

Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten
in Bern. (Direktor: Prof. Dr. W. Kolle.)

Ueber die Differenzierung des Typus humanus und Typus bovinus des Tuberkelbacillus durch Kutaninfektion beim Meerschweinchen.

Von Dr. E. Tomarkin, Vorsteher der Vakzineabteilung,
und Dr. S. Peschić, Kgl. serb. Stabsarzt, Vol.-Assistenten
am Institut.

Mit der Entdeckung des Tuberkelbacillus durch Robert Koch sind die schon früher vielfach unternommenen Versuche über die Uebertragbarkeit der Tuberkulose durch Vermittlung der Haut auf eine exakte, experimentelle Basis gestellt worden.

Von diesen zahlreichen älteren und neueren Arbeiten bieten jedoch im Hinblick auf die uns beschäftigende spezielle Frage nur jene Versuche besonderes Interesse, die darauf ausgingen, von der unverletzten Haut aus eine tuberkulöse Infektion bei empfänglichen Tieren hervorzurufen.

Solche Versuche sind zum ersten Male von Perez und Simoncini ausgeführt worden, die durch Einreiben von Tuberkelbazillen in die intakte, nicht rasierte Haut lokale tuberkulöse Veränderungen erzeugen konnten, an welchen sich in der Folge eine allgemeine Tuberkulose anschloß.

Manfredi und Frisco unternahmen ihre Infektionsversuche an der rasierten Bauchhaut von Meerschweinchen, mit dem Ergebnis, daß bei allen geimpften Tieren eine allgemeine Tuberkulose und bei einer größeren Anzahl dazu noch Geschwürsbildung an der Impfstelle auftrat.

Weitere Versuche in der erwähnten Richtung stammen von Fritsche (an Meerschweinchen und Kaninchen), J. Mayer (an Meerschweinchen), Nouri (an Meerschweinchen), Babes (an Meerschweinchen), Courmont und André (an Meerschweinchen und Kaninchen), Courmont und Lessieur (an Kaninchen, Meerschweinchen und Kälbern), C. Fraenkel (an Meerschweinchen) u. a. Trotz wechselnder Methodik sind alle genannten Autoren zu den gleichen positiven Ergebnissen gelangt. Als Infektionsmaterial wurden bei diesen Versuchen Reinkulturen von Tuberkelbazillen sowie Krankheitsprodukte und Organe von Menschen und Tieren benutzt.

Gegen diese Versuche, in erster Linie gegenüber den Experimenten von C. Fraenkel, aus welchen übereinstimmend hervorgegangen war, daß eine tuberkulöse Infektion von der unverletzten Haut bewerkstelligt werden kann, ist nun von Takeya und Dold in einer kleineren experimentellen Studie, die sich im ganzen bloß auf zwölf Tiere (Meerschweinchen) erstreckt, der Einwurf erhoben worden, daß die den betreffenden Arbeiten zugrunde gelegte Versuchsmethodik nicht geeignet sei, die Frage in eindeutiger Weise zu entscheiden, weil dabei die Möglichkeit einer Infektion auf einem anderen als dem beabsichtigten Wege, wie beispielsweise durch Ingestion oder Inhalation, nicht ausgeschlossen erscheint. Außerdem machten Manfredi und Frisco geltend, daß bei der Enthaarung durch Rasieren kleinste Verletzungen entstehen können, die zwar für das bloße Auge unsichtbar sind, immerhin aber als Eintrittspforten für das Virus durchaus genügen.

C. Fraenkel bewies jedoch in weiteren Versuchen, die unter Beobachtung aller von Manfredi und Frisco hervorgehobenen Momente ausgeführt wurden, daß die Erzeugung einer tuberkulösen Infektion auch von der vollkommen unverletzten Haut gelingt. Bei diesen Versuchen wurden die Tiere zum Teil durch chemische Mittel enthaart, zum Teil rasiert und dann drei Tage sich selbst überlassen, damit die etwa entstandenen kleinsten Verletzungen sich inzwischen schließen können. Zur Verhinderung einer nachträglichen Infektion durch Ablecken etc. wurden die geimpften Stellen mit Kollodium überzogen und die Tiere zudem einige Zeit in Einzelkäfigen belassen. Von den so behandelten 25 Meerschweinchen erkrankten fast alle an Tuberkulose. Lokale Veränderungen waren bei keinem einzigen Tiere aufgetreten.

Königsfeld hat in einer umfangreichen Studie die Frage nochmals aufgenommen und mittels einer exakten, durchaus einwandfreien Versuchsanordnung zu entscheiden gesucht. Durch Anwendung chemischer Mittel bei der Enthaarung neben dem Entfernen der Haare durch Rasieren oder durch einfaches Schneiden, mit Hilfe besonderer Vorsichtsmaßnahmen beim Akte der Infektion, durch Anbringen von abschließenden Verbänden an den infizierten Hautstellen und schließlich durch Isolierung der infizierten Tiere suchte Königsfeld alles auszuschalten, was den Ausgang der Experimente in irreleitender Weise hätte beeinflussen können. Als Infektionsmaterial benutzte Königsfeld Tuberkelbazillen vom Typus humanus und bovinus sowie tuberkulöses Sputum und als Versuchstiere ausschließlich Meerschweinchen.

Königsfeld kommt auf Grund seiner Versuche zu dem Ergebnis, „daß die Tuberkelbazillen imstande sind, die unverletzte Haut zu durchdringen, gleichgültig, ob die Haare durch Rasieren, Epilieren oder Schneiden entfernt werden“. Weiterhin hebt Königsfeld in Übereinstimmung mit Courmont und Lessieur hervor, daß die kutane Infektion hier und da mißlingt, wenn es sich um Stämme von geringer Virulenz oder um Krankheitsprodukte handelt, die nur spärliche Tuberkelbazillen enthalten. Unterschiede im Verhalten der Stämme von humanem und bovinem Typus konnte Königsfeld nicht beobachten. Lokale Veränderungen an der Impfstelle traten niemals auf.

Wie diese kurze literarische Uebersicht zeigt, ist von keinem der Experimentatoren darauf besonders geachtet worden, ob die kutane Methode der Infektion zu einer Differenzierung der beiden Tuberkelbazillentypen führen kann.

Aus diesem Grunde haben wir auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Kolle im April 1911 eine Reihe von Versuchen unternommen, um die aufgeworfene Frage näher zu prüfen. Wir gingen dabei von der Vorstellung aus, daß vielleicht auf Grund bestehender Virulenzunterschiede der beiden Typen bei kutaner Einbringung des Injektionsmaterials sich gewisse weitere Differenzierungsmomente ergeben würden, als Ausdruck für die verschiedene Empfänglichkeit der Meerschweinchen bei dieser Infektionsart.

Ein erster Versuch lieferte ein so eklatantes und auffälliges Resultat, daß wir uns zu weiteren Prüfungen veranlaßt sahen. Wir befolgten bei unseren Arbeiten nachstehende Methodik.

In den meisten Versuchen haben wir uns begnügt, die für die Impfung bestimmte Fläche am Bauche durch Rasieren zu enthaaren, da wir uns vielfach überzeugen konnten, daß bei geschicktem Vorgehen Verletzungen weder mit bloßem Auge noch mittels Lupe zu entdecken waren. Nur in einigen Versuchen haben wir die Enthaarung auf chemischem Wege vollzogen, ohne daß sich dabei irgendwelche Unterschiede im Verhalten der behandelten Tiere gezeigt hätten.

Das Infektionsmaterial wurde mit einem Glasstabe während der Dauer von etwa zwei bis drei Minuten auf der Bauchhaut verrieben. In der ersten Zeit hatten wir dabei noch besondere Maßnahmen getroffen, um die Möglichkeit der Infektion auf einem anderen Wege zu verhüten. Später sind wir aber davon abgekommen, weil wir uns sagten, daß bei einer erfolgreichen kutanen Impfung fast immer in relativ kurzer Zeit die benachbarten regionalen Drüsen ergriffen sein müssen, als erste wahrnehmbare Manifestation des tuberkulösen Prozesses, während bei einer Infektion durch Vermittlung des Verdauungskanal oder der Atmungs-

organe die Beteiligung der regionalen Drüsen, wenn überhaupt, erst in einem viel späteren Stadium erfolgt.

Die Quantität des benutzten Infektionsmaterials war bei allen Stämmen des gleichen Ursprungs und bei den Versuchen derselben Reihe stets genau die gleiche. Hingegen wurde vom Material menschlicher Herkunft jedesmal mindestens die fünffach größere Menge verwendet, um dadurch die erwarteten Unterschiede noch schärfer zutage treten zu sehen.

Erwähnt sei, daß die Tiere der verschiedenen Versuchsreihen in gesonderten Käfigen gehalten wurden. Zu den Versuchen wurden ausschließlich Meerschweinchen benutzt. Als Infektionsmaterial dienten etwa drei bis vier Wochen alte Kulturen verschiedener Provenienz vom Typus humanus und bovinus, tuberkelbazillenhaltiges Sputum, tuberkulöser Urin und Kaverneninhalt vom Menschen, Drüsen von perlsüchtigen Kühen und Drüseneiter von Meerschweinchen, die mit tuberkelbazillenhaltigem Material menschlicher oder boviner Herkunft vorgeimpft waren.

Die Vorbereitung des Infektionsmaterials geschah in der Weise, daß abgewogene Mengen desselben in steriler Bouillon verteilt und in bestimmten Quantitäten auf die Bauchhaut der Tiere gebracht und verrieben wurden. Wo es sich um Verimpfung von Krankheitsprodukten, wie Sputum, Urin etc. handelte, stellte man vorher mikroskopisch den Bakteriengehalt des Materials fest und berechnete danach die für die Impfung zu verwendenden Mengen.

Im folgenden verzeichnen wir die Resultate unserer Versuche im Auszug.

Gruppe I. Versuche mit Kulturen vom Typus humanus. Aus der Tabelle 1 ist ersichtlich, daß alle Tiere, welche mit Stamm A, B, 155, 42 und M geimpft worden waren, vollständig gesund blieben (Versuch 1, 3, 13, 14 und 20), während bei den Versuchen mit Stamm 47 (Versuch 18) ein Tier gesund blieb und zwei Tiere tuberkulös erkrankten. Bei Stamm Augenkliek (Versuch 21) blieben 2 Tiere gesund, und 1 Tier wurde tuberkulös. Bei Stamm 86 (Versuch 22) blieben 2 Tiere gesund, und 1 Tier wurde tuberkulös. Bei Stamm Bouillon (Versuch 25) blieb 1 Tier gesund, und 2 sind tuberkulös geworden. Von den 26 Tieren dieser Versuchsreihe sind 6 Tiere tuberkulös geworden und 20 gesund geblieben.

Gruppe II. Versuche mit Kulturen vom Typus bovinus. Die Tiere dieser Gruppe wurden in Gegenüberstellung zur Gruppe I mit gleichaltrigen Kulturen vom Typus humanus geimpft. Die Tabelle zeigt, daß sämtliche mit Stamm 1 (Versuch 2), Stamm 2 (Versuch 4), Stamm 3 (Versuch 10), Stamm Kottbus (Versuch 14), Stamm Perlsucht (Versuch 15) und Stamm bovinus (Versuch 23) kutan geimpften Tieren ausnahmslos tuberkulös erkrankten.

Hervorzuheben ist der Versuch 23, bei dem 2 aus der Gruppe I stammende mit Kultur Stamm B (Typus humanus) geimpfte und gesund gebliebene Tiere einer Nachimpfung mit einer bovinen Kultur unterzogen wurden und nach überraschend kurzer Zeit eine ausgesprochene Drüsentuberkulose zeigten.

Gruppe III. Versuche mit Krankheitsprodukten menschlichen Ursprungs. Von 11 Tieren, welche mit 4 verschiedenen Sputumproben geimpft wurden, ist kein einziges tuberkulös erkrankt. Die Sputa enthielten zahlreiche Tuberkelbazillen. Weiterhin wurden 7 Tiere (Versuch 5 und 8) mit Drüseneiter eines tuberkulösen Meerschweinchens geimpft und blieben ebenfalls gesund. Das gleiche Resultat ergab Versuch 24, wo ein Urinsediment mit ziemlich reichlichen Tuberkelbazillen zur Verimpfung gelangte. In Versuch 26 wurden 4 Tiere mit Kaverneninhalt vom Menschen geimpft. Das Material zeigte bei der mikroskopischen Untersuchung in jedem Gesichtsfeld Hunderte von Tuberkelbazillen, die meistens sowohl morphologisch wie färberisch durchaus normale Verhältnisse darbieten. 3 Tiere dieses Versuches blieben gesund, während 1 Tier tuberkulös erkrankte.

Gruppe IV. Versuche mit Krankheitsprodukten bovinen Ursprungs. In Versuch 6 sind von 4 Tieren, die mit Drüseneiter eines mit Tuberkelbazillen vom Typus bovinus infizierten Meerschweinchens geimpft worden waren, tuberkulös erkrankt. Das gleiche Resultat ergab in Versuch 12 die Verimpfung von Drüseneiter einer perlsüchtigen Kuh auf drei Meerschweinchen. (Siehe Tabelle S. 1034.)

Ein Rückblick auf unsere gesamten Versuche ergibt, daß die weitaus größte Zahl der Tiere, welche entweder mit Reinkulturen oder mit Krankheitsprodukten humanen Ursprungs geimpft worden waren, gesund geblieben ist (von 52 Tieren erkrankten nur 7 an Tuberkulose), während alle Tiere, die mit Reinkulturen oder mit Krankheitsprodukten boviner Abstammung infiziert wurden, ausnahmslos (26 Meerschweinchen) an Drüsentuberkulose und daran anschließend an allgemeiner Tuberkulose erkrankten. Ferner ist aus den Versuchen noch ersichtlich, daß bei keinem einzigen Tiere lokale Erscheinungen irgendwelcher Art an der Stelle, wo das Material verrieben war, zur Beobachtung kamen. Stets war in den Fällen, in denen die Tiere tuberkulös wurden, die

Typus humanus.

Art u. Zahl der Tiere	Datum der Infektion	No. des Versuchs	Infektionsmaterial	Datum der Untersuchung	Befund
3 Meerschw.	28. April 11	I	Kultur A	22. Juni 11	gesund
3 "	29. Juni 11	III	Kultur B	23. Sept. 11	do.
4 "	do.	V	Tbk. Meerschw.-Drüse	do.	do.
4 "	do.	VII	Tbk. Sputum	do.	do.
3 "	18. Juli 11	VIII	Tbk. Meerschw.-Drüse	28. Nov. 11	do.
3 "	do.	IX	Tbk. Sputum	19. Dez. 11	do.
3 "	19. Juli 11	XI	Tbk. Sputum	23. Sept. 11	do.
2 "	3. Nov. 11	XIII	Kultur-Stamm No. 155	4. Jan. 12	do.
2 "	9. Nov. 11	XVII	Tbk. Sputum	15. Jan. 12	do.
3 "	22. Nov. 11	XVIII	Kultur-Stamm No. 47	do.	1 ges. 2 tubk.
3 "	do.	XIX	Kultur-Stamm No. 42	do.	gesund
3 "	do.	XX	Kultur-St. Mensch.	do.	do.
3 "	do.	XXI	Kultur-St. Augenklinik	do.	2 ges. 1 tubk.
3 "	do.	XXII	Kultur-Stamm No. 86	do.	do.
3 "	28. Nov. 11	XXIV	Tbk. Urin	do.	gesund
3 "	6. Dez. 11	XXV	Kultur-Stamm Bouillon	31. Jan. 12	1 ges. 2 tubk.
4 "	22. Dez. 11	XXVI	Kaverneninhalt	15. Jan. 12	3 ges. 1 tubk.

Typus bovinus.

3 Meerschw.	28. April 11	II	Kultur I	27. Juli 11	tuberkulös
3 "	29. Juni 11	IV	Kultur II	23. Sept. 11	"
4 "	do.	VI	Tbk. Meerschw.-Drüse	do.	"
3 "	18. Juli 11	X	Kultur III	do.	"
3 "	3. Nov. 11	XII	Tbk. Kuh-Drüse	6. Dez. 11	"
2 "	9. Nov. 11	XIV	Kultur Kottbus-Stamm	15. Jan. 12	"
2 "	do.	XV	Kultur-Stamm Persucht	do.	"
6 "	28. Nov. 11	XXIII	Kultur-St. T. bovinus	4. Jan. 12	"

(Nachimpfung d. Ver. III, V, VIII)

zugehörige Drüse zuerst und allein von allen palpablen Lymphdrüsen vergrößert.

Dies auffällige Ergebnis dürfte wohl in der Annahme seine Erklärung finden, daß es sich hier um graduelle Unterschiede in der Virulenz der beiden Bakterientypen für das Meerschweinchen handelt und daß solche Differenzen in der Infektiosität, namentlich bei einem Infektionsmodus wie dem von uns benutzten, wo dem Eindringen der Erreger gewisse Widerstände entgegenstehen, in besonders prägnanter Weise zutage treten.

Da unsere Versuche im Hinblick auf die Zahl der verwendeten Tiere wie der benutzten Bakterienstämme zu wenig umfangreich sind, um aus dem verschiedenen Verhalten der Tuberkelbazillen vom Typus humanus und bovinus bei Verimpfung auf die rasierte und unverletzte Bauchhaut des Meerschweinchen weitgehende verallgemeinernde Schlußfolgerungen abzuleiten, so erscheint es angebracht, diese Verhältnisse in der angedeuteten Richtung weiter zu verfolgen, namentlich unter Berücksichtigung von Momenten, welche die Virulenz zu beeinflussen vermögen. Es wird sich dann entscheiden lassen, ob die von uns bei sechs Stämmen des Typus bovinus und bei neun Stämmen des Typus humanus festgestellten Tatsachen so regelmäßig sind, daß die Bauchhautmethode beim Meerschweinchen für differentialdiagnostische Zwecke benutzt werden kann.