBENSMITTELUNTERSUCHUNG UND HYGIENE

VERÖFFENTLICHT VOM SCHWEIZ. GESUNDHEITSAMT

## TRAVAUX DE CHIMIE ALIMENTAIRE ET D'HYGIÈNE

PUBLIÉS PAR LE SERVICE SUISSE DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

---

ABONNEMENT: Schweiz Fr. 8.20 per Jahrg. — Ausland Fr. 10. — oder M. 8. —.  
Suisse fr. 8.20 par année. — Etranger fr. 10. — ou M. 8. —.  
Preis einzelner Hefte Fr. 1.50 (Ausland M. 1.50).  
Prix des fascicules fr. 1.50 (étranger M. 1.50).

---

BAND VII

1916

HEFT 1 u. 2

---

### Experimentelle Untersuchungen zur Feststellung der Mindestzahl von Bazillen, die beim Meer- schweinchen noch Tuberkulose hervorruft.

1. Mitteilung.

Von I. THÖNI und A. C. THAYSEN.

(Mitteilung aus dem Laboratorium des Schweizerischen Gesundheitsamtes.)

#### A. Einleitung.

Es bedarf wohl keiner näheren Begründung, dass die Lösung der Frage über die Minimalmenge des Tuberkuloseerregers, die für das Zustandekommen einer Infektion erforderlich, nicht allein von hohem theoretischem Interesse, sondern auch für die Prophylaxe wie die Pathogenese der Tuberkulose von grundlegender Bedeutung ist. Dieselbe wird auch kaum dadurch geringer, weil ihre Ergebnisse aus naheliegenden Gründen sich nur auf das Tierexperiment stützen können und daher in erster Linie die Verhältnisse beim tierischen Körper klarlegen.

Wie aus verschiedenen Abhandlungen der älteren und neueren Literatur zu entnehmen ist, war das Bedürfnis, über die Infektiosität des Tuberkelbazillus Aufschluss zu gewinnen, stets rege; auch hat es nicht an Versuchen gefehlt, auf experimentellem Wege eine Klärung dieser Frage herbeizuführen. Wenn nun diese Untersuchungen, d. h. also die Bestimmung der Mindestzahl von Keimen des Tuberkuloseerregers, die noch ausreicht, Tiere zu infizieren, nicht zu einem endgültigen Resultat gelangt sind, so ist das auf den Umstand zurückzuführen, dass mit den hierbei zur Verwendung gekommenen Untersuchungsverfahren dieses Ziel nicht zu erreichen war.

Sieht man von den ältesten dem vorerwähnten Zwecke dienenden Versuchen (*Gebhardt*<sup>1)</sup>, *Preyss*<sup>2)</sup>) ab, weil sie nicht mit Reinkulturen des Tuberkelbazillus vorgenommen wurden, so ist, mit einer Ausnahme, von einem Zählen der Keime überhaupt Abstand genommen worden. Als Ausgangspunkt diente das *Gewicht* (Milligramm) feuchter Tuberkelbazillenmasse. Dabei beschränkten sich die einen Autoren darauf, einfach festzustellen, bei welchem Bruchteil eines Milligramms feuchten Tuberkelbazillenrasens bei Tieren noch Infektion erfolge, während andere nebstdem die Anzahl der in einem Milligramm vorkommenden Tuberkelbazillen an Hand von Gelatineplatten einer daselbst gut wachsenden Bakterienart berechneten.

Bei näherer Ueberlegung wird man sich eingestehen müssen, dass bereits das Prinzip, welches diesen Untersuchungen zu Grunde liegt, anzufechten ist; denn es wird wohl niemand im Ernste behaupten wollen, dass die pathogenen Eigenschaften von vermehrungsfähigen Organismen eine Funktion des Gewichtes ihres Kulturrasens seien. Aber auch abgesehen von theoretischen Erwägungen hält das in Frage stehende Verfahren schon aus dem naheliegenden Grunde einer Kritik nicht stand, weil die Konsistenz des Tuberkelbazillenrasens nicht nur bei verschiedenen Stämmen verschieden ist, sondern selbst innerhalb des gleichen Stammes von Kultur zu Kultur wechselt. Entsprechend der verschiedenen Konsistenz wird naturgemäss auch die Zahl der Tuberkelbazillen pro Gewichtseinheit Kultur stets wieder eine andere sein. Dadurch werden aber die auf diese Weise gewonnenen Resultate für unsere Frage unbrauchbar, indem die Prüfung ein und desselben Stammes zu ganz verschiedenen Ergebnissen führen kann. Es kann daher dieses Verfahren auch nicht anders als ein Notbehelf aufgefasst werden. Erst in neuerer Zeit hat *Selter*<sup>3)</sup>) den bereits bei den ersten Versuchen *Gebhardts*<sup>4)</sup>) betretenen Weg wieder eingeschlagen. Er «stellte durch Zählung in jedem Versuch die Zahl der Bazillen fest». Da in der diesbezüglichen Abhandlung sonst keine Angaben über die weiteren Einzelheiten der von ihm befolgten Technik gemacht werden, so ist anzunehmen, dass die Zählung sich auf die mit bestimmten Mengen der Bakterienaufschwemmung angefertigten, gefärbten Ausstrichpräparate bezieht und die dem Tiere einverleibte Infektionsmenge *berechnet* wurde. Wenn auch zuzugeben ist, dass dieses Verfahren inbezug auf Genauigkeit gegenüber dem oben erwähnten einen grossen Fortschritt bedeutet und seine Ergebnisse der Wirklichkeit häufig nahe kommen, so darf andererseits nicht übersehen werden, dass es sich auch hier um eine indirekte Bestimmung der Zahl des Infektionserregers handelt, wobei die Grösse verschiedener Fehler nicht zu bemessen ist.

<sup>1)</sup> *Gebhardt*, Archiv für pathologische Anatomie u. Physiologie u. für klin. Medicin, 1890, Bd. 119, S. 127.

<sup>2)</sup> *Preyss*, Münchner med. Wochenschrift, 1891, Nr. 24 u. 25.

<sup>3)</sup> *Selter*, Deutsche medicin. Wochenschrift, 1913, II. Teil, S. 2323.

<sup>4)</sup> L. c.

Nur eine Methodik, die uns das Mittel in die Hand gibt, eine einzelne Zelle (Keim) von ihrem Ausgangspunkte (Kultur) bis zur erfolgten Einverleibung in den Körper des Versuchstieres im Auge zu behalten, befähigt uns, die Mindestzahl von Einzelzellen einer pathogenen Keimart, die eben noch zur Krankheitserzeugung genügt, in möglichst exakter Weise festzustellen. Dieses Postulat dürfte zur Zeit einzig mit Hilfe des *Burri'schen*<sup>1)</sup> Tuscheverfahrens zu erreichen sein. Wir haben daher unter Benützung des genannten Verfahrens eine Anzahl von Untersuchungen ausgeführt, deren Zweck war: die Mindestzahl von Zellen (Keimen) verschiedener Tuberkulosestämme, die noch imstande ist, beim Meerschweinchen eine Infektion hervorzurufen, zu bestimmen. Obwohl diese Versuche noch nicht zu einem endgültigen Resultate geführt haben, so glaubten wir doch in einer 1. Mitteilung davon Kenntnis geben zu sollen, einmal aus dem Grunde, weil die Weiterführung dieser Untersuchung erst nach einiger Zeit wieder aufgenommen werden kann und dann auch deshalb, weil dem einen von uns (*Thaysen*) nicht mehr die Möglichkeit geboten ist, an denselben teilzunehmen.

### B. Ergebnisse bisheriger Versuche.

In der nachfolgenden Zusammenstellung seien kurz die hauptsächlichsten Resultate von bisherigen Infektionsversuchen bei Meerschweinchen wiedergegeben. Auf vollständige Berücksichtigung möglichst aller über diesen Gegenstand erschienenen Arbeiten und Mitteilungen ist dabei nicht Bedacht genommen worden; immerhin dürfte sie doch ein annähernd genaues Bild geben über den derzeitigen Stand der Frage.

Bei den ersten diesbezüglichen Versuchen wurde verschiedenartiges aus dem menschlichen und tierischen Körper stammendes tuberkelbazillenhaltiges Material verwendet. Die Ermittlung der Zahl von Tuberkelbazillen, die dem Versuchstiere einverleibt worden sind, erfolgte durch Zählen unter dem Mikroskop der in einer abgemessenen, mit einem bestimmten Volumen Wasser verdünnten Menge des Prüfungsmaterials vorkommenden säurefesten Stäbchen. Auf diese Weise stellte z. B. *Gebhardt*<sup>2)</sup> fest, dass mit etwa 800 Bazillen ausnahmslos tödliche Tuberkulose bei Meerschweinchen eintrat, wenn die Bazillen durch Inhalation oder subkutan oder intraperitoneal einverleibt wurden. Dagegen versagte die Fütterung noch bei Verwendung von 10 und 20 Millionen. *Preyss*<sup>3)</sup>, der ebenfalls mit Sputum arbeitete, fand, «dass zur Erzeugung einer Inhalationstuberkulose bei Meerschweinchen die verschwindend kleine Menge von  $\frac{1}{1000}$  Milligramm Sputum mit etwa 40 Bazillen mehr als genügend ist. Die Inhalation der 3—4fachen Menge lässt fast unfehlbar Tuberkulose bei den Versuchstieren entstehen».

<sup>1)</sup> *Burri*, Das Tuscheverfahren als einfaches Mittel zur Lösung einiger schwieriger Aufgaben der Bakterioskopie. Jena, Verlag von G. Fischer, 1909.

<sup>2)</sup> L. c.

<sup>3)</sup> L. c.

Die folgenden Resultate sind mit Reinkulturen des Tuberkelbazillus erhalten worden, wobei, mit Ausnahme der Untersuchung *Selters* <sup>1)</sup>, bei der Dosierung der Impfmenge vom Gewicht des feuchten Tuberkelbazillenrasens ausgegangen wurde.

*Römer* <sup>2)</sup> fand nach subkutaner Einverleibung von  $\frac{1}{25\,000\,000}$  Milligramm schwache Intrakutanreaktion nach drei Monaten, aber keine Organtuberkulose; bei Rindertuberkelbazillen war bei  $\frac{1}{100\,000\,000}$  nach drei Monaten eine schwache Organtuberkulose festzustellen. *Grüner* und *Hamburger* <sup>3)</sup> hatten bei  $\frac{1}{1\,000\,000}$  und  $\frac{1}{10\,000\,000}$  Milligramm keine Resultate, während *Ishio-Haga* <sup>4)</sup> einen positiven Fall mit  $\frac{1}{1\,000\,000}$  konstatierte. Bei den Untersuchungen *C. Fränkel's* und *E. Baumann's* <sup>5)</sup>, die die Virulenz von Tuberkelbazillen verschiedener Herkunft einer vergleichenden Prüfung unterzogen, betrug von 32 Stämmen der jeweilige noch infektiös wirkende Verdünnungsgrad der Aufschwemmung bei Einverleibung von 0,25—0,4 cm<sup>3</sup> (pro 100 g des Körpergewichtes der Tiere gelangten 0,1 cm<sup>3</sup> der betreffenden Aufschwemmung zur Anwendung):

bei 5 Stämmen	= 1 :	1000 Millionen	
» 5 »	= 1 :	2000 »	
» 5 »	= 1 :	4000 »	
» 8 »	= 1 :	10 000 »	
» 5 »	= 1 :	50 000 »	und
» 4 »	= 1 :	100 000 »	

Sie berechneten ferner die Zahl der in einem Milligramm Tuberkelbazillenkultur vorkommenden Einzelindividuen mit 100 000 000. Inbezug auf die noch zur Infektion führende Mindestzahl sprechen sie die Vermutung aus, «dass bei manchen Kulturen schon die Verpflanzung eines einzigen Keimes genügt, um eine Ansteckung mit allen ihren weiteren Folgen zustande kommen zu lassen».

*H. Findel* <sup>6)</sup> stellte fest, dass ein Milligramm feucht abgewogener Kultur von Tuberkelbazillen etwa 35 Millionen Bazillen entspricht. Von den 83 erwachsenen Meerschweinchen, die zu Inhalationsexperimenten verwendet wurden, und die Dosen von «20—290 000 Bazillen eingeatmet haben», weisen alle Tiere, welche mehr als «62» Bazillen erhalten hatten und die nicht vor dem 28. Tage an einer interkurrenten Krankheit zu Grunde gingen, eine schwere, makroskopisch sichtbare Tuberkulose auf. Von sechs Tieren, die noch kleinere Dosen erhielten, 3 Tiere = «40» und 3 Tiere = «20» Bazillen, hatte nur bei zweien die Infektion zu einer makroskopischen Veränderung geführt. Es waren dies zwei Tiere, welche «20» Bazillen er-

<sup>1)</sup> L. c.

<sup>2)</sup> *Römer*, Beiträge zur experimentellen Therapie, 1903, Heft 6, S. 1.

<sup>3)</sup> *Grüner* und *Hamburger*, Beitrag zur Klinik der Tuberkulose, Bd. 17, Heft 1.

<sup>4)</sup> Zitiert nach *Selter*, l. c.

<sup>5)</sup> *C. Fränkel* und *E. Baumann*, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, 1906, S. 247.

<sup>6)</sup> *H. Findel*, Ztschr. f. Hyg. u. Infektionskrankheiten, 1906, S. 247.

halten hatten. «Für junge Meerschweinchen genügt wahrscheinlich ein einziger Bazillus zur Infektion.» Seine Fütterungsversuche, bei welchen Dosen von «19 100—382 000» Bazillen zur Anwendung kamen, fielen sämtliche negativ aus, d. h. bei keinem der Tiere wurde irgend ein Befund erzielt, der auf Tuberkuloseinfektion hätte schliessen lassen. *Selter* <sup>1)</sup>, der, wie wir bereits früher anführten, die Zahl der Bazillen in jedem Versuch durch «Zählung» ermittelte, bemerkt zu der Frage über die in 1 Milligramm vorkommenden Einzelindividuen: «Man kann annehmen, dass in einem Milligramm mindestens 1 Milliarde Bazillen enthalten sind.» Bei Injektionen von 100, 1000, 10 000 und 1 000 000 Bazillen konnten bei subkutaner, intraperitonealer und intravenöser Einverleibung keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der Lebensdauer und der pathologisch-anatomischen Erscheinungen beobachtet werden. Bei subkutaner Injektion gelang es, Meerschweinchen noch mit 10 Bazillen sicher zu infizieren. Durch Inhalation konnten Meerschweinchen ebenfalls mit etwa 10 Bazillen infiziert werden.

Eine Reihe von Untersuchungen mit anderen Versuchstieren, wie namentlich Kaninchen, Ratten, Mäusen etc., ist ausgeführt worden, um bei diesen Tieren die Mindestmenge, die noch zur Infektion führt, zu ermitteln. Die hierbei angewandten Arbeitsverfahren waren dieselben wie die bei den Meerschweinchenversuchen.

Zusammenfassend ergibt sich nun aus den obigen Ausführungen, dass mit den bisher zur Lösung der uns hier beschäftigenden Frage verwendeten Prüfungsverfahren beinahe ausnahmslos Ergebnisse erhalten wurden, die die Ansicht erwecken, es genüge zur Herbeiführung einer Tuberkuloseinfektion beim Meerschweinchen ein einziger Bazillus oder einige wenige (10—20).

### C. Eigene Versuche.

#### *Arbeitsmethodik.*

Von der zu prüfenden Tuberkelbazillenkultur wurde jeweilen eine kleine Oese Material mit ca. 10 cm<sup>3</sup> steriler Kochsalzlösung im Achatmörser verrieben. Da es trotz stundenlangen Verreibens nicht gelingt, eine Aufschwemmung zu erhalten, in welcher die Organismen gleichmässig und einzeln verteilt sind — stets finden sich noch Klümpchen von mehreren aneinander haftenden Zellen — so liessen wir die Bakterienaufschwemmung, nach Ueberführung in ein steriles Reagensglas, einige Stunden zum Sedimentieren stehen. Nach dieser Zeit wurden auf einem gründlich gereinigten und in der Flamme sterilisierten Objektträger mittelst einer grossen Oese 3—4 Tropfen steriler Tusche nebeneinander aufgetragen und zunächst ein Tropfen mit einer kleinen Oese Material aus der überstehenden Partie der Bakterienaufschwemmung in üblicher Weise beschickt, dann mittelst der kleinen Oese Material des ersten Tuschetropfens in den zweiten, von diesem in den dritten u. s. w. übergeführt, bis die jeweilen passende Verdünnung

<sup>1)</sup> L. c.

erreicht war, was an Hand von Kontrollpünktchen festgestellt wurde. Mittelst einer kleinen Zeichnungsfeder (Tuschefeder) wurden dann in analoger Weise wie bei Ermittlung des passenden Verdünnungsgrades der Bakterienaufschwemmung in Tusche, mit Material der letzteren auf gut abgekühlte Gelatineplatten Pünktchen angefertigt, dieselben mit sterilen runden Deckglasplättchen von ca. 3 mm Durchmesser, deren Rand durch Erhitzen in der Flamme stumpf gemacht war, zugedeckt, und die Keimzahl der einzelnen Pünktchen bestimmt. Für die Zählung benützten wir das Oelimmersionssystem. Das Oel wurde dann, bevor wir die Plättchen mit den anhaftenden Keimen abhoben, mit Toluol entfernt. Zur Vornahme der Impfung wurden die Tiere chloroformiert. Als Einführungsstelle bedienten wir uns in allen Fällen der seitlichen Bauchgegend. Im Umkreise eines Fünffrankenstückes wurden die Haare abrasiert, die Haut mit Sublimat (1 : 1000) und sodann mit Alkohol desinfiziert. Je nachdem nun die Impfung subkutan oder intraperitoneal zu erfolgen hatte, wurde nur die Cutis oder die Bauchdecken und das Peritoneum parietale durchschnitten und das Impfmateriale, bestehend aus dem Glasplättchen mit den anhaftenden und abgezählten Tuberkelbazillen, mittelst Pinzette eingeführt, die Wunde sorgfältig zugenäht und mit in Collodium getränkter Watte bedeckt. Meist schon nach wenigen Tagen war sie verwachsen.

### 1. Versuchsreihe.

In einer ersten Versuchsreihe war beabsichtigt, die Mindestzahl von Tuberkelbazillen, die bei Meerschweinchen zur Infektion führt, an einem möglichst *virulenten* Stamme zu ermitteln. Mit der zu diesem Zwecke vorgesehenen Kultur, «Tbc humanus», wurde zunächst ein Meerschweinchen geimpft und der aus dem umgestandenen Tiere gezüchtete Stamm zu diesen Infektionsversuchen benützt. In Anlehnung an die von den bisherigen Autoren beinahe ausnahmslos vertretene Ansicht, dass zur Infektion nur ein oder einige wenige Keime erforderlich seien, wählten wir als Impfdosen relativ kleine Keimzahlen. Verschiedene Erwägungen, wie namentlich auch der Wunsch, bereits bei dieser ersten Versuchsreihe zu positiven Resultaten zu gelangen, liessen es uns aber doch als ratsam erscheinen, mit der kleinsten Menge nicht unter 10 Zellen zu gehen. Am 7. September 1911 wurden nun vorerst 4 und am 12. Dezember 1911 dann weitere 16 Tiere geimpft. Die benutzte Tuberkelbazillenkultur (auf Glycerinagar) war im ersteren Falle 3 Wochen alt und direkt aus dem Tierkörper isoliert worden, während jene des Versuches vom 12. Dezember 1911 3<sup>1</sup>/<sub>2</sub> Wochen zählte und die zweite Ueberimpfung der am 7. September 1911 verwendeten Kultur darstellte.

Von den an den beiden Tagen intraperitoneal geimpften 20 Meerschweinchen haben 19 Tiere genau abgezählte Mengen von Stäbchen und eines, das Kontrolltier, 0,5 cm<sup>3</sup> der Ausgangsaufschwemmung erhalten. Die den einzelnen Tieren einverleibte Anzahl von Bazillen betrug:

2 Meerschweinchen	= 10 Zellen	1 Meerschweinchen	= 48 Zellen
1 »	= 12 »	1 »	= 49 »
1 »	= 14 »	2 »	= 52 »
2 »	= 21 »	1 »	= 70 »
1 »	= 25 »	1 »	= 71 »
1 »	= 27 »	2 »	= 75 »
1 »	= 42 »	1 »	= 76 »
1 »	= 45 »		

In Tabelle I finden sich die Ergebnisse dieser ersten Versuchsreihe zusammengestellt und zwar nach den Impfmengen geordnet. Wie aus dieser Uebersicht zu entnehmen ist, starb das Kontrolltier bereits nach 34 Tagen an ausgedehnter Miliartuberkulose der Abdominalorgane. Damit hatte sich der zu den vorliegenden Versuchen verwendete Tuberkulosestamm als hochgradig pathogen erwiesen. Leider hatten wir zur Zeit der Impfung mit einer ruhrartigen Erkrankung in unserem Meerschweinchenbestand zu kämpfen, der, wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, auch einige der Versuchstiere schon frühzeitig — nach 13, 18, 28 und 41 Tagen — zum Opfer fielen. Ihre Sektionsbefunde waren stets negativ, d. h. es konnten bei keinem dieser Tiere irgendwelche Anzeichen von Tuberkulose konstatiert werden. Erst ein 49 Tage nach erfolgter Impfung ebenfalls mit ruhrartigen Erscheinungen umgestandenes Meerschweinchen, das mit 71 Bazillen geimpft war, ergab einen positiven Befund, indem Leber und Milz schwach vergrössert und mit hirsekorngrossen Knötchen besetzt waren. In den Knötchen der Milz gelang es auch säurefeste Stäbchen nachzuweisen. Da ausser in den beiden genannten Organen keine Knötchen aufgefunden werden konnten und demzufolge die hier konstatierte Infektion noch nicht alt war, so darf wohl als sicher gelten, dass sie auf die von uns eingeführten Organismen zurückzuführen ist. Alle noch übrigen Versuchstiere, von denen das eine nach 89, ein weiteres nach 92, ein drittes nach 118 und ein viertes nach 273 Tagen eingegangen, ferner drei nach 391 Tagen und sechs nach ca. 3 Jahren getötet worden sind, erwiesen sich bei der Sektion als vollkommen frei von Tuberkulose.

Es drängt sich nun die Frage auf, ob die Zahl von 71 Bazillen, die in der vorliegenden Versuchsreihe bei einem Meerschweinchen zur Infektion geführt hat, als infektiöse Mindestmenge zu gelten habe. Bei Vergegenwärtigung nachstehender Momente wird man dieselbe ohne weiteres mit «Nein» zu beantworten haben. Zunächst ist zu berücksichtigen, dass noch 4 Tiere annähernd diese Zahl von Bazillen (1 Tier = 70, 2 Tiere = 75 und 1 Tier = 76) erhalten haben, ohne an Tuberkulose zu erkranken, trotzdem bei zweien dieser Meerschweinchen das Körpergewicht nicht einmal die Hälfte von dem eine Tuberkuloseinfektion aufweisenden Tiere betrug. Dann ist aber besonders zu beachten, dass das hier in Frage stehende Meerschweinchen 49 Tage nach der Impfung unter ruhrartigen Erscheinungen einging. Mit grösster Wahrscheinlichkeit ergibt sich daher schon aus diesem





Tatbestand, dass die bei Tier Nr. 16 eingetretene Tuberkuloseinfektion *nur* deshalb möglich gewesen ist, weil dieses Tier infolge der intestinalen Erkrankung in seiner Widerstandskraft geschwächt war. Eine weitere Bestätigung dessen, dass 71 Bazillen des vorliegenden Tuberkulosestammes bei gesunden Meerschweinchen nicht zur Infektion führen, dürften auch die Ergebnisse der folgenden Versuchsreihe bilden.

## 2. Versuchsreihe.

Ausser dem schon in der 1. Versuchsreihe verwendeten Stamme, «Tbc humanus», der inzwischen alle 6—8 Wochen auf Glycerinagar weitergezüchtet wurde, bedienten wir uns noch zweier weiterer Stämme, bezeichnet als «Coxitis tuberculosa» und «Nierentuberkulose». Diese beiden<sup>1)</sup> sind aus chirurgischem Material des Menschen mittelst Meerschweinchenpassage gewonnen und seither (mehrere Monate) ebenfalls auf Glycerinagar, bei in Intervallen von 6—8 Wochen erfolgter Ueberimpfung, gehalten worden.

Als Impfmenge wählten wir nun ca. 100—300 Zellen, die sowohl *intraperitoneal* wie auch *subkutan* gegeben wurden.

Eine erste Impfung mit einer dreiwöchentlichen Kultur des Stammes «Coxitis tuberculosa» fand am 18. Januar 1913 statt. Es wurden im ganzen 8 Meerschweinchen geimpft, 4 intraperitoneal und 4 subkutan. Mit Ausnahme der Impfmenge des Kontrolltieres, die 0,5 cm<sup>3</sup> der Bakterienaufschwemmung (2 kleine Oesen in 10 cm<sup>3</sup> steriler Kochsalzlösung) betrug und subkutan gegeben wurde, war die Zahl der Bazillen jeder Dosis genau ermittelt worden. Sie betrug:

- a) bei den subkutan geimpften Tieren: 107, 111 und 256 Zellen;
- b) bei den intraperitoneal geimpften: 110, 128, 315 und 343 Zellen.

Am 5. Februar 1913 wurden sodann mit einer dreiwöchentlichen Kultur des Stammes «Nierentuberkulose» ebenfalls 8 Tiere geimpft, wovon 5 subkutan und 3 intraperitoneal. Die Impfmenge bei dem Kontrolltier betrug wieder 0,5 cm<sup>3</sup> der Bakterienaufschwemmung und wurde subkutan gegeben. Die 7 übrigen Tiere haben folgende Dosen erhalten:

- a) die subkutan geimpften: 99, 111, 302 und 326 Zellen;
- b) die intraperitoneal geimpften: 106, 309 und 316 Zellen.

Am 19. Februar 1913 erfolgte sodann eine Impfung von 9 Tieren mit einer ca. dreiwöchentlichen Kultur des Stammes «Tbc humanus». Es haben dabei erhalten:

- a) 4 Tiere subkutan: 110, 116, 307 und 316 Zellen;
- b) 4 Tiere intraperitoneal: 112, 121, 298 und 311 Zellen; ferner das Kontrolltier die übliche Menge von 0,5 cm<sup>3</sup> der Ausgangsaufschwemmung.

Die Ergebnisse dieser drei Parallelversuche sind in den nachfolgenden Tabellen II, III und IV zusammengestellt.

<sup>1)</sup> Die beiden Kulturen wurden uns seinerzeit vom Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität Bern (Direktor Prof. Dr. W. Kolle) durch Vermittlung des Herrn Dr. Tomarkin, Abteilungsvorsteher am genannten Institut, gütigst überlassen.

**Stamm: Coxitis tuberculosa.**

Tabelle II.

Impfung: 18. Januar 1913.

Laufende Nr. des Tieres	Applikationsmodus	Anzahl einverleibter Stäbchen	Gewicht des Tieres g	Gestorben (†) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen
21	Subkutan	107	378	† 98 Tagen	Organe frei von Tuberkulose.	Todesursache unbekannt.
22	»	111	418	† 98 »	Am Dickdarm bohngrosser verkäster Knoten. Leber und Milz zeigen einige stecknadelkopfgrosse Knötchen. Milz wenig vergrössert. Inguinaldrüsen und übrige Organe normal. Säurefeste Stäbchen nicht nachzuweisen.	Mit Knötchenmaterial aus Leber, Milz und Dickdarm von Tier Nr. 22 wird ein weiteres Meerschweinchen subkutan geimpft am 28. April 1913. Dasselbe starb am 5. Mai 1913 um. Bei der Sektion keine Tuberkulose festzustellen.
23	»	256	387	† 63 Tagen	Organe frei von Tuberkulose. Eitriger Abszess unter dem Herz.	Präparate mit Material aus dem Abszess ergeben Streptokokken.
24	Intraperit.	110	572	† 291 »	Organe frei von Tuberkulose.	Todesursache unbekannt.
25	»	128	622	† 198 »	» » » »	Todesursache nicht festzustellen.
26	«	315	393	† 23 »	An der Injektionsstelle Abszess, daneben in fibrinöser Membran die Glasplättchen und eitrige Flüssigkeit. Säurefeste Stäbchen nicht nachzuweisen, dagegen Pneumokokken. Am Uterus grosses Geschwür. Milz schwach vergrössert, ohne Knötchen. Leber normal.	
27	»	343	515	† 78 »	Organe frei von Tuberkulose; Glasplättchen am Netze eingekapselt.	Todesursache nicht festzustellen.
<b>Kontrolltier, geimpft mit 0,5 cm<sup>3</sup> der Bakterienaufschwemmung.</b>						
28	Subkutan		437	† 77 Tagen	Inguinaldrüsen verkäst, ferner Tuberkulose der Milz und der Leber. Lungen normal.	

**Stamm: Nierentuberkulose.**

Tabelle III.

Impfung: 5. Februar 1913.

Laufende Nr. des Tieres	Applikationsmodus	Anzahl einverleibter Stäbchen	Gewicht des Tieres g	Gestorben (†) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen
29	Subkutan	99	305	get. ca. 2 $\frac{1}{2}$ Jahren	Organe frei von Tuberkulose.	
30	»	111	325	† 5 Tagen	» » » » Glasplättchen nicht aufgefunden.	Todesursache unbekannt.
31	»	302	500	get. ca. 2 $\frac{1}{4}$ Jahren	Organe frei von Tuberkulose.	
32	»	326	348	† 60 Tagen	» » » » Leberinfarkt (?)	
33	Intraperit.	106	265	† 40 »	» » » » Leberverhärtung.	
34	»	309	535	† 8 »	» » » » an der Injektionsstelle grosser in Heilung begriffener Abszess.	
35	»	316	332	† 656 »	Organe frei von Tuberkulose; Glasplättchen eingekapselt.	
<b>Kontrolltier, geimpft mit 0,5 cm<sup>3</sup> der Bakterienaufschwemmung.</b>						
36	Subkutan		330	† 343 Tagen	Inguinaldrüsen hyalin käsig; Retroperitonealdrüsen linsengross, hyalin; Retrosternaldrüse erbsengross, hyalin; Milz viermal vergrössert, mit hanfkorngrossen verkästen Knötchen; Leber mit hanfkorngrossen Knötchen; Lungen hauptsächlich in den Unterlappen hirsekorngrosse Tuberkel. Nachweis säurefester Stäbchen.	

**Stamm: Tbc humanus.**

Tabelle IV.

Impfung: 19. Februar 1913.

Laufende Nr. der Tiere	Applikationsmodus	Anzahl einverleibter Stäbchen	Gewicht des Tieres g	Gestorben (†) oder getötet nach	Sektionsbefund	Bemerkungen
37	Subkutan	110	487	† 41 Tagen	Frei von Tuberkulose.	Todesursache unbekannt.
38	»	116	288	† 46 »	Frei von Tuberkulose; beide Glasplättchen bei der Impfstelle eingekapselt.	
39	»	307	451	† 70 »	Glasplättchen an der Impfstelle eingekapselt. Inguinaldrüsen und Gegend der Impfstelle normal; Milz dreimal vergrößert und dicht besetzt mit hanfkorngrossen Knötchen; Leber zeigt ebenfalls einige Knötchen von Hanfkorngrösse; am Dickdarm, direkt unter dem Glasplättchen, ein erbsengrosser, verkäster Knoten; säurefeste Stäbchen <i>nicht</i> nachzuweisen.	Mit Material von Knötchen der Milz von Tier Nr. 39 wird ein weiteres Meerschweinchen geimpft. blieb gesund.
40	»	316	426	† 84 Tagen	Frei von Tuberkulose; Glasplättchen an der Impfstelle eingekapselt.	
41	Intraperit.	112	447	get. ca. 2 Jahren	Frei von Tuberkulose.	
42	»	121	351	get. ca. 2 Jahren	» » »	
43	»	298	348	† 257 Tagen	» » »	Todesursache: Ruhrart. Infektion.
44	»	311	391	† 391 »	» » »	Todesursache unbekannt.
<b>Kontrolltier, geimpft mit 0,5 cm<sup>3</sup> der Bakterienaufschwemmung.</b>						
45	Subkutan		310	† 49 Tagen	Beide Inguinaldrüsen verkäst; Milz zweimal vergrößert und dicht mit Tuberkeln besetzt; säurefeste Stäbchen in der Milz nachweisbar.	

Es enthält Tabelle II die Resultate des Stammes «Coxitis tuberculosa», Tabelle III jene des Stammes «Nierentuberkulose» und Tabelle IV endlich diejenigen des Stammes «Tbc humanus». Wie aus diesen Befunden hervorgeht, sind die 3 Kontrolltiere der Tuberkuloseinfektion erlegen. Nach der verschieden langen Zeitdauer zu schliessen, nach der der Tod bei diesen Meerschweinchen eintrat, differiert das pathogene Vermögen der 3 Tuberkulosestämme nicht unwesentlich, indem mit «Coxitis tuberculosa» nach 77, mit «Nierentuberkulose» nach 343 und mit «Tbc humanus» nach 49 Tagen das betreffende Tier einging. Als kräftig pathogen wirkende Stämme können demnach «Tbc humanus» und «Coxitis tuberculosa» gelten, während der Stamm «Nierentuberkulose», gegenüber den beiden anderen, eine ausgesprochen geringere Virulenz besitzt.

Was nun das Verhalten der 22 Versuchstiere anbetrifft, so sind zwei davon (Nr. 30 und 34) schon innerhalb der ersten 10 Tage nach der Impfung (Nr. 30 nach 5 und Nr. 34 nach 8 Tagen) umgestanden. Alle übrigen Tiere waren mindestens drei Wochen nach der Impfung am Leben. Eine Gegenüberstellung der Daten über die Zeitdauer, die von der Impfung bis zum Tode bei den Versuchstieren einerseits und ihren Kontrolltieren andererseits verstrich, weist folgendes Verhalten auf. Bei Stamm «Coxitis tuberculosa» haben von den 7 Versuchstieren 5 länger als das Kontrolltier (77 Tage) gelebt; die beiden anderen starben, das eine nach 23, das andere nach 63 Tagen. Bei dem wenig virulenten Stamme «Nierentuberkulose» sind von den 7 Versuchstieren 4 früher als das Kontrolltier (343 Tage) eingegangen und zwar nach 5, 8, 40 und 60 Tagen. Und bei Stamm «Tbc humanus» starben von 8 Tieren 2 früher als das Kontrolltier (49 Tage), ein Meerschweinchen nach 41 und das zweite nach 46 Tagen.

Bei den Sektionen der 22 Versuchstiere wurden bei 2 Meerschweinchen (Nr. 22 und 39, das erstere mit 111 Bazillen des Stammes «Coxitis tuberculosa», das andere mit 307 Bazillen des Stammes «Tbc humanus» geimpft) in einigen Organen dubiose Knötchen angetroffen. In beiden Fällen fiel indessen das Ergebnis der näheren Prüfung auf das Vorhandensein einer Tuberkuloseinfektion negativ aus. Es konnte somit bei keinem der 22 Meerschweinchen, die mit Mengen, welche zwischen 99 und 343 Zellen variierten, geimpft waren, eine Tuberkuloseinfektion konstatiert werden.

### Zusammenfassung.

Bei der Prüfung der Frage über die Mindestzahl von Tuberkelbazillen, welche bei Meerschweinchen zur Infektion führt, wurde die Impfdosis mit Hilfe des *Burri'schen* Tuscheverfahrens bestimmt, das ein absolut genaues Abmessen (Zählen) der Bakterien gestattet und es ferner möglich macht, die unter dem Mikroskop gezählten Organismen zur Impfung zu verwenden.

In einer ersten Versuchsreihe haben 19 Meerschweinchen von einer hochgradig pathogenen Kultur Dosen erhalten, welche zwischen 10—76

Bazillen varièrent. Nur bei einem mit 71 Zellen geimpften Tiere, das nach 41 Tagen unter ruhrartigen Erscheinungen eingegangen war, konnte eine Tuberkuloseinfektion konstatiert werden.

Bei einer zweiten Versuchsreihe mit Kulturen von 3 Tuberkulosestämmen, worunter 2 sehr pathogenen, wurden 22 Tiere mit Mengen, die zwischen 99—343 Bazillen differierten, geimpft. Das Resultat fiel negativ aus, d. h. es liess sich ausser bei den Kontrolltieren in keinem Falle eine Tuberkuloseerkrankung feststellen. (Die beiden einzig nicht ganz eindeutigen Sektionsbefunde ergaben bei der weiteren Prüfung keine Anhaltspunkte für die Annahme einer etwaigen Tuberkuloseinfektion.)

Die vorliegenden Untersuchungsergebnisse stehen demnach im Widerspruche mit der beinahe ausnahmslos vertretenen Ansicht, dass zur Tuberkuloseinfektion beim Meerschweinchen ein einziger oder einige wenige Zellen (10—20) genügen. Dieses Divergieren der früheren Ergebnisse von unseren Befunden ist wohl darauf zurückzuführen, dass die bei den älteren Untersuchungen angewandten Verfahren eine absolut genaue Ermittlung der Zahl von Bazillen, welche jeweilen den Versuchstieren einverleibt wurde, ausschlossen.

## La ration alimentaire du soldat.

Par le Dr M. BORNAND, privat-docent à l'Université de Lausanne.

Parmi toutes les questions d'hygiène militaire, le problème de l'alimentation du soldat a pris une des places les plus importantes.

Mieux une troupe sera nourrie, plus on pourra attendre d'elle des efforts considérables, et plus sa résistance vis-à-vis de certaines maladies sera grande. Une alimentation insuffisante prédispose à l'action des germes infectieux. L'histoire des guerres, des sièges, les famines qui ont sévi aux *Indes*, en *Irlande*, en *Silésie*, dans les *Flandres*, nous en donnent des exemples frappants.

Chez tous les individus affaiblis par les privations, les germes trouvent des terrains propices pour exercer leurs ravages et c'est dans ces conditions qu'on voit apparaître la *variolo*, la *dysenterie*, la *fièvre récurrente*, le *typhus exanthématique*, la *fièvre typhoïde*, le *choléra*. C'est ainsi que dans la guerre des Balkans, les Turcs mal nourris étaient décimés par le choléra; « la peste décime les Hindous bouddhistes mal nourris et épargne les Hindous musulmans, les Parsis et les Européens »<sup>1)</sup>.

Du reste, l'expérimentation sur les animaux nous en donne des preuves: le pigeon est réfractaire au *charbon sang de rate*; si on le soumet au jeûne, il contracte la maladie; même résultat chez des rats nourris exclusivement de végétaux.

<sup>1)</sup> Cité par *Galli-Valerio*, p. 35: « Le rôle de l'hygiène dans les armées et dans les guerres. » Lausanne 1914.