Über tuberkulöse Bazillämie bei Kaninchen, die mit BCG vorbehandelt wurden.

Von

Hideo Maeta.

(前田 秀雄)

(Aus der Medizinischen Klinik und dem Kosankinbyo
Kenkyusyo der Kaiserlichen Tohoku-Universität zu
Sendai. Leiter: Prof. Dr. T. Kumagai
und Prof. Dr. T. Ebina)

(Received for publication, June 21, 1945)

Einleitung.

Über die immunisatorische und prophylaktische Wirkung der BCG, insbesondere im Tierversuch liegen schon zahlreiche Arbeiten vor. Aber über die hemmende Wirkung der BCG-Impfung auf die Entwicklung der Bazillämie, die durch nachträglich intravenös eingespritzte Tuberkelbazillen verursacht wird, sind bis jetzt nur wenige Untersuchungsergebnisse veröffentlicht worden.

Wir haben uns mit dieser Frage beschäftigt und unsere Beobachtungen seien im folgenden mitgeteilt.

Methodisches.

Als Versuchstiere wurden gesunde Kaninchen von ca 2 Kg gewählt, welche auf intrakutan eingespritztes Tuberkulin negativ reagierten. Verwendet wurden BCG, die auf dem Lockemannschen Nährboden gut wuchsen.

Um die experimentelle Bazillämie hervorzurufen verwendete man virulente Tuberkelbazillen eines humanen Stammes (Stamm Sato) unseres Laboratoriums. Zur Blutkultur entnahm man 2,0 ccm Venenblut. Dieses wurde in einem Spitzglas mit 18 ccm einer 0,1% Saponin und 0,25% Calciumhydrochlorid enthaltenden Lösung vermischt, vorsichtig geschüttelt, dann 12 Stunden lang bei Zimmertemperatur gehalten. Danach wurde das Glas 10 Minuten lang mit 3000 Umdrehungen zentrifugiert, die dabei entstehende obere klare Schicht abgenommen, wiederum 18 ccm destilliertes Wasser hinzugefügt, sanft geschüttelt und abermals zentrifugiert. Dem Niederschlag wurden unter sanftem Schütteln des Glases 5 Tropfen einer 4% igen Schwefelsäure, die in 100 ccm 5,0 gr

granuliertes Pepsin enthielt, hinzugefügt. Nach 30 Minuten wurde dieser weich gemachte Niederschlag auf drei Eiernährböden nach Oka-Katakura¹⁾ eingegeben, dann im Brutschrank aufbewahrt. 2 Monate danach wurden die Kolonien auf dem Nährboden mit blossen Augen gezählt.

Untersuchungsmethode.

Die zu verwendenden gesunden Kaninchen wurden in zwei Gruppen eingeteilt. Die erste Gruppe bildeten 13 Kaninchen, unter denen bei 4 Fällen 1,0 mg, bei 3 Fällen 5,0 mg, bei 4 Fällen 10,0 mg und bei 1 Fall 20,0 mg lebender BCG intrakutan eingepflegt wurden. Die zweite Gruppe bildeten 16 andere nichtvorbehandelte Kaninchen. Den Tieren beider Gruppen wurden 23,48 oder 82 Tage nach der BCG-Impfung je 1,0 mg virulente Tuberkelbazillen intravenös injiziert.

Im Anschluss daran wurden in Abständen von 1 bis 7 Tagen Blutproben entnommen und nach obengenannter Methode 13 mal Blutkulturversuche durchgeführt.

Dauer der Bazillämie und Zahl der Tbk-Bazillenkolonien.

Von 12 bis zum Ende des Versuchs nicht gestorbenen Kaninchen der ersten, mit BCG vorbehandelten Gruppe wurden bei 2 Fällen (Nr. 5 und 14) nur einen Tag nach der Infektion positive Kulturen erhalten und die Zahl der beobachteten Kolonien betrug 15—0 und 1—0: bei 4 Fällen (Nr. 54, 53, 52 und 19) waren die Kulturen 3 Tage lang positiv und wurden 8—3, 14—1, 21—4 und 60—10 Kolonien gezählt: bei 2 Fällen (Nr. 1 und Nr. 4) waren die Kulturen 7 Tage lang positiv und betrugen die Kolonienzahlen 20—1 und 300—2: 1 Fall 10 Tage positiv, Kolonienzahl 14—1: 1 Fall (Nr. 32) 14 Tage lang positiv, Kolonienzahl 34—1: 1 Fall (Nr. 56) 20 Tage lang positiv Kolonienzahl 30—20: 1 Fall (Nr. 55) 25 Tage lang positiv, Kolonienzahl 15—1. Bei 8 bis zum Ende des Versuchs nicht gestorbenen Kaninchen der zweiten, nicht vorbehandelten Gruppe wurde bei einem Fall (Nr. 70) während 20 Tagen nach der Infektion positive Kultur nachgewiesen, die dabei entstandenen Kolonien betrugen 120—3: 1 Fall (Nr. 67) war 25 Tage lang positiv, die Kolonien Zahl betrug 140—1: 4 Fälle (Nr. 68, 64, 63 und 40) 35 Tage lang positiv, Kolonien 116—1, 120—7, 150—1: 2 Fälle (Nr. 29 und 65) 62 Tage positiv, Kolonien 42—1 und 270—1. Bei dem am 41. Tag nach der Infektion gestorbenen Fall der ersten, vorbehandelten Gruppe liessen sich die Tuberkelbazillen während 35 Tagen nach der Infektion kulturell nachweisen, die Zahl der dabei entstandenen Kolonien betrug 17—1. 8 Fälle der zweiten, nicht vorbehandelten Gruppe starben. Bei 5 innerhalb 25 Tagen nach der Infektion gestorbenen Fällen (Nr. 42, 23, 21, 43 und 41) wurde bis zum Tod stetz positive Züchtung erzielt, dabei treten die Kolonien meist zahlreich auf. Die anderen 3 Tiere starben 35—55 Tage nach der

Infektion. Bei ihnen konnten wir relativ wenige Bazillen züchten.

Aus der Tabelle I kann man ersehen, dass aus dem Blut der mit BCG vorbehandelten Kaninchen Kulturen virulenter Tuberkelbazillen, die nachträglich intravenös eingeführt worden waren, weniger und kürzere Zeit erhalten werden konnten als aus dem Blut der nicht mit BCG vorbehandelten Tiere.

Kurz gesagt, bei den vorbehandelten Fällen konnte man Hemmung der Bazillämie, die durch nachträglich injizierte virulente Tuberkelbazillen verursacht war, infolge BCG-Impfung feststellen.

Allergie und Bazillämie.

Bei den nicht vorbehandelten Tieren wurden ausserdem die Zusammenhänge der von den injizierten Tbk-Bazillen hervorgerufenen Tuberkulin-Allergie mit der Bazillämie untersucht. Wie die Tabelle zeigt, war die Dauer der Bazillämie desto kürzer, je früher die Tuberkulinreaktion positiv ausfiel. Bei den 6 bis zum Tod nicht auf Tuberkulin reagierenden Fällen konnte man bis zum Tod Bazillämie nachweisen. Einen direkten Zusammenhang der Tuberkulinreaktionsstärke mit der Bazillämie-Dauer konnten wir aber nicht finden.

Ferner wurde das Verhältnis der durch die BCG-Impfung hervorgerufenen Tuberkulin-Allergie zu der durch die sekundär injizierten virulenten Tuberkelbazillen verursachten Bazillämie untersucht. Wie die Tabelle zeigt, konnten wir eine enge Beziehung zwischen diesen beiden Erscheinungen feststellen: die Kaninchen, bei denen die durch die BCG-Impfung erzeugte Tuberkelallergie später auftrat, zeigten eine länger andauernde durch die virulenten Tuberkelbazillen hervorgerufene Bazillämie als die, bei denen die Tuberkulinreaktion frühzeitiger positiv ausfiel.

Einen wichtigen Zusammenhang zwischen der zur Impfung angewendeten BCG-Menge und der durch die virulenten Tbk-Bazillen erzeugten Bazillämie konnte wir in unseren Versuchen nicht feststellen.

Bazillämie und Sektionsbefunde.

Eine interessante Frage ist auch die, ob die Tuberkelbazillämie anderen pathologischen Veränderungen parallel geht. Alle Tiere, die während des Versuches starben, wurden gleich nach dem Tod sezirt und die am Leben gebliebenen 63 Tage nach der Infektion mit virulenten Bazillen zwecks Feststellung der pathologischen Veränderungen getötet. In der Tabelle I habe ich die bei verschiedenen Organen beobachteten tuberkulösen Veränderungen und die Dauer der tuberkulösen Bazillämie zusammengestellt.

Bei den mit BCG-vorbehandelten Tieren ist keine enge Beziehung zwischen der Zeitdauer, in der man die Tuberkelbazillen im Kulturversuch nachweisen kann, und den pathologischen Veränderungen zu finden.

TABELLE I.

Nr. Kaninchen	Menge der BCG (mg)	Tage bis Positivwer- den der Tuberkulin- reaktion durch BCG	Tuberkulinreaktion gleich vor Tbk.-Baz.	Menge der virulen- ten Tbk.-Baz. (mg)	Tage bis Positiv- werden der Tuberkulin- reaktion durch virulenten Tbk.-Baz.	Tage nach der Infektion, wo Bazillämie nachgewiesen										Positive Kultur- dauer	Tage bis Tod nach Infektion mit Tbk.-Baz.	Sektionsbefund																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																	
						1	3	7	10	14	20	25	30	35	42			47	55	62	Lunge	Milz	Leber	Niere	Darm	Lymph- drüse																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																																									
5	10,0	13	15×15	2,0		15	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	62	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

(+) . . . gestorben Nr. 1, 4, 5, mit 2 mg Tuberkelbazillen infiziert.

Bei den nichtvorbehandelten Tieren, die während des Versuches starben, sind makroskopisch keine deutlichen pathologischen Veränderungen nachweisbar, obgleich bei ihnen die Bazillämie immer positiv war; bei den ohne BCG-Impfung getöteten Kaninchen aber trat die tuberculöse Bazillämie länger auf und waren die pathologischen Veränderungen deutlicher, als bei den mit BCG vorbehandelten.

Nach Corper u. Vidal,²⁾ Tiedemann,³⁾ Strempell,⁴⁾ Mischlow u. Park,⁵⁾ Guichard,⁶⁾ Duchaine,⁷⁾ Ueda⁸⁾ und Irimami⁹⁾ soll bei den von 1,0–0,1 mg virulenten humanen bzw. bovinen Tbc-Bazillen intravenös infizierten Kaninchen ca 2 Wochen lang positive Kultur erhalten werden. Auch bei den von mir beobachteten Kaninchen konnte ich in einem Zeitraum von 20 bis 62 Tagen positive Kulturen erzielen, obgleich ihre zeitliche Schwankung sehr gross und unregelmässig war.

Im Bezug auf den Einfluss der BCG-Impfung auf die Bazillämie, die sekundär durch virulente Tuberkelbazillen verursacht wurde, beobachteten Ninni et Monaldi¹⁰⁾ und Duchaine¹¹⁾ eine deutlich hemmende Wirkung. Wir haben in unseren Versuchen gesehen, dass bei mit BCG vorbehandelten Tieren 1–10 Tage nach der Tuberkelbazilleninfektion relativ wenig Kolonien aus Blut gezüchtet werden konnten. Bei den nichtvorbehandelten Tieren, deren Tuberkulinreaktion innerhalb kurzer Zeit positiv wurde, währte die tuberculöse Bazillämie 20–25 Tage, während aus dem Blut der Tiere ohne BCG-Impfung, bei denen die Tuberkulinreaktion noch später positiv ausfiel, 35–62 Tage lang Bazillen kulturell nachweisbar waren.

In unseren Versuchen konnten wir auch die Schutzwirkung der BCG gegenüber der Tuberkuloseinfektion nicht nur in der hemmenden Wirkung auf die Bazillämie, die sekundär durch virulente Tuberkelbazillen verursacht wird, sondern in der Sterblichkeit durch virulente Tuberkelbazillen kennen lernen.

Ferner gab Bacanu¹²⁾ an, dass bei den mit BCG vorbehandelten und nachträglich infizierten Tieren eine Verspätung im Auftreten der Bazillen in den Organen festzustellen war. Andererseits sprachen Bouquet et Laporte¹³⁾ die Ansicht aus, dass während der ersten 2 Wochen nach der Superinfektion die Bazillen an Ort und Stelle liegen bleiben und erst später in Lymphknoten gefunden werden. Wir haben auch beobachtet, dass die Lungen der mit BCG vorbehandelten und nicht vorbehandelten Kaninchen fast gleich stark, aber andere Organe der letzteren in der Mehrzahl der Fälle stärker befallen waren, als bei den ersteren. Dies bedeutet, dass die Erkrankung sich bei den nichtvorbehandelten auf dem Blutwege schneller allgemein verbreitet als bei den mit BCG vorbehandelten.

Aus den oben besprochenen Beobachtungen an meinen Versuchstie-

ren darf man folgende Schlüsse ziehen.

1) Bei zuerst mit BCG vorbehandelten und dann mit virulenten Tuberkelbazillen intravenös infizierten Kaninchen ergeben Kulturversuche nur kürzere Zeit und in geringerer Anzahl Tuberkelbazillen als bei den nicht vorbehandelten.

2) Aus dem Blut der Kaninchen, bei denen virulente Tuberkelbazillen intravenös injiziert werden, lassen sich Tuberkelbazillen aus dem Blut desto leichter kultivieren, je früher der Kulturversuch nach der Infektion angestellt wird, sehr schwer aber in späteren Stadien.

Diese Forschung wurde durch Überlassung von Geldmitteln des Unterrichtsministeriums für wissenschaftliche Forschung ausgeführt, wofür herzlich gedankt sei. Prof. Dr. T. Kumagai und
Prof. Dr. T. Ebina.

Literatur.

- (1) Oka-Katakura, Tohoku Ig. Z., 1939, **24**, 71. Nihon Rinsyo Kekkaku, 1940, **1**, 829.
 - (2) Corper u. Vidal, Amer. Rev. Tbc., 1935, **32**, 575.
 - (3) Tiedemann, Beitr. Klin. Tbk., 1932, **81**, 450.
 - (4) Stempel, Zbl. Bak. I orig., 1934-35, **133**, 159.
 - (5) Mischlow u. Park, J. Prev. Med., 1932 **28**, 875.
 - (6) Guichard, Beitr. Klin. Tbk., 1932, **80**, 285.
 - (7) Duchaine, Amer. Rev. Tbc., 1938, **37**, 507.
 - (8) Ueda, Nihon Biseibutu Z., 1939, **33**, 1465; 1940, **34**, 45.
 - (9) Irimami, Hukuoka acta Med., 1942, **35**, 1064.
 - (10) Ninni et Monaldi, C.r. Soc. Biol., Paris, 1933, **113**, 377.
 - (11) Duchaine, Amer. Rev. Tac., 1938, **37**, 520.
 - (12) Bacanu, C. r. Soc. Biol. Paris, 1935, **120**, 1061.
 - (13) Bouquet et Laporte, Zbl. Tbk-Forsch., 1936, **44**, 501.
-