Ueber die erreichbare Genauigkeit der Kulturmethode zum Nachweis von Tuberkelbazillen.

Von

Risyun Yasumoto.

(安本 利俊)

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

(Received for publication, March 23, 1946)

I. Einleitung

Es versteht sich von selbst, welch grosse klinische und sozialhygienische Bedeutung der Nachweis von Erregern der Infektionskrankheiten hat. Die Tuberkulose als eine chronische Infektionskrankheit macht keine Ausnahme. Darum ist es selbstverständlich, dass sich bisher viele Autoren sehr um den Nachweis der Tuberkelbazillen bemüht haben. Bei uns in Japan waren die Bemühungen Prof. Kumagais¹⁾²⁾ und seiner Schüler um die Kultur dieser Bakterien klinisch und technisch von Erfolg gekrönt, so dass jetzt diese ursprünglich nur schwer zu kultivierenden Krankheitserreger überall kultiviert werden können.

Darüber, in welcher Menge Tuberkelbazillen im zu untersuchenden Material vorhanden sein müssen, um durch Kultur nachgewiesen werden zu können, wissen wir indessen bis jetzt nur sehr wenig. Butschowitz³⁾ gelang es, aus Sputum mit 1 mg Bakterienmasse pro 1 ccm—nach ihm enthält 1 mg Bazillenmasse 37,000,000 Tuberkelbazillen—29% lebende durch Kultur herauszuzüchten. Iibuti⁴⁾ teilte mit, dass man, wenn Tuberkelbazillen in das Blut eingeführt werden, bei der Mischung von $\frac{1}{1,000,000}$ mg Bakterienmasse pro 1 ccm eine, bei einer solchen von $\frac{1}{500,000}$ mg 2 und bei der von $\frac{1}{100,000}$ mg 15 Kolonien herauszüchten kann. Katakura, Oka⁵⁾ u.a. konnten aus $\frac{1}{500,000}$ mg Bazillenmasse 5, aus $\frac{1}{2,500,000}$ mg 2 und aus $\frac{1}{5,000,000}$ mg eine Kolonie nachweisen. Okada⁶⁾ unter-

suchte bei Lungentuberkulösen den Bakterienbefund in der Sputum-Tagesmenge gleichzeitig durch Ausstrichpräparate und Kultur und konnte 10% Bazillen aus Aputum von Gaffky IX kultivieren.

Blumenberg und Wiening,⁷⁾ Klemm,⁸⁾ Bogen und Benett,⁹⁾ Petroff und Steenken,¹⁰⁾ Winterberg,¹¹⁾ Jordan,¹²⁾ Mikami¹³⁾ u.a. zählten die Tuberkelbazillen in 1 mg Masse. Wir haben nun vorliegende Untersuchungen durchgeführt, um festzustellen, wieviel Tuberkelbazillen in Sputum, Magensaft, Gurgelwasser, Exsudat usw. vorhanden sein müssen, um durch Kultur nachgewiesen werden zu können.

II. Zählung- und Kulturmethode der Tuberkelbazillen.

1. Zählung der Tuberkelbazillen.

Zu den Versuchen dienten auf Lockemannscher Nährflüssigkeit 3 Wochen lang kultivierte, gut gedeihende Tuberkelbazillen des Typus humanus. Nachdem man sie mit trockenem, sterilisiertem Filterpapier hinreichend entwässert und ihr Gewicht bestimmt hatte, stellte man unter Zusatz steriler physiologischer Kochsalzlösung durch zerreiben im Achatmörser eine Emulsion von 1 mg Tuberkelbazillen pro 1 ccm her. Man verdünnte sie 10 fach und berechnete dann die enthaltenen Bakterien ebenso wie Mikami¹³⁾ mit Hilfe der Reichert schen Bazillenzählkammer.

2. Kulturmethode der Bazillen-Kontrollemulsion.

Zuerst wurde eine Emulsion von 1 mg Tuberkelbazillen des Typus humanus pro ccm 0,9% iger steriler physiologischer Kochsalzlösung hergestellt. Durch Verdünnung wurden aus dieser vor jedem Versuche Emulsionen von $\frac{1}{10,000}$ mg, $\frac{1}{100,000}$ mg, $\frac{1}{1,000,000}$ mg und $\frac{1}{10,000,000}$ mg Bazillen pro ccm hergestellt. Jeweils 0,05 ccm davon kamen auf 5–20 Oka-Katakurasche Phosphorsäuresalz-Azinomoto-Eier-Nährböden. Aus den herausgezüchteten Kolonien berechnete man die Kolonienzahlen auf je 1 ccm Bakterienaufschwemmung. Aus den viermal wiederholten Versuchen ergab sich, dass 1 mg Bazillenmasse 140,000,000, 150,000,000, 127,000,000, 270,000,000, also durchschnittlich 166,000,000 Tuberkelbazillen des Typus humanus enthält. Mithin beträgt die Bazillenzahl in $\frac{1}{10,000}$ mg, $\frac{1}{100,000}$ mg, $\frac{1}{1,000,000}$ mg und $\frac{1}{10,000,000}$ mg Bakterienmasse jeweils 12,706–27,000, 1,270–2,700, 127–270 bzw. 12–27, durchschnittlich also 16,625, 1,663, 166 bzw. 21. Die Kolonienzahl beträgt 186–556, 52–96, 4–12 bzw. 0–1, durchschnittlich also 310, 80, 8 bzw. 1. Die Bazillenzahl für eine Kolonie beläuft sich bei der Konzentration von $\frac{1}{10,000}$ mg auf 48–68, durchschnittlich 54, bei der von $\frac{1}{100,000}$ mg auf

16–28, durchschnittlich also 21, bei der von $\frac{1}{1,000,000}$ mg auf 12–27, durchschnittlich 20 und bei der von $\frac{1}{10,000,000}$ mg, durchschnittlich 23. Also bilden bei der Emulsion von $\frac{1}{10,000}$ mg 50 und bei denen von $\frac{1}{100,000}$ $\frac{1}{10,000,000}$ mg 24–20 Tuberkelbazillen eine Kolonie.

TABELLE 1.

Beziehungen zwischen Bazillen- und Kolonienzahl in Emulsionen von Tuberkelbazillen (*Typus humanus*).

Bazillenmenge (mg)	Versuch I			Versuch II			Versuch III		
	Bazillenzahl	Kolonien	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Bazillenzahl	Kolonien	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Bazillenzahl	Kolonien	Bazillenzahl pro eine Kolonie
$\frac{1}{140,000,000}$				$\frac{1}{150,000,000}$			$\frac{1}{127,000,000}$		
$\frac{1}{10,000}$	14,000	204	68	15,000	296	50	12,000	186	68
$\frac{1}{100,000}$	1,400	84	16	1,500	88	17	1,200	52	24
$\frac{1}{1,000,000}$	140	8	17	150	12	12	120	4	31
$\frac{1}{10,000,000}$	14	1	14	15	0		12	0	

Bazillenmenge (mg)	Versuch IV			Durchschnitt		
	Bazillenzahl	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Bazillenzahl	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie
$\frac{1}{270,000,000}$				$\frac{1}{166,250,000}$		
$\frac{1}{10,000}$	27,000	556	48	16,625	310	54
$\frac{1}{100,000}$	2,700	96	28	1,662	80	21
$\frac{1}{1,000,000}$	270	10	27	166	8	20
$\frac{1}{10,000,000}$	27	1	27	68/4	2/4	23

III. Genauigkeit der Kulturmethode zum Nachweis der Tuberkelbazillen aus Sputum.

Zuerst wurde keine Tuberkelbazillen enthaltendes Sputum im Mörser gut und homogen zerrieben. Dann wurden hiervon 0,5 l, 2, 5 und 10 ccm in sterilisierten Zentrifugalgläschen nach Zusatz von 14,000, 1,400, 140 und 14 Tuberkelbazillen des Typus humanus gut gemischt.

Endlich wurden die Proben mit der ungefähr 4–7 fachen Menge 4%iger Schwefelsäure versetzt und nochmals mit einem sterilisierten Stäbchen tüchtig umgerührt und zerrieben. Nach 20–30 Minuten langem Stehen bei Zimmertemperatur wurden sie 10 Minuten lang mit 3,000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit abgegossen. Je 3 Ösen der Niederschläge wurden auf 5 Oka-Katakurasche Phosphorsäuresalz-Azinomoto-Eier-Nährböden gebracht, 2 Monate lang im Thermostaten bei 37°C aufbewahrt. Dabei wurden am 15., 30., 40. und 60. Tage die entstandenen Kolonien gezählt. Um die Versuchsfehler möglichst zu verringern, wurden dieselben Versuche viermal durchgeführt und aus ihnen die Mittelwerte gezogen.

Die durchschnittliche Bazillenzahl in 1 ccm Stammemulsion von 1 mg Bakterienmasse pro 1 ccm ist 140,000,000. Mithin beträgt sie bei den verdünnten Emulsionen von $\frac{1}{10,000}$ mg, $\frac{1}{100,000}$ mg, $\frac{1}{1,000,000}$ mg und $\frac{1}{10,000,000}$ mg Bazillenmasse pro 1 ccm 14,000, 1,400, 140 bzw. 14. Aus 1 ccm dieser verdünnten Aufschwemmungen wurden 204, 84, 8 bzw. 1 Kolonien herausgezüchtet. Eine Kolonie entspricht 68, 16, 17 bzw. 14 Tuberkelbazillen. Wenn man in 0,5 ccm, 1ccm, 2 ccm, 5 ccm und 10 ccm Sputum 14,000, 1,400, 140 und 14 Tuberkelbazillen einführte und

TABELLE 2.

Resultate und Empfindlichkeit der Kultur von Tuberkelbazillen aus Sputum.

Stammemulsion in 1 ccm					Menge des Sputum					
					0,5 cc			1 cc		
Bazillenmenge (mg)	Bazillenzahl	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Empfindlichkeit	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Empfindlichkeit	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Empfindlichkeit
1	140,000,000									
$\frac{1}{10,000}$	14,000	204	68	0,014	40	350	0,003	58	241	0,004
$\frac{1}{100,000}$	1,400	84	16	0,060	18	77	0,013	37	38	0,026
$\frac{1}{1,000,000}$	140	8	17	0,057	1	140	0,007	1	140	0,016
$\frac{1}{10,000,000}$	14	1	14	0,071	0			0		

Kontroll Sputum

Je 3 Ösen des durch Zentrifugieren aus Sputum gewonnenen Bodensatzes werden auf einem Nährboden gezüchtet

TABELLE 2.

(Fortgesetzt)

Stamm- emulsion in 1 cc	Menge des Sputum								
	2 cc			5 cc			10 cc		
Bazillen- menge (mg)	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit
1									
$\frac{1}{10,000}$	100	140	0,007	93	150	0,006	35	400	0,002
$\frac{1}{100,000}$	38	36	0,027	11	127	0,008	4	350	0,003
$\frac{1}{1,000,000}$	2	70	0,016	1	140	0,007	0		
$\frac{1}{10,000,000}$	0			0			0		
Kontroll Sputum									
Je 3 Ösen des durch Zentrifugieren aus Sputum gewonnenen Bodensatzes werden auf einem Nährboden gezüchtet									

kultivierte, so bildeten sich jeweils 40, 58, 100, 93, 35; 18, 37, 11, 4: 1, 1, 2, 1, 0; sowie 0,0,0, 0,0, Kolonien. Eine Kolonie entspricht bei 0,5 ccm Sputum 350, 77, 140, bei 1 ccm Sputum 241, 38, 140, bei 2 ccm Sputum 140, 36, 70, bei 5 ccm Sputum 150, 127, 140 und bei 10 ccm 400, 350 Bakterien. Das Minimum der Bazillenzahl, welche man als Kontrolle für 1 ccm Stammemulsion kultivieren kann, beträgt 14 und die Empfindlichkeit der Kultur 0,071. Die kleinste Zahl der Krankheitserreger, die man in 2 ccm Sputum kulturell nachweisen kann, beträgt aber 38 und die Empfindlichkeit der Kultur 0,017. Die Empfindlichkeit der Kultur nennen wir vorläufig, Kolonienzahl dividiert durch geimpfte Bazillenzahl, also die aus einem Bakterium zu bildende Kolonienzahl.

IV. Genauigkeit der Kulturmethode der * Tuberkelbazillen aus Magensaft

Die Versuche wurden an tuberkulinnegativen, nicht-tuberkulösen Patienten durchgeführt. Am frühen Morgen wurde vor der Nahrungsaufnahme eine sterilisierte Magensonde eingeführt und Magensaft (ungefähr 40 ccm) mittelst einer Spritze entnommen. Konnte man keinen Magensaft erhalten, wurde der Magen mit sterilem, destilliertem Wasser gespült. 20 ccm des so gewonnenen Magensaftes oder Spülwassers wurden nach Zusatz einer bestimmten Anzahl humaner Tuberkelbazillen gut gemischt; die verbleibenden Reste des Magensaftes oder Spülwassers

dienten Kontroll-kulturen. Den Versuchsmaterialien setzte man zunächst zur Auflösung des Schleimes 10 ccm 2% iger NaOH-Lösung danach bis zum leichten Opaleszieren 2,5% ige $\text{ZnSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ -Lösung zu. Der so erhaltene Niederschlag wurde 10 Minuten lang mit 3,000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen. Dann wurde nach Zugabe von 10 ccm 4%iger H_2SO_4 5 Minuten lang mit 3,000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert. Je 3 Ösen dieser Niederschläge wurden auf 5 Oka-Katakura sche Nährboden gestrichen. Die Kulturen wurden ebenso wie in den Sputum-Versuchen geprüft.

Um die Versuchsfehler möglichst zu verringern, wurden hier ebenfalls dieselben Versuche viermal wiederholt und aus ihnen die Mittelwerte gezogen.

1 mg Bazillenmasse in 1 ccm Stammemulsion enthält 150,000,000 Bakterien. Folglich beträgt die Bazillenzahl in $\frac{1}{10,000}$ mg, $\frac{1}{100,000}$ mg, $\frac{1}{1,000,000}$ mg und $\frac{1}{10,000,000}$ mg Bakterienmasse 15,000, 1,500, 150 bzw. 15, und die Kolonienzahl beträgt 296, 88, 12 bzw. 0. Eine Kolonie entspricht 56, 17 bzw. 12 Tuberkelbazillen. Wenn man diesen Bakterienaufschwemmungen 20 ccm Magensaft zufügte und dann kultivierte, so entstanden 80, 24, 2 bzw. 0 Kolonien. Eine Kolonie entspricht dabei 187, 62 bzw. 70 Tuberkelbazillen.

TABELLE 3.

Resultate und Empfindlichkeit der Kultur von Tuberkelbazillen aus Magensaft.

Bazillen- menge	Stammemulsion in 1 cc				Menge des Magensaft 20 cc		
	Bazillenzahl	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit
1	150,000,000						
$\frac{1}{10,000}$	15,000	296	50	0,019	80	187	0,005
$\frac{1}{100,000}$	1,500	88	17	0,058	24	62	0,016
$\frac{1}{1,000,000}$	150	12	12	0,080	2	70	0,013
$\frac{1}{10,000,000}$	15	0	0		0	0	
	Kontroll-Magensaft				0		

Je 3 Ösen des durch Zentrifugieren aus Magensaft gewonnenen Bodensatzes werden aus einem Nährboden gezüchtet.

Bei 20 ccm Kontroll-Magensaft fiel die Tuberkelbazillen-Kultur negativ aus. Das Minimum der Bakterienzahl, welche man aus 1 ccm Stammemulsion herauszüchten kann, beträgt also 12, und die Empfindlichkeit der Kultur 0,08. Die wenigsten Bazillen, die man aus 20 ccm Magensaft herauszüchten kann, sind dagegen 62 und die Empfindlichkeit der Kultur ist 0,016.

V. Genauigkeit der Kulturmethode zum Nachweis der Tuberkelbazillen aus Gurgelwasser

Die Versuche wurden ebenfalls an tuberkulinnegativen, nicht-tuberkulösen Kranken angestellt. Am frühen Morgen liess man die Versuchspersonen vor Reinigung der Mundhöhle mit 40 ccm aseptischem Wasser gut gurgeln, um den Schleim von der hinteren Rachenwand abzuspielen, und das Gurgelwasser in ein grosses Reagenzglas von 100 ccm Inhalt ausgiessen. 20 ccm davon wurden nach Zugabe einer bestimmten Menge Tuberkelbazillen tüchtig umgerührt und gemischt. Die verbleibenden Reste des Spülwassers wurden zu den Kontrollversuchen benutzt. Nach spontaner Niederschlagung nahm man ungefähr 10 ccm Bodensatz und gab dann die gleiche Menge 4%ige H_2SO_4 hinzu. Nach 20 Minuten langem Stehenlassen wurde das Versuchsmaterial 10 Minuten lang mit 3,000 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und mit demselben Verfahren wie bei den Sputum-Versuchen kultiviert. Die Kulturen wurden ebenfalls nach der gleichen Methode geprüft. Aus den Versuchen ergab

TABELLE 4.

Resultate und Empfindlichkeit der Kultur von Tuberkelbazillen aus Spülwasser.

Bazillenmenge	Stammemulsion in 1 cc				Menge des Spülwasser 20 cc		
	Bazillenzahl	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Empfindlichkeit	Kolonie	Bazillenzahl pro eine Kolonie	Empfindlichkeit
$\frac{1}{127,000,000}$	127,000,000						
$\frac{1}{10,000}$	12,700	186	68	0,014	72	176	0,005
$\frac{1}{100,000}$	1,270	52	24	0,040	14	90	0,011
$\frac{1}{1,000,000}$	127	4	31	0,031	0		
$\frac{1}{10,000,000}$	13	0			0		
Kontrol-Spülwasser					0		

Je 3 Ösen des durch Zentrifugieren aus spülwasser gewonnenen Bodensatzes werden auf einem Nährboden gezüchtet.

sich, dass die geringste Anzahl Bazillen, die sich aus 20 ccm Spülwasser herauszüchten lässt, 90 und die Empfindlichkeit der Kutur 0,01 beträgt während in den Kontrollversuchen mit verdünnten Bakterienaufschwemmungen eine Kolonie 68, 24 bzw. 31 Tuberkelbazillen entspricht.

VI. Genauigkeit der Kulturmethode zum Nachweis der Tuberkelbazillen aus Exsudat.

Diese Versuchsreihe wurde an Pleuritikern durchgeführt, und klares Exsudat, in welchem mikroskopisch keine Tuberkelbazillen nachweisbar waren, zu den Versuchen verwendet. Je ungefähr 20 ccm Exsudat wurden in sterilisierten Zentrifugalgeläßen mit einer bestimmten Menge Tuberkelbazillen versetzt. Nach Zugabe von 20 ccm sterilem, destilliertem Wasser wurden sie tüchtig umgerührt und gemischt und dann 24 Stunden lang im Thermostaten aufbewahrt. Nach Durchführung der Tomita¹⁴⁾ schen Fibrinmethode wurden sie 10 Minuten lang mit 3,000 Umbdrehungen pro Minute zentrifugiert und dann auf je 5 Oka-Katakura schen Nährböden kultiviert. Die Kulturen wurden ebenso wie bei den Sputum-Versuchen geprüft. 1 mg Bazillenmasse humaner Tuberkelbazillen enthält 270,000,000,000 Bazillen: mithin beträgt die Bazillenzahl in $\frac{1}{10,000}$ mg, $\frac{1}{100,000}$ mg, $\frac{1}{1,000,000}$ mg und $\frac{1}{10,000,000}$ mg Bazillenmasse 27,000, 2,700, 270 bzw. 27. Die Kolonienzahl beträgt 556, 96, 10 bzw. 1. Aus 20 ccm Kontroll-Exsudat wurden 7 Kolonien heraus gezüchtet.

TABELLE 5.

Resultate und Empfindlichkeit der Kultur von Tuberkelbazillen aus Exsudat.

Bazillen- menge (mg)	Stammemulsion in 1 ccm				• Menge des Exsudates 20 cc		
	Bazillenzahl	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit	Kolonie	Bazillen- zahl pro eine Kolonie	Empfind- lichkeit
1	270,000,000						
$\frac{1}{10,000}$	27,000	556	48	0,026	124-7=117	230	0,004
$\frac{1}{100,000}$	2,700	96	28	0,035	60-7=53	50	0,019
$\frac{1}{1,000,000}$	270	10	27	0,037	14-7=7	38	0,026
$\frac{1}{10,000,000}$	27	1	27	0,028	8-7=1	27	0,037
Kontroll-Exsudat					7		

Je 3 Ösen des durch Zentrifugieren aus Exsudat gewonnenen Bodensatzes werden auf einem Nährboden gezüchtet.

Die kleinste Bazillenmenge, welche man zur Kontrolle für 1 ccm Stammemulsion herauszüchten kann, beträgt 27, und die aus Exsudat herauszüchtbare ebenfalls 27.

VII. Zusammenfassung.

Bei der Kultur von Tuberkelbazillen denkt man leicht, alle Bazillen der zu untersuchenden Materials bildeten Kolonien. Wenn also die Kultur aus den Sekreten des Patienten negativ ausfällt, so glaubt man leicht, dass er nicht an Tuberkulose leide oder schon von ihr genesen sei. Bei der Kultur so schwer zu züchtender Bazillen wie der Tuberkelbazillen bilden aber möglicherweise nicht alle lebenden Bazillen Kolonien.

Dazu kommt noch, dass die im zu untersuchenden Material enthaltenen Bazillen nicht alle leben. Darum bildet bei der Kultur nur ein Teil von ihnen Kolonien. Bei der Kultur von Bakterienaufschwemmungen kann man den grössten Teil der Bazillen auf den Nährboden bringen. Bei der anderer Untersuchungsmaterialien aber, die mit Säure oder Alkali vorbehandelt werden müssen, wird ein Teil der in ihnen enthaltenen Bakterien abgetötet. Wenn man also daran denkt, dass nur ein Teil der enthaltenen Bazillen durch das Zentrifugieren zur Fällung kommt und dass wiederum nur ein Teil der in diesem Niederschlag enthaltene Bakterien kultiviert wird, so erkennt man, dass nur ein sehr geringer Teil der im zu untersuchenden Material enthaltenen Bazillen durch Kultur nachweisbar ist. Diese Tatsache ist in unseren Versuchen bestätigt worden, aus denen sich ergab, dass bei der Kultur von Aufschwemmungen humaner Tuberkelbazillen im grossen ganzen von 20–50, bei der aus Sputum dagegen von 40–400 und bei der aus Magensaft oder Magenspülwasser 62–187 bzw. 90–176 Bakterien eine Kolonie gebildet wird. Dass bei der Kultur aus Exsudat verhältnismässig wenige Bazillen schon eine Kolonie bildeten, beruhte wahrscheinlich darauf, dass infolge der Wirkung des Fibrins die Bakterien verhältnismässig leicht gesammelt werden konnten.

Aus den Resultaten unserer Versuche ersieht man, dass die Kultur als Nachweismethode der Tuberkelbazillen, wenn auch schon ziemlich fortgeschritten doch noch verbesserungsbedürftig ist.

VIII. Schluss.

Wir haben Emulsionen von Tuberkelbazillen des Typus humanus hergestellt und mittelst der Reichertschen Rechentafel die in ihnen enthaltenen Krankheitserreger gezählt. Gleichzeitig haben wir sie auf den Oka-Katakura schen Nährböden kultiviert und die auf diesen herausgezüchteten Kolonien gezählt, um das Verhältnis zwischen Bazillenzahl und Kolonienbildung zu untersuchen. Andererseits haben wir Tuberkelbazillen in bestimmten Mengen zu Sputum, Magensaft, Gurgel-

wasser, Exsudat usw. hinzugefügt und in der klinisch üblichen Weise auf Oka-Katakura schen Nährböden kultiviert, um ebenfalls das Verhältnis zwischen Bazillenzahl und Kolonienbildung zu untersuchen. Aus den Versuchen ergaben sich folgende Resultate:

1) Bei Kultur einer Aufschwemmung von $\frac{1}{10,000}$ mg Bazillenmasse pro 1 ccm bilden 48–68, durchschnittlich also 54 Bazillen eine Kolonie. Bei der Konzentration von $\frac{1}{100,000}$ mg und $\frac{1}{1,000,000}$ mg bilden 12–31 durchschnittlich 20 Bazillen eine Kolonie.

2) Wenn man zu Sputum Tuberkelbazillen hinzufügt, mit Schwefelsäure behandelt und 3 Ösen des durch Zentrifugieren entstandenen Bodensatzes kultiviert, so bilden bei Zusatz von $\frac{1}{10,000}$ mg Bazillenmasse 140–400, bei dem mit $\frac{1}{100,000}$ – $\frac{1}{1,000,000}$ mg 35–350 Bazillen eine Kolonie. Bei der Zugabe von $\frac{1}{10,000,000}$ mg ist der Nachweis von Tuberkelbazillen unmöglich.

3) Wenn man Tuberkelbazillen in 20 ccm Magensaft oder Gurgelwasser einführt, so bilden bei Hinzufügung von $\frac{1}{10,000}$ mg Bazillenmasse 170–190, bei der von $\frac{1}{100,000}$ – $\frac{1}{1,000,000}$ mg 60–90 Bazillen eine Kolonie.

4) Wenn man Tuberkelbazillen zu 20 ccm Exsudat hinzufügt, so bilden bei Zugabe von $\frac{1}{10,000}$ mg Bazillenmasse 230, bei der von $\frac{1}{100,000}$ – $\frac{1}{1,000,000}$ mg 38–50, bei der von $\frac{1}{10,000,000}$ mg 27 Bazillen eine Kolonie.

Diese Untersuchungen konnten durch Überlassung von Geldmitteln des Unterrichtsministeriums für wissenschaftliche Forschung ausgeführt werden, wofür herzlich gekant sei.

Prof. Dr. T. Kumagai und
Prof. Dr. T. Ebina.

Literatur.

- (1) Kumagai, Nihon Rinsyo Kekkaku, 1940, **1**, 1.
- (2) Kumagai, Haiekkaku no Sokisindan to Tiryosisin, 1940, Kanahara Tokio.
- (3) Butschowitz, Z. Tbk., 1931, **60**, 149.
- (4) Iibuti, TokyoIzisin, 1933, **2837**, 1627.
- (5) Katakura u. Oka, Tohoku Igaku Zassi, 1939, **24**, 71.
- (6) Oakda, Nihon Rinsyo Kekkaku, 1942, **3**, 849.
- (7) Blumenberg u. Wiening, Z. Tbk., 1928, **51**, 417.
- (8) Klemm, Kekkaku, 1940, **18**, 997.

- (9) Bogen a. Benett, Amer. Rev. Tbc., 1939, **39**, 89.
  - (10) Petroff u. Steenken, Proc. Soc. exp. Biol. Med., 1927, **24**, 958.
  - (11) Winterberg, Z. Hyg., 1897, **29**, 75.
  - (12) Jordan, Amer. Rev. Tbc., 1938, **38**, 241.
  - (13) Mikami, Nihon Rinsyo Kekkaku, 1944, **5**, 290.
  - (14) Tomita, Beitr. kl. Tbk., 1938, **92**, 422.
-