

Aus dem Paul-Ehrlich-Institut Frankfurt a. M. und Marburg a. d. L. (Direktor: Prof. Dr. R. PRIGGE) und dem Pathologischen Institut der Universität Marburg a. d. L. (Direktor: Prof. Dr. H. HAMPERL).

## Die experimentelle Tuberkulose der weißen Maus\*.

Von

H. GRÜN und W. KLINNER.

Mit 16 Textabbildungen.

(Eingegangen am 12. Januar 1952.)

### Inhaltsverzeichnis.

I. Historischer Überblick S. 311. — II. Material und Methode S. 312. — III. Eigener Versuch („Grundversuch“) S. 313. — IV. Besprechung des Versuches S. 324. — V. Ergänzende Versuche S. 329. — a) Verschiedene Infektionsdosis S. 329. — b) Verschiedene Tuberkelbakterienstämme S. 330. — c) Einfluß des Gewichtes der Versuchstiere S. 331. — d) Versuche zur Spontaninfektion S. 332. — e) Alter der Kultur S. 332. — VI. Ausblick S. 333. — Zusammenfassung S. 334.

Da die Tuberkuloseinfektion der weißen Maus eine immer größere Bedeutung für chemotherapeutische und andere Laboratoriumsversuche bekommt, erschien es uns notwendig, den Ablauf der experimentell erzeugten Erkrankung genau pathologisch-anatomisch und histologisch zu untersuchen, zumal in der Literatur teils unklare, teils widersprechende Angaben vorliegen.

### Historischer Überblick.

Seit den grundlegenden Untersuchungen von R. KOCH ist bekannt, daß bei weißen Mäusen mit menschlichen Tuberkelbakterien (Tbb.) eine Tuberkulose erzeugt werden kann. Eingehend hat sich dann RÖMER mit dieser Frage befaßt. Er beschreibt sowohl nach *subcutaner* als auch *intraperitonealer* Infektion mit großen Dosen von Tbb. einen sehr chronischen Verlauf, der aber schließlich zu einer Generalisierung der Tuberkulose und zum Tode der Tiere führt. Bei ihm findet sich der erste Hinweis auf die enorme Vermehrung der Tbb. gerade im Organismus der weißen Maus. RÖMER erklärt die lebhaftige Wucherung der Tbb. im Mäusekörper durch eine absolute Giftunempfindlichkeit dieser Tiere. Auch die intracelluläre Lagerung der Tbb. wird von RÖMER erwähnt. WEBER und BOFINGER stellten eingehende Infektionsversuche mit Hühnertuberkelbakterien an. MAR-MOREK erwähnt das überwiegende Befallensein der Lungen nach intraperitonealer Injektion von Tbb. Bei Infektionsversuchen mit 2—3tägigen und 2—3 Monate alten Kulturen fand er eine erhöhte Virulenz der jungen Kulturen. Bei TROMMS-DORF findet sich dann die erste Mitteilung über eine *intravenöse* Infektion mit Tbb. Mäuse, die mit 1 mg Rinder-Tbb. intravenös infiziert worden waren, starben an generalisierter Tuberkulose, die besonders in den Lungen lokalisiert war. Da

\* Auszugsweise vorgetragen von Prof. H. HAMPERL im Biologischen Verein Frankfurt a. M. (20. 11. 51) und von W. KLINNER in der Medizinischen Gesellschaft Marburg a. d. L. (3. 12. 51).

TROMMSDORF bei seinen Versuchen mit Menschen-Tbb. nach 4 Wochen keinen makroskopischen Sektionsbefund erheben konnte, empfahl er die Heranziehung des Mäuseversuches zur Differentialdiagnose Typus bovinus — Typus humanus. Auch PETERS und BINDER sowie WEBER bestätigten die größere Virulenz boviner Stämme für die Maus und hielten den Mäuseversuch für ein geeignetes differentialdiagnostisches Verfahren. Entgegen den Befunden von TROMMSDORF, PETERS und BINDER sowie denen von WEBER ergaben die Versuche BRUNO LANGES aber keine regelmäßigen Unterschiede im Verhalten humaner und boviner Stämme. Ebenso wie RÖMER fand er keine typische Überempfindlichkeit bei tuberkulös infizierten Mäusen trotz Nachimpfung mit großer Bakteriendosis intravenös oder großen Tuberkulinmengen.

*Spontane Tuberkulose bei weißen Mäusen* wurde von DE JONG beobachtet. Der Erreger wurde als Hühner-Tbb. identifiziert. M. KOCH und L. RABINOWITSCH fanden unter 100 freilebenden Mäusen 18 tuberkulöse. Die Tiere stammten aus verseuchten Hühnerställen. Erwähnung verdient in diesem Zusammenhang noch der 1939 von WELLS in Oxford entdeckte murine Tbb.-Typus, der sog. Vole-Bacillus. Er kommt unter natürlichen Bedingungen bei der Wühlmaus<sup>1</sup> vor; seine Schutzwirkung gegen eine spätere Infektion mit humanen Tbb. entspricht nach den Untersuchungen von WELLS bei Menschen und von BIRKHAUG bei Versuchstieren zumindest der des BCG.

KOLLE und SCHLOSSBERGER verwendeten als erste weiße Mäuse zu *chemotherapeutischen Versuchen*. Die Tiere wurden mit Hühner-Tbb. intraperitoneal infiziert. Bei der Behandlung mit Gold-, Silber-, Kupfer- und Jodverbindungen ergaben sich zum Teil beträchtliche Verzögerungen des Krankheitsverlaufes. Ihre Bedeutung für die experimentelle Chemotherapie gewann die Mäusetuberkulose, als es PRIGGE 1937 gelang, mit bovinen Tbb. eine akut verlaufende Infektion zu erzeugen, also mit Keimen, welche bei der menschlichen Tuberkulose eine Rolle spielen. Während die durch Säugetier-Tbb. erzeugte Tuberkulose der weißen Maus nach früheren Untersuchungen für chemotherapeutische Zwecke ungeeignet erscheinen mußte, ist es seither möglich, mit einem innerhalb von 4 Wochen abrollenden Versuch an lebenden Tieren zu arbeiten. Seit nahezu 1½ Jahrzehnten ist daher der Heilversuch an experimentell mit bovinen und humanen Tbb. infizierten weißen Mäusen — auf Grund der Untersuchungen von PRIGGE — eine Routinemethode des Paul-Ehrlich-Institutes (KÜSTER und MEYER; ARNOLD, PRIGGE und Mitarbeiter).

Seit einigen Jahren finden sich besonders in der amerikanischen Literatur zahlreiche Veröffentlichungen über die Verwendung weißer Mäuse zu Tuberkuloseheilversuchen. Wir verweisen hier auf die Literaturzusammenstellung bei RALEIGH and YOUNG und MCKEE, RAKE, DONOVICK and JAMBOR. Die amerikanischen Untersuchungen brachten jedoch nur insofern einen Fortschritt, als sie erkennen ließen, daß auch mit humanen Tbb. eine akute Infektion der weißen Maus erzeugt werden kann.

### Material und Methode.

Als *Infektionsmaterial* dienten 14—21 Tage alte Tbb.-Kulturen auf Lubenau-Eiernährboden von Typus bovinus (Stamm Tb 8 A = 30; Tb 8 B) und Typus humanus (Stamm Tb 1\*; Tb 28). Nach einem im Paul-Ehrlich-Institut entwickelten Verfahren werden die Kulturen in modifizierten Helmröhrchen (mit eingeschliffener Verschlusskappe) geführt und halten sich unter Luftabschluß viele Monate. Die Tbb. wurden mit einem Platinspatel abgeschabt, gewogen, in einem Mörser ver-

<sup>1</sup> Microtinae = 4. Familie der Nagetiere, zu der die von KOCH (S. 311) zu Versuchen benutzte Feldmaus (*Microtus arvalis*) gehört.

rieben, darauf in 0,8%iger NaCl-Lösung aufgeschwemmt und in die Schwanzvene injiziert. Das Injektionsvolumen betrug in jedem Fall 0,5 cm<sup>3</sup>.

Als *Versuchstiere* verwendeten wir ausschließlich *weiße* Mäuse (Albinos), die einer nach unseren Richtlinien aufgezogenen Zucht entstammten und die mit einem Gewicht von 16—20 g in die Versuche kamen. Je 2 Tiere wurden in einem Glas gehalten. Bei vergleichenden Untersuchungen wurden nach einer von PRIGGE und von W. SCHÄFER ausgearbeiteten Methode die Mäuse nach Gewicht und Geschlecht gleichmäßig auf die einzelnen Versuchsserien verteilt. Die Versuche wurden mit Tierkollektiven durchgeführt, für deren Verwendung bei Therapieversuchen PRIGGE schon vor Jahren eingetreten ist. Für eine statistisch sichere Auswertung sind Gruppen von mindestens 20 Tieren erforderlich. Das beste Bild des Versuchsablaufs erhält man zweifellos durch die laufende graphische Darstellung des Absterbeganges der Versuchstiere. Nach PRIGGE wird hierbei der Prozentsatz der Überlebenden als Funktion der Zeit dargestellt (s. Abb. 13—15). Besonders bei Heilversuchen liefert diese Darstellung — im Vergleich mit Kontrollen — jederzeit ein anschauliches Bild der Wirksamkeit einzelner Verbindungen. Soll das Versuchsergebnis dagegen in einer Zahl zum Ausdruck kommen, so verwenden wir das arithmetische Mittel der in Tagen gemessenen Absterbezeiten oder das von PRIGGE eingeführte harmonische Mittel, welches auch die Tiere berücksichtigt, welche das Ende des Versuches überleben.

### Eigener Versuch.

63 Mäuse wurden mit dem bovinen Tbb.-Stamm Tb 8 B (0,5 mg intravenös) infiziert. Von diesen Tieren starben 11 spontan, 52 wurden in verschiedenen Zeitabschnitten nach der Injektion getötet. Die bei diesem Versuch gemachten Feststellungen dienten gewissermaßen als Grundlage für Versuche mit anderen Stämmen und anderer Dosierung, weshalb wir diesen Versuch im folgenden als Grundversuch bezeichnen.

Die Darstellung unseres Versuches kann natürlich nur eine summarische sein insofern, als sie sich auf das Verhalten der Mehrzahl der Versuchstiere gründet. Da wir keine reinen Tierstämme benützten, war ja von vornherein mit gewissen individuellen Schwankungen zu rechnen. Haben doch RALEIGH und YOUNG derartige Schwankungen auch bei der Verwendung von Inzuchtstämmen festgestellt.

Nach der Injektion verhalten sich die Mäuse zunächst unauffällig. Etwa vom 10. Tag ab beginnt bei einzelnen Tieren das Fell struppig zu werden; gegen den 16.—19. Tag zeigen die Mäuse deutliche Krankheitserscheinungen: Die Lidränder sind entzündet und mit Borken besetzt, die Tiere hocken gekrümmt und angestrengt atmend in den Gläsern. Das Gewicht, welches zunächst noch täglich angestiegen ist, bleibt nun auf der erreichten Höhe. Erst wenige Tage vor dem Tode pflegt ein rapider Gewichtsverlust einzutreten. Unter Zunahme der Krankheitszeichen und einer meist starken Dyspnoe sterben schließlich die Tiere zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion (s. Absterbekurve Abb. 13).

*Makroskopischer Organbefund.* Bereits vom 6. Tag an finden sich mitunter feinste, glasig-klare Knötchen in den Lungen. Nach dem

10. Tage sind in den Lungen stets solche Knötchen zu sehen; neben den schon bestehenden und sich vergrößernden Herden werden neue sichtbar. Am 15. Tage etwa erscheinen die Knötchen stecknadelkopfgroß und in der Farbe grauweiß, um schließlich in einen gelblichen Farbton überzugehen. Die Lunge hat jetzt ein gesprenkeltes Aussehen, ihre Oberfläche ist durchsetzt mit leicht erhabenen gelblichen Knötchen von Hirsekorngroße und darüber. Zwischen den tuberkulösen Herden finden sich nur noch schmale Züge dunkelroten Lungengewebes.

Die *Leber* erscheint frühestens nach 2 Wochen etwas vergrößert und weist eine deutliche Läppchenzeichnung auf. Knötchen sind mit freiem Auge nicht erkennbar.

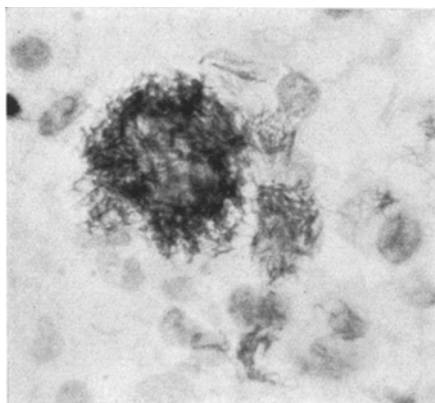


Abb. 1. Tupfpräparat von der Lunge (Grundvers.), Ziehl-Neelsen. Freie Tuberkelbakterien und von gewucherten Tuberkelbakterien erfüllte Makrophagen.

Die *Milz* ist schon wenige Stunden nach der Injektion vergrößert und dunkelrot, ihr unterer Pol erreicht nach einigen Wochen nicht selten die Blasengegend (Größen- und Gewichtszunahme etwa um das Zehnfache).

Bei wenigen Tieren finden sich Knötchen im Perikard; selten zeigen auch die Nieren feinste kalkspritzerartige Flecken.

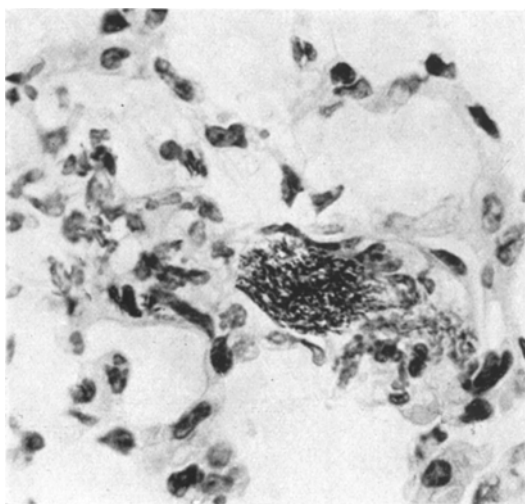
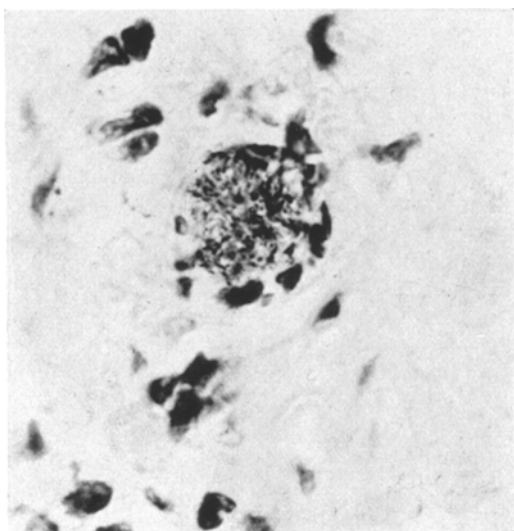
*Tupfpräparate.* Bereits am 4. Tage lassen sich in Tupfpräparaten der Organe — vorwiegend der Lungen — vereinzelt Tbb. nachweisen. In der Lunge vermehren sie sich schließlich zu einer so ungeheueren Zahl, daß etwa am 16. Tage nach der Infektion ein gefärbtes Tupfpräparat durch die Vielzahl der Bakterien schon bei Lupenvergrößerung rot erscheint — wie WEBER und BOFINGER es für die mit Hühner-Tbb. infizierte Maus beschrieben haben. In unseren Präparaten läßt sich auch die Anhäufung von Bakterien in den Zellen erkennen: diese erscheinen häufig vollgestopft mit roten Stäbchen (s. Abb. 1).

Auch die Tupfpräparate von Leber und Milz enthalten Tbb. in stark wechselnder Zahl, jedoch finden sich in beiden Organen weniger Tbb. als in den Präparaten von der Lunge. Nur gelegentlich sind größere Bakteriennester zu sehen; sie entsprechen Zellen, die mit Tbb. beladen sind. In Tupfpräparaten von den Nieren lassen sich mitunter einzelne Tbb. nachweisen. Pleura und Peritonealflüssigkeit enthalten nach dem 20. Tage reichlich Bakterien. Auch in Blut und Urin lassen sich Tbb. ohne Anreicherungsverfahren leicht darstellen.

#### *Mikroskopischer Befund.*

15 min nach der Injektion sieht man in den Capillaren und kleinen Arterien der *Lunge* zum Teil recht kompakte Tbb.-Haufen bzw. Tbb.-Emboli (Abb. 2a), die in der Regel die ganze Gefäßlichtung ausfüllen (es bleibt dabei gleich, welcher Typus von Bakterien injiziert wurde). In den kleinsten Capillaren findet man mitunter auch nur einzelne Bakterien. Frühestens 30 min nach der Injektion kann man um den Bakterienembolus im Zwischengewebe der Septen eine Anreicherung von Leukocyten erkennen (Abb. 2b). Frühestens nach 60—90 min beginnt am Rande der Bakterienemboli eine deutliche Aufsplitterung, so als ob sie durch die sich ansammelnden Leukocyten zersprengt würden (Abb. 2c). Dabei kommt es aber zu keiner Phagocytose der Bakterien durch die Leukocyten. Gleichzeitig wird die Gefäßwand undeutlich und offenbar aufgelöst. Weiterhin finden sich nunmehr große mononucleäre Zellen, in denen sich nach Ablauf von 2—3 Std bereits immer einige Bakterien phagocytiert finden. Dieses Bild ändert sich im Laufe der nächsten Stunden insofern, als die Aufspaltung der Bakterienemboli rasche Fortschritte macht, so daß sie immer weniger als solche zu erkennen sind; nach 36 Std sind sie in der Regel überhaupt nicht mehr nachzuweisen. Bis zu diesem Zeitpunkt sind so gut wie alle Bakterien in mononucleären Zellen phagocytiert. Die Zahl der Leukocyten in den so entstandenen herdförmigen Zellinfiltraten hat beträchtlich zugenommen. Die bereits als kleinste Knötchen imponierenden Zellansammlungen beginnen nunmehr auf die benachbarten Alveolen überzugreifen insofern, als im Bereich der Herde die Struktur des Lungengewebes undeutlich wird und die Alveolarräume in den Infiltratherd einbezogen werden. Bis zum 3. Tag vergrößern sich diese Infiltratherde weiter, die Zellzahl in ihnen nimmt zu, besonders die Leukocyten. Gleichzeitig vermehren sich die Bakterien innerhalb der einzelnen Knötchen bzw. innerhalb der mononucleären Zellen. Die Leukocyten enthalten in der Regel keine Bakterien. Frühestens vom 3. Tag an findet man innerhalb der jetzt schon recht deutlichen Knötchen reichlicher große mononucleäre Zellen, die massenhaft Tbb. und häufig auch Fettstoffe enthalten. Sie treten jedoch an Zahl noch gegenüber den

vorherrschenden Leukocyten zurück, um erst *vom 5. Tag an* die Oberhand über diese zu gewinnen (Abb. 3), ohne daß die Leukocyten



jedoch vollkommen verschwänden. Gegen *Ende der 2. Woche* haben sich die Infiltrate durch Einbeziehung immer weiterer angrenzender Alveolargebiete so ausgedehnt, daß es manchmal schon zum Zusammenfließen einzelner Herde kommt (Abb. 4). Man sieht dann in größeren

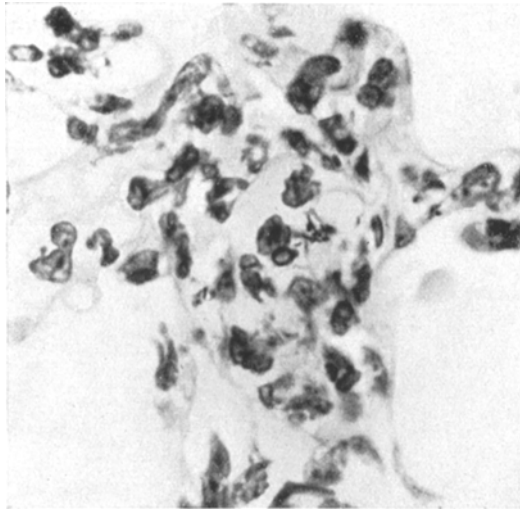


Abb. 2a—c. Tuberkelbakterienemboli in der Lunge und deren Auflösung. Ziehl-Neelsen. a 15 min nach Injektion von Tuberkelbakterien Tb 1\*. Bakterienembolus in einer Arteriole; b 30 min nach Injektion (Grundvers.). Bakterienembolus mit Leukocytenanreicherung in seiner Umgebung; c 90 min nach Injektion (Grundvers.). Embolus fast völlig aufgelöst; zahlreiche angesammelte Leukocyten.

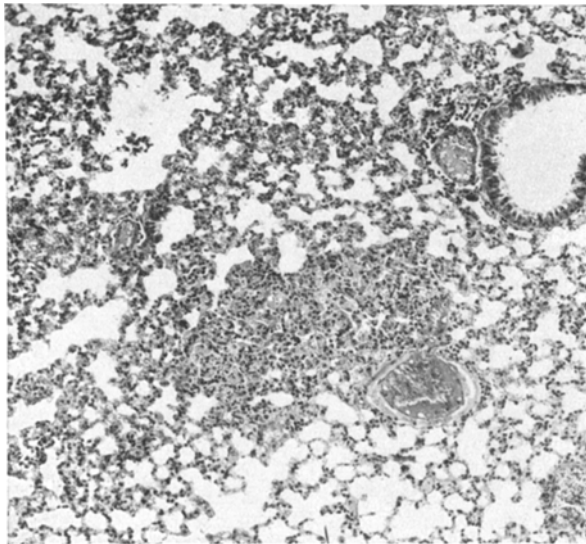


Abb. 3. Lunge; Kleines knötchenförmiges Infiltrat. 5 Tage nach Injektion (Grundvers.). H.-E.

Abschnitten der Lunge die Alveolarräume ausgefüllt von großen mononucleären Zellen (Abb. 5), welche massenhaft Bakterien enthalten (Abb. 6). Dabei ist aber die Alveolarstruktur noch erkennbar — es

kommt also in der Regel zu keiner eigentlichen Nekrose der Septen. In der Umgebung von Infiltratherden können in Alveolarepithelien, die entweder noch an den Alveolarwänden sitzen oder vereinzelt frei in der Lichtung liegen, phagocytierte Tbb. nachgewiesen werden. Nur ganz

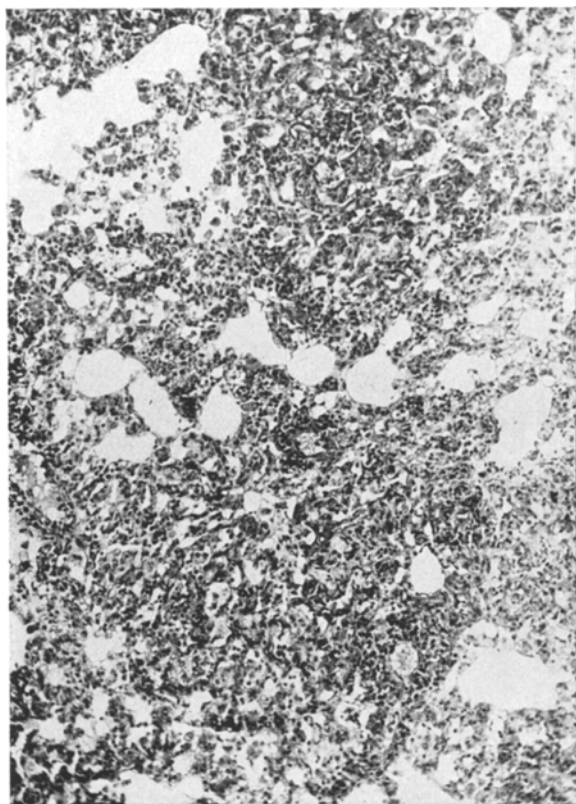


Abb. 4. Lunge: Zusammenfließende Infiltrate. 2 Wochen nach Injektion (Grundvers.). H.-E.

selten tritt inmitten eines Herdes eine Nekrose auf (Abb. 7), in der aber noch immer vereinzelte bakterienhaltige Zellen nachweisbar sind.

Frühestens *nach Ablauf eines Tages* findet man mitunter die Alveolarsepten entfernt von den beschriebenen Herden etwas verbreitert und zum Teil auch etwas kernreicher. Zum Auftreten von Zellinfiltraten um die Bronchien und größeren Gefäße kommt es kaum vor dem 4. Tag und auch dann nur in sehr mäßigem Umfang. Erst nach Ablauf *einer Woche und später* finden sich manchmal etwas ausgedehntere Infiltrate um Bronchien und Gefäße. Nur selten gelingt es in diesen Infiltraten Bakterien nachzuweisen. Sie bestehen gewöhnlich aus Zellen mit relativ



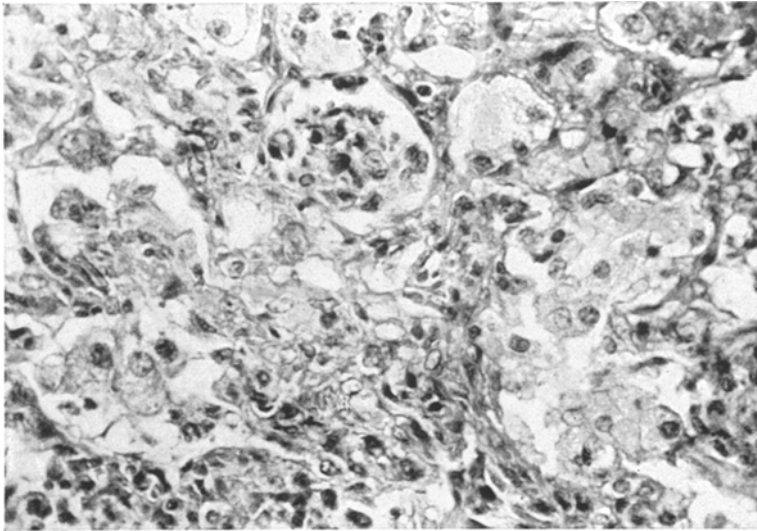


Abb. 5. Lunge: Verfettende Alveolarphagocyten. 2 Wochen nach Injektion (Grundvers.)  
H.-E.

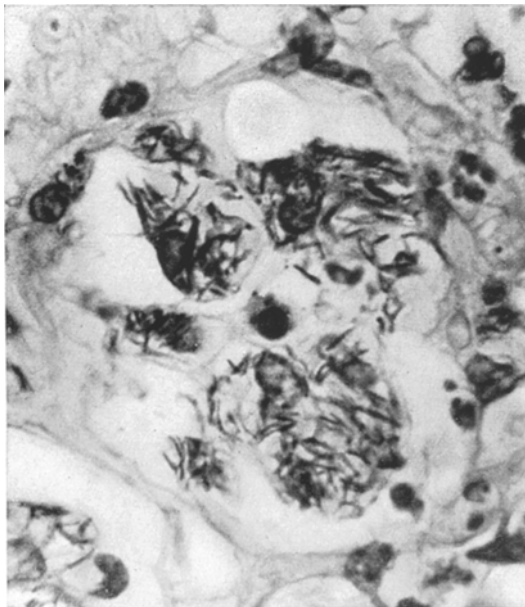


Abb. 6. Lunge: Alveolarphagocyten mit gewucherten Tuberkelbakterien erfüllt. 4 Wochen  
nach Injektion (Grundvers.). Ziehl-Neelsen.

kleinem chromatinreichen Kern (Lymphocyten). Ebenfalls frühestens vom 4. Tag an kann man bei einem größeren Teil der Tiere zellige

Infiltrate unter der Pleura beobachten, die dann zumeist verdickt erscheint und gelegentlich auch feine zottige Auflagerungen trägt. Mitunter sind hier einzelne Bakterien nachzuweisen. Zuweilen sind diese

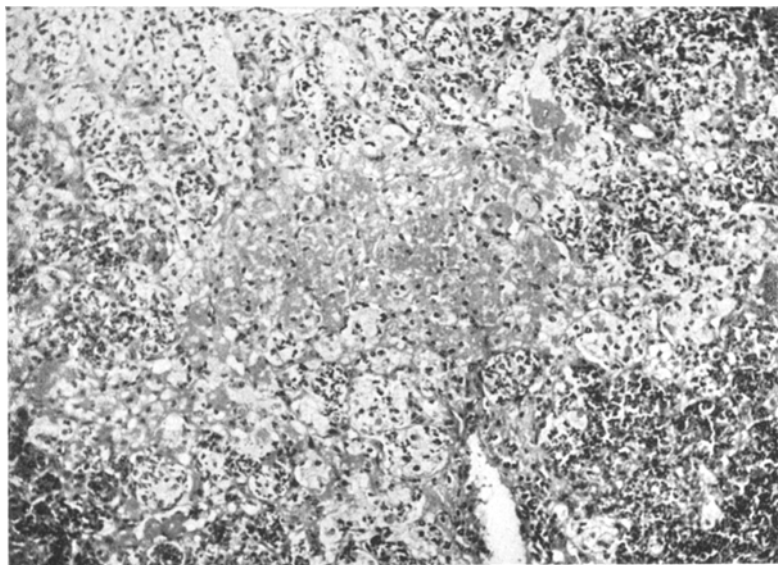


Abb. 7. Lunge: Im Zentrum nekrotisches Infiltrat, am Rande fortschreitend. 4 Wochen nach Injektion (Grundvers.). H.-E.

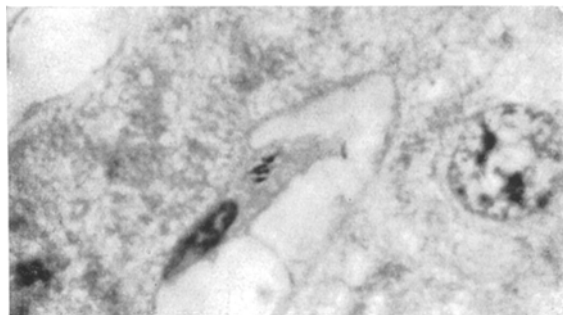


Abb. 8. Leber: Phagocytierte Tuberkelbakterien in KUPFFERScher Sternzelle. 90 min nach Injektion (Grundvers.). Ziehl-Neelsen.

subpleuralen Infiltrate recht ausgedehnt und stehen dann oft in Verbindung mit Knötchen innerhalb des Lungengewebes.

In der *Leber* finden sich 30 min nach der Injektion in einzelnen KUPFFERSchen Sternzellen kleine Bakterienhäufchen (Abb. 8), die in der Regel aus nicht mehr als 5 Bakterien bestehen. Dagegen kann man kaum freie Bakterien innerhalb der Capillaren beobachten. 90 min nach der Injektion hat die Zahl der Sternzellen, in denen Bakterien zu sehen sind,

schon erheblich zugenommen, gleichzeitig aber auch die Zahl der Bakterien innerhalb dieser Zellen. Nach 3 *Std* sieht man recht häufig Sternzellen mit bis zu 10 Bakterien in ihrem Protoplasma. Zum gleichen Zeitpunkt kann man aber auch schon — allerdings nur ganz vereinzelt — um mit Bakterien beladene Sternzellen kleinste Ansammlungen von Leukocyten und zuweilen auch von mononucleären Zellen mit chromatinarmen Kernen erkennen. Nach Ablauf von 24 *Std* findet man dieses Bild schon häufiger, vor allem hat die Zahl der Leukocyten zugenommen. Es muß aber betont werden, daß zu diesem Zeitpunkt und auch noch

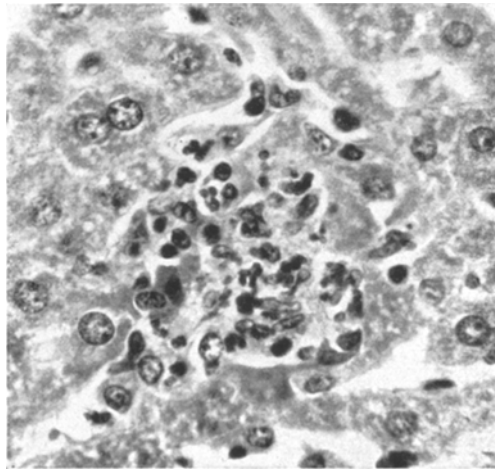


Abb. 9. Leber: Leukocytenreiches Knötchen. 5 Tage nach Injektion (Grundvers.). H.-E.

während des 2. Tages diese Zellansammlungen gegenüber den mit Bakterien beladenen Sternzellen ohne jede zellige Reaktion zurücktreten. Erst nach 2—3 *Tagen* finden sich zahlreiche etwas größere Zellknötchen, die aus Leukocyten und mononucleären Zellen bestehen (Abb. 9). Im Protoplasma der letzteren lassen sich regelmäßig einzelne Bakterien nachweisen. Die Gesamtzahl der Bakterien innerhalb dieser Infiltrate dürfte jedoch gegenüber dem Zustand 24 *Std* nach der Injektion kaum oder nur unwesentlich zugenommen haben. Sternzellen mit Bakterien ohne zellige Reaktion in ihrer Umgebung werden immer seltener und sind vom 6. *Tag* an kaum noch nachzuweisen. In entsprechender Weise nimmt die Knötchenbildung immer mehr zu. Vom 4. *Tag* an treten die Leukocyten in diesen Knötchen mehr und mehr zurück zugunsten der mononucleären Elemente.

*Eine Woche* nach der Injektion ist die Leber übersät mit mehr oder weniger gut abgegrenzten, kleinsten Zellknötchen, die sich nunmehr fast ausschließlich aus mononucleären Zellen mit großen blassen Kernen

zusammensetzen. Sie besitzen eine ausgesprochene Ähnlichkeit mit Epitheloidzellen (Abb. 10). Leukocyten sind kaum mehr vorhanden. Die Knötchen liegen innerhalb der Capillaren und verdrängen die anliegenden Leberzellbalken, gegen die sie gewöhnlich gut abgegrenzt sind. Sie enthalten meist nur wenige, jeweils in Zellen liegende Bakterien. Manchmal sind an der Bildung von Knötchen auch kleinere Zellen mit rundlichem, chromatinreichem Kern beteiligt. In solchen Knötchen finden sich dann gewöhnlich reichlicher Bakterien; auch zeichnen sie

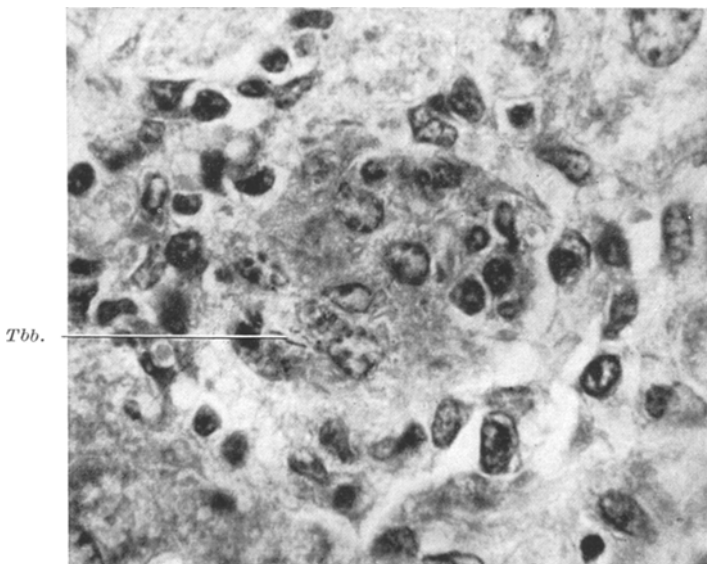


Abb. 10. Leber: Knötchen aus gewucherten Makrophagen mit phagocytierten Tuberkelbakterien (Tbb.). 33 Tage nach Injektion von 0,005 mg Tb 8 B. Ziehl-Neelsen.

sich vielfach nicht so gut gegen das angrenzende Leberparenchym ab. Von der 2. Woche an liegen die Knötchen oft so dicht nebeneinander, daß sie sich berühren; zu einem eigentlichen Zusammenfließen oder zur Bildung größerer Herde kommt es jedoch kaum. Dieses Bild ändert sich bis zur 4. Woche wenig. Nur die Zahl der Bakterien innerhalb der Zellknötchen nimmt — allerdings durchaus nicht gleichmäßig — etwas zu, in der Regel nicht vor der 3. Woche. In einzelnen Fällen, bei denen eine stärkere intracelluläre Vermehrung der Bakterien stattgefunden hat, ist auch eine deutliche Verfettung der Zellen festzustellen. Nekrosen sind nie zu beobachten, auch kein wesentlicher Zellzerfall.

Infiltrate in den periportalen Feldern finden sich in wechselnder Stärke fast schon vom Beginn des Versuches an. Sie sind aber in den späteren Stadien, also etwa von der 2. Woche an, etwas stärker ausgeprägt.

In der *Milz* findet man innerhalb der ersten 3 *Std* nur ganz vereinzelt kleinste Bakterienhäufchen in Reticulumzellen. Bis zum Ablauf des 3. *Tages* nehmen sowohl die Zellen, welche Bakterien phagocytiert haben, als auch die Zahl der Bakterien innerhalb dieser Zellen zu. Irgendeine leukocytaire Reaktion ist bis zu diesem Zeitpunkt nicht zu sehen. Frühestens nach Ablauf von 3 *Tagen* treten dann



Abb. 11. Milz: Zahlreiche Zellknötchen in Pulpa und Follikeln 3 Wochen nach Injektion (Grundvers.). H.-E.

zunächst nur um einzelne mit Bakterien beladene Zellen dicht gelagerte mononucleäre Elemente mit relativ großem, chromatinarmen Kern auf. Bis zum 6. *Tag* werden diese Zellanhäufungen wesentlich ausgeprägter, doch findet man immer noch — an Zahl freilich mehr und mehr abnehmend — Zellen, die in ihrem Protoplasma Bakterien enthalten, ohne daß es in ihrer Umgebung zu einer Zellwucherung gekommen wäre. Nach Ablauf *einer Woche* sind sie allerdings kaum mehr nachzuweisen. Es sind dann bloß zahlreiche Zellknötchen vorhanden, die sich ausschließlich aus mononucleären Zellen zusammensetzen (Abb. 11). Diese enthalten in wechselnder Zahl, meist jedoch nicht besonders reichlich, Bakterien, welche oft einzeln innerhalb des Zelleibs liegen (Abb. 12). Die Zellknötchen sind meist sehr gut gegen das umgebende Parenchym

abgegrenzt. Die Zahl der intracellulär gelegenen Bakterien nimmt gewöhnlich erst um die 3.—4. Woche etwas zu, ohne daß sich der Charakter der Knötchen wesentlich ändert.

### Besprechung des Versuchs.

Wie ist nun auf Grund dieser Befunde der Ablauf der Tuberkuloseinfektion zu erklären?

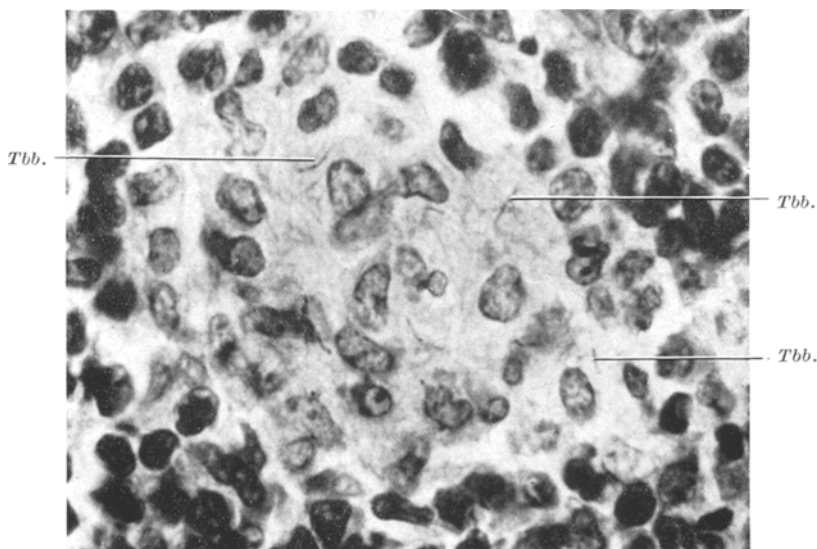


Abb. 12. Milz: Zellknötchen aus gewucherten Reticulumzellen mit phagocytierten Tuberkelbakterien (Tbb.). Grundvers. 3 Wochen nach Injektion. Ziehl-Neelsen.

Die in eine Schwanzvene injizierten Tbb. gelangen mit dem Blutstrom, offensichtlich zu Klumpen zusammengeballt, zunächst in die *Lunge* und bleiben dort zum größten Teil in Capillaren und kleineren Arterien stecken. Die erste Reaktion des Organismus besteht in einer Ansammlung von Leukocyten um den Bakterienembolus, die auch in ihn eindringen und ihn gewissermaßen aufsprengen. Schon innerhalb der ersten Stunden kann man aber außerdem eine Wucherung von Capillarendothelien und Histiocyten feststellen, die sich zu großen mononucleären Zellen (Makrophagen) umwandeln. Diese letzteren phagocytieren die Tbb., während die offenbar durch den Blutstrom herangeführten und sich ansammelnden Leukocyten in keinem nennenswerten Umfang an der Phagocytose teilnehmen. Die für den ganzen weiteren Ablauf der Veränderungen bedeutungsvollste Tatsache ist wohl die, daß die phagocytierten Bakterien in den Makrophagen nicht absterben, sondern sich vermehren, bis die Zellen manchmal geradezu

unförmig aufgetrieben erscheinen und unter Verfettung zugrunde gehen. Dabei gelangen wohl auch freigesetzte Bakterien nicht bloß in das Zwischengewebe, sondern auch in die eröffneten Alveolarräume, wo sie von den Alveolarepithelien wie andere Fremdkörper zunächst einmal phagocytiert werden, um sich dann weiter in ihnen zu vermehren. Manche dieser Alveolarphagocyten lösen sich von der Wand ab und liegen als abgerundete, von Tbb. erfüllte Gebilde in der Alveolarlichtung, so daß sie in Tupfpräparaten leicht nachweisbar sind. Bleiben sie in der Alveolarlichtung liegen, so kommt es wieder zum Zerfall und zur Ausbreitung der Tbb. in weitere Alveolen. Es nimmt dann der zunächst kaum mit freiem Auge sichtbare Herd immer mehr an Umfang zu, bis schon makroskopisch erkennbare weißliche, zusammenfließende Flecken sich in allen Lungenabschnitten ausbreiten und durch Einengung der respiratorischen Oberfläche zum Tode des Tieres unter einer mehr und mehr zunehmenden Dyspnoe führen.

Merkwürdig gering ist bei diesem Vorgang die entzündliche Komponente ausgeprägt. Die Leukocyten sind zwar sehr früh nachweisbar und verschwinden kaum jemals vollkommen aus dem Bild, sie beteiligen sich aber nicht in nennenswerter Weise an der Phagocytose der Tbb.; auch wenn sie gelegentlich einmal einzelne Tbb. enthalten, kommt es in ihnen zu keiner Vermehrung. Man wird deshalb die Anwesenheit der Leukocyten eher auffassen müssen als eine Antwort auf den Zellzerfall oder das Auftreten von Stoffwechselprodukten aus den freigesetzten Bakterien. Vollkommen fehlt jedoch eine Fibrinausschwitzung und dementsprechend auch eine typische käsige Nekrose.

Durch das periphere Wachstum der Lungeninfiltratherde muß natürlich bei größeren Herden eine gewisse Verschiedenheit zwischen Randgebieten und altem Zentrum entstehen: In den Randgebieten die fortschreitende Tbb.-Aussaat in die Alveolen; in einer mittleren Zone sind die Alveolen erfüllt von abgeschilferten, mit den gewucherten Tbb. vollgestopften Alveolarepithelien und zerfallenden Leukocyten; im Zentrum bleiben nur die Schatten der zerfallenden Alveolarepithelien bzw. Bakterienklumpen in einem noch gerade angedeuteten Alveolargerüst übrig. Solche Gebiete könnten dann infolge der geringen Menge färbbarer Kerne den Eindruck von käsiger Nekrose machen.

Aus den zerfallenden Zellen können offenbar einzelne Bakterien oder ihre Stoffwechselprodukte mit dem Saftstrom bzw. in den Lymphgefäßen in die Umgebung der größeren Bronchien und Gefäße oder unter die Pleura gelangen. Auch an diesen Stellen kommt es dann zu Zellinfiltraten; die Bakterien werden ebenfalls von größeren mononucleären Zellen phagocytiert, doch ist die intracelluläre Vermehrung der Bakterien hier weniger ausgesprochen.

Wenn auch der größte Teil der intravenös injizierten Tbb. im Capillarsystem der Lunge steckenbleibt, so gelangen doch nicht wenige durch die Lungencapillaren in den großen Körperkreislauf und damit in andere Organe, wie z. B. in die *Leber*. Hier werden sie von den KUPFFERSchen Sternzellen phagocytiert, in denen sie sich unverzüglich zu vermehren beginnen. Dann setzt eine Wucherung der Sternzellen um die mit Bakterien beladenen Elemente ein, wobei gleichzeitig auch Leukocyten auftreten können. Offensichtlich zerfallen dann die Sternzellen, in denen sich die phagocytierten Tbb. vermehrt haben, wodurch die Tbb. freigesetzt und von den benachbarten gewucherten Elementen aufgenommen werden können. In ihnen vermehren sie sich aber zunächst nur wenig, so daß die in der Leber entstandenen Zellwucherungen, wenn sie einmal aufgetreten sind, über Wochen hinweg weder an Zahl noch Größe wesentlich zunehmen und auch makroskopisch nicht erkennbar sind. Erst kurze Zeit vor dem Tode des Tieres setzt eine lebhaftere Vermehrung der intracellulär gelagerten Tbb. ein.

Inwieweit die periportalen Infiltrate als eine Reaktion des Organismus auf mit dem Saftstrom verschleppte Bakterien oder ihre Stoffwechselprodukte zu werten sind, muß dahingestellt bleiben, da sie häufig auch bei nichtinfizierten Mäusen zu finden sind.

Ebenso wie in die Leber gelangen auch Tbb. mit dem Blutstrom in die Milz und werden hier von Reticulumzellen phagocytiert. Allerdings findet hier keine stärkere intracelluläre Vermehrung der Tbb. statt; demzufolge fehlt auch ein nennenswerter Zellzerfall. Es kommt bloß zu einer Wucherung der Reticulumzellen, die dann zahlreiche, über das ganze Organ verstreute und manchmal zusammenfließende Knötchen bilden. Die schon in den ersten Tagen des Versuchs auftretende Milzschwellung ist wohl als toxisch bedingt anzusehen, da ja zu diesem Zeitpunkt kaum Wucherungen von Reticulumzellen vorhanden sind. Die im weiteren Verlauf des Versuchs bestehenbleibende und zunehmende Milzvergrößerung geht aber doch offenbar auf die Bildung der Knötchen zurück. Zu einer stärkeren intracellulären Vermehrung der Bakterien kommt es — ähnlich wie in der Leber — erst vor dem Tode der Tiere.

Überblicken wir den Ablauf der Tuberkulose in den drei genau daraufhin untersuchten Organen, so erscheint er auf den ersten Blick ganz verschieden, je nachdem, ob es sich um Leber, Milz oder Lungen handelt. Im Grunde genommen besteht die Reaktion aber aus denselben Vorgängen, von denen manche in dem einen Organ vorherrschen, während sie in dem anderen zurücktreten: Es handelt sich also nicht um qualitative Unterschiede, sondern nur um quantitative. Überall werden die auf dem Blutwege eingeschwemmten Bakterien zunächst phagocytiert. In der *Lunge* kommt es sehr bald zu einer starken Vermehrung



der Tbb. in den Zellen, zum Zellzerfall und zur Ausstreuung der Bakterien in die Umgebung, besonders in die Alveolen, wo sich der Prozeß immer weiter wiederholt. In der *Leber* erfolgt zwar auch eine Vermehrung der Bakterien, aber die Ausstreuung bleibt auf die unmittelbare Nachbarschaft, die gewucherten, großen mononucleären Elemente beschränkt, in denen sich die Bakterien zunächst nur unwesentlich vermehren, so daß also der Prozeß zum Unterschied von der Lunge fast stationär bleibt. In der *Milz* ist der ganze Vorgang noch weiter verlangsamt; er bleibt ebenso wie in der Leber fast stationär. Dementsprechend ist die „entzündliche Reaktion“, d. h. die Beteiligung von Lympho- und Leukocyten in der Lunge am stärksten, in der Milz fast fehlend, während die Leber etwa in der Mitte steht.

Als wesentlichstes Merkmal der bei der weißen Maus künstlich erzeugten Infektion mit Tbb. möchten wir die Tatsache ansehen, daß die Tbb. von Makrophagen phagocytiert werden, in diesen aber nicht absterben, sondern im Gegenteil sich vermehren, während die frei in den Säften vorhandenen Bakterien offenbar zugrunde gehen, wenn sie nicht wieder in Zellen aufgenommen werden und sich sozusagen im Schutze des Zellprotoplasmas vermehren können. Damit ist gleichzeitig eine Parallele und eine Differenz hinsichtlich des Infektionsablaufes mit *Mycobakterien* bei anderen Säugetieren und beim Menschen gegeben.

Eine gewisse Ähnlichkeit besteht mit der durch den Stefansky-Bacillus erzeugten Lepra der Ratte.

JAFFÉ und KAHLAU fanden dabei im Beginn der Erkrankung kleine Herde in der Milz, die aus einigen epitheloiden Zellen mit Bakterien im Protoplasma bestanden. Auch in der Leber fanden sich zunächst Leprabakterien in den Sternzellen und später dann in großen mononucleären Zellen (Leprazellen) im Bereich von Knötchen, die allerdings eine starke Tendenz zeigten, im Zentrum nekrotisch zu werden. In der Lunge konnten JAFFÉ und KAHLAU ebenfalls große mononucleäre Zellen finden, die in unterschiedlicher Zahl Bakterien enthielten. Immer handelte es sich bei den Zellen, welche Bakterien phagocytiert hatten, um Zellen des reticulo-endothelialen Systems, ein Befund also, wie er dem unseren bei der Mäusetuberkulose festgestellten entspricht. Zum Unterschied von unseren Versuchen kommt es aber bei der Rattenlepra anfänglich kaum zu einer leukocyitären Reaktion. Auch fehlt die massive Ausbreitung der Bakterien in den Alveolarräumen der Lunge; es bilden sich nur kleine Knötchen. Bei all dem muß man freilich berücksichtigen, daß bei JAFFÉ und KAHLAU der Infektionsmodus ein anderer war, insofern als dort den Tieren jeweils der Organbrei einer leprösen Ratte subcutan injiziert wurde, während wir die Tbb. intravenös verabreichten.

Eine gewisse Ähnlichkeit besteht auch zwischen unseren Befunden und der menschlichen Lepra, wenigstens hinsichtlich der intracellulären Vermehrung der Bakterien, die zur Ansammlung großer Mengen von Bakterien bei gleichzeitiger Verfettung der Zelle führt (Leprazellen VIRCHOWS).

Gegenüber der menschlichen Tuberkulose und der Tuberkulose des Meerschweinchens dagegen bestehen beträchtliche und grundsätzliche Unterschiede. Es kommt bei der weißen Maus zu keiner Fibrinausschwitzung und zu keiner typischen käsigen Nekrose, Vorgänge, die für die menschliche Tuberkulose so kennzeichnend sind; auch fehlen Riesenzellen vollkommen. Demgegenüber vermissen wir bei der menschlichen Tuberkulose jene intracelluläre Vermehrung der Tbb., die das Bild bei der Tuberkulose der Maus beherrscht; die Tbb. leben und vermehren sich offenbar in den Saftspalten.

Eine der umfassendsten und gründlichsten Darstellungen der künstlich erzeugten Mäusetuberkulose in der letzten Zeit verdanken wir RALEIGH und YOUMANS, die auch die frühere Literatur berücksichtigen. Wenn wir auch die Befunde der beiden Verfasser in vieler Hinsicht bestätigen können, so weichen wir doch in einigen uns wesentlich erscheinenden Punkten von ihrer Auffassung ab.

RALEIGH und YOUMANS konnten bei ihren Versuchen nach 24 Std keine Tbb. in den Geweben nachweisen; erst nach 48 Std waren spärlich Tbb. vorhanden, reichlicher erst nach 4 und 7 Tagen. Freilich haben die beiden Verfasser eine etwas geringere Dosis (0,1 mg gegenüber 0,5 mg) verwendet; es ist aber klar, daß auch bei ihren Versuchen die Tbb. während der ersten 24 und 48 Std im Organismus vorhanden sein mußten. Aus der Darstellung unserer Versuche geht hervor, daß sich während der ersten 24 Std sehr kennzeichnende Vorgänge abspielen — Bakterienembolien in der Lunge und ihre Aufspaltung, Phagocytose der Tbb. in den KUPFFERSchen Sternzellen der Leber —, die erst das spätere Geschehen richtig verständlich machen. RALEIGH und YOUMANS fehlen daher bei der Deutung der späteren Veränderungen unseres Erachtens recht wesentliche Grundlagen. Sie beschreiben dementsprechend auch vorwiegend die späteren Stadien, wobei sie sich, unserer Ansicht nach unberechtigtweise, an eine Einteilung der tuberkulösen Veränderungen beim Menschen anlehnen, indem sie produktive und exsudative Vorgänge zu trennen versuchen. In Wirklichkeit dürften ihre „produktiven“ Veränderungen, welche sie in der 1. Woche finden, nichts anderes sein als die Wucherungen der Makrophagen, die „exsudativen“ Veränderungen in der Lunge aber der Ausdruck für das Zugrundegehen der die Alveolarräume ausfüllenden Zellen, wie wir es auch im Zentrum der Herde gelegentlich feststellen konnten. Eine Exsudation, d. h. Fibrin- und Serumaustritt, wie wir sie beim Menschen oder beim Meerschweinchen finden, kommt bei der Maus offenbar nicht vor. Überdies wäre, wenn man schon die Benennungen von der menschlichen Tuberkulose übernimmt, zu erklären, wieso bei der Maus zuerst die Proliferation und dann die Exsudation und nicht umgekehrt, wie beim Menschen, zunächst die Exsudation und dann die Proliferation auftritt. Wir glauben,

durch die Verfolgung der Veränderungen vom allerersten Beginn an (15 min nach der Injektion) eine Darstellung geben zu können, die alle diese Widersprüche klärt bzw. überhaupt nicht aufkommen läßt.

### Ergänzende Versuche.

Ergänzend zum Grundversuch wurden weitere Versuchsreihen an- gestellt mit der Absicht, den Einfluß von verschiedener Infektionsdosis, verschiedener Stämme von Tbb. und eines verschiedenen Alters der Tiere usw. kennenzulernen.

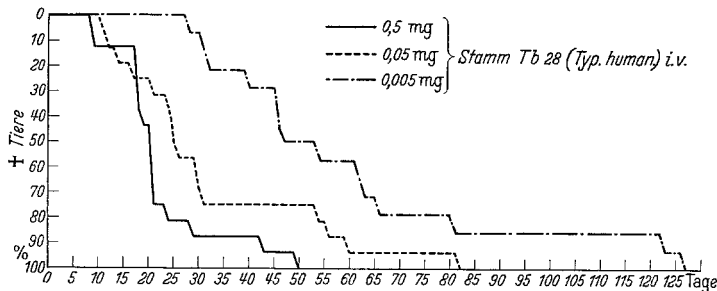


Abb. 13. Absterbekurven nach Injektion verschiedener Dosen von Tuberkelbakterien desselben Stammes.

#### a) Infektionsdosis.

Injiziert man statt 0,5 mg Tbb.-Reinkultur, wie wir sie im Grundversuch verwendeten, 0,05 mg oder 0,005 mg der Reinkultur, so zeigt sich eine deutliche Veränderung in den Absterbezeiten (s. Tabelle Abb. 13): Die Absterbekurve verläuft weniger steil; die Tiere überleben lange, gehen aber schließlich doch alle an der Infektion unter denselben Symptomen wie im Grundversuch zugrunde.

Die Tuberkulose bei der weißen Maus scheint sich demnach anders als die Tuberkulose beim Meerschweinchen zu verhalten: Bei subcutan infizierten Meerschweinchen konnte nämlich PRIGGE zeigen, daß eine bemerkenswerte Beschleunigung des durchschnittlichen Infektionsverlaufes erst durch Erhöhung der Bakteriendosis auf das Tausendfache zu erzielen ist, während bei der Maus — allerdings nach intravenöser Infektion — eine Dosiserhöhung um das Zehnfache sich schon deutlich in der Absterbekurve abzeichnet.

Der verzögerte Krankheitsablauf bei einer Infektion mit 0,005 mg Tbb. (20 Tiere) geht auch eindeutig aus dem histologischen Bild hervor.

Innerhalb der ersten 8 Tage sind in Lunge, Leber und Milz nur ganz vereinzelt Tbb. zu finden, gelegentlich wohl auch einmal ein zelliges Infiltrat um in Zellen phagocytierte Tbb. Erst um die 2.—3. Woche sieht man dann etwas häufiger kleine Zellknötchen in diesen Organen, die gewöhnlich nur wenige Bakterien enthalten. Im übrigen entspricht die Art der Zellen, aus denen sich die Knötchen aufbauen, und die Zusammensetzung der Knötchen durchaus dem Grundversuch.

Nach 5 Wochen sind hier die Veränderungen nahezu ebenso stark ausgeprägt, wie dort nach 1—2 Wochen (Abb. 10). Auffallend ist nur, daß es vor allem in der Leber zur Ausbildung von starken periportal Infiltraten kommt, die fast ausschließlich aus Lymphocyten bestehen. Tbb. kann man in diesen Infiltraten so gut wie niemals finden. Die von der 5. Woche an in Leber und Milz reichlich vorhandenen Zellknötchen sind meist klein und, ähnlich wie im Grundversuch, sehr gut gegen das umgebende Parenchym abgegrenzt. Sie bestehen gleichfalls fast ausschließlich aus großen Zellen mit chromatinarmem Kern. Nicht selten findet man jedoch hier um diese Zellansammlungen einen deutlichen lymphocytären Saum. Dieses Bild bleibt über Wochen bestehen und ist oft nach 3 Monaten noch relativ unverändert. Die Zahl der Bakterien in Leber und Milz nimmt in dieser ganzen Zeit nur wenig zu, und selbst in der Lunge findet man verhältnismäßig weniger Bakterien als etwa im Grundversuch, auch dann, wenn größere Anteile des Lungengewebes infiltriert sind.

Zusammenfassend kann man also sagen, daß hier der Ablauf der Veränderungen sehr viel langsamer — gleichsam protrahiert — vor sich geht; qualitativ finden sich jedoch keine nennenswerten Unterschiede gegenüber dem Grundversuch.

#### b) Verschiedene Tbb.-Stämme.

Injiziert man Mäusen statt des bovinen Tbb.-Stammes Tb 8 B („Grundversuch“) die gleiche Dosis des Stammes Tb 8 A, so zeigt sich,

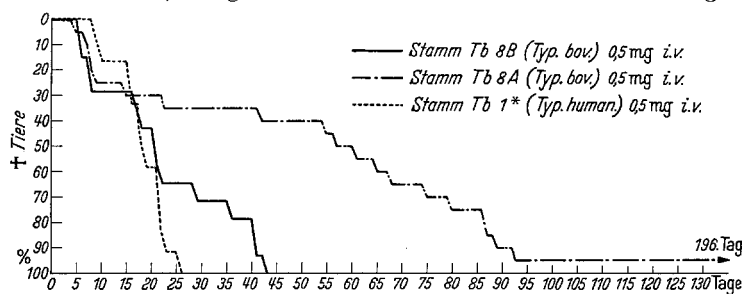


Abb. 14. Absterbekurven nach Injektion derselben Dosis verschiedener Tuberkelbakterienstämme.

daß der letztere eine viel flachere Absterbekurve aufweist, d. h. die Tiere überleben länger, manche sogar bis zu 7 Monate (Abb. 14). Dagegen verläuft die Absterbekurve steiler bei Anwendung der humanen Tbb.-Stämme Tb 1\* oder Tb 28. Jeder der geprüften Stämme hat also hinsichtlich seiner Wirkung auf die Maus — gemessen an der Absterbekurve — seine Besonderheiten.

Bei der histologischen Untersuchung von 15 mit 0,5 mg des Tbb.-Stammes Tb 8 A infizierten Tieren besteht der Unterschied gegenüber dem Grundversuch darin, daß die intracelluläre Vermehrung der Tbb. in den ersten Tagen reichlicher erfolgt; außerdem überwiegen manchmal kleine rundzellige Elemente in den Knötchen der Leber. Später entsprechen die Veränderungen denen des Grundversuches.

Auch die mikroskopische Untersuchung der Organe von 52 mit 0,5 mg humanen Tbb. des Stammes 1\* infizierten Mäusen, welche zu verschiedenen Zeiten nach der Infektion getötet wurden, ergab nur geringe Unterschiede gegenüber dem Grundversuch: Die intracelluläre Vermehrung der Tbb. geht innerhalb der ersten 2 Wochen langsamer vor sich.

Es zeigt sich also, daß bei Anwendung verschiedener Stämme Unterschiede im Verlauf (Absterbekurve) und histologischem Bild der Infektion auftreten, daß es sich dabei aber immer nur um quantitative, nicht um qualitative Unterschiede handelt; daß immer nur einzelne Züge des histologischen Bildes etwas stärker hervortreten oder weniger ausgeprägt sind, welche auch schon im Grundversuch nachweisbar waren.

c) *Einfluß des Gewichtes der Versuchstiere.*

Zwei Serien Mäuse wurden mit gleicher Dosis infiziert; in Reihe I 16 Tiere mit einem Gewicht von 14—16 g, in Reihe II 16 schwere Tiere

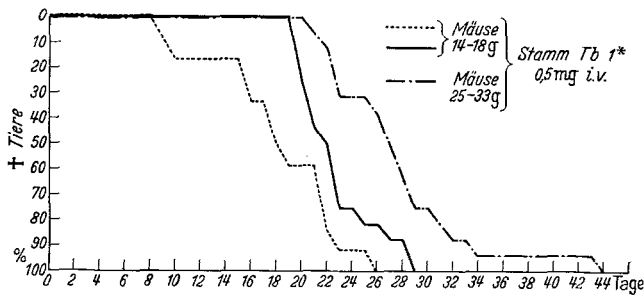


Abb. 15. Absterbekurven nach Injektion derselben Dosis, desselben Stammes bei Mäusen verschiedenen Gewichtes.

von 25—33 g. Obgleich große Gewichtsunterschiede zwischen den Tieren beider Versuchsreihen bestanden (9—19 g) und die schweren Mäuse etwa doppelt so alt waren wie die leichteren, trat nur eine geringe Verschiebung der mittleren Absterbezeit ein (Abb. 15). Die Dosis von 0,5 mg erwies sich auch für die schweren Tiere als unbedingt tödlich. Die Endgewichte (Totgewicht) zeigen, verglichen mit den Anfangsgewichten, eine mittlere Differenz von —0,6 g für die leichten und von —7,1 g für die schweren Mäuse. Gewicht und Alter der Tiere spielen also für den Ablauf der Tuberkuloseinfektion keine besondere Rolle.

In diesem Zusammenhang sei auf die Möglichkeit hingewiesen, daß auch Unterschiede in der Tuberkuloseempfindlichkeit bei verschiedenen weißen Mäusestämmen bestehen können. Der Tbb.-Stamm Tb 1\* z. B. wurde im Paul-Ehrlich-Institut bereits vor 15 Jahren zu Infektionsversuchen bei Mäusen verwendet. Die damals erhobenen Absterbekurven verlaufen aber viel flacher als die jetzt festgestellten. Da dieser Tbb.-Stamm unter den strengsten Kautelen weitergezüchtet wurde und sich auch in seiner Pathogenität gegenüber dem Meerschweinchen nicht geändert hat, müssen wir wohl annehmen, daß die Änderung seiner Pathogenität

für Mäuse auf das jetzt andere Tiermaterial zurückgeht. Ähnliche Erfahrungen haben übrigens auch PIERCE, DUBOS, MIDDLEBROOK; GRUMBACH und H. BLOCH gemacht und in gleicher Weise gedeutet.

*d) Versuche zur Spontaninfektion.*

Da von DE JONG, wie einleitend erwähnt, eine spontane Tuberkulose bei weißen Mäusen beobachtet wurde, andererseits unsere Versuchstiere Tbb. im Urin ausscheiden (s. S. 315), lag der Gedanke nahe, die Übertragungsmöglichkeiten der Erkrankung vom Versuchstier auf ein gesundes Tier durch Halten in gemeinsamen Käfigen zu prüfen. Zu diesem Zweck wurden 10 Mäusepaare angesetzt, von denen immer je eine Maus mit 0,5 mg Tbb. intravenös infiziert war. Diese Mäuse starben innerhalb von 42 Tagen, während die nicht behandelten Mäuse sämtlich überlebten und nach mehreren Monaten getötet wurden. In keinem dieser Tiere ließen sich anatomisch und histologisch tuberkulöse Veränderungen nachweisen.

Wir können daraus nur den Schluß ziehen, daß die Infektion mit unseren Tbb.-Stämmen offenbar nur dann möglich ist, wenn die Tbb. künstlich und in großer Zahl in die Gewebe eingebracht werden.

*e) Alter der Kultur.*

H. BLOCH hat kürzlich darauf aufmerksam gemacht, daß junge Tbb. gegenüber älteren eine erhöhte Virulenz für die Maus besitzen: vergleichende Untersuchungen mit einer 3tägigen und einer 3 Wochen alten Kultur auf einem tweenhaltigen Nährboden ergaben für die junge Kultur stark verkürzte Absterbezeiten. Bekanntlich wachsen Tbb. auf tweenhaltigen Nährböden sehr schnell; das maximale Wachstum ist nach 2 Wochen erreicht (BLOCH); danach befindet sich die Kultur in einer stationären Phase. In einer 3 Wochen alten Kultur werden also reichlicher alte, geschädigte oder auch abgestorbene Tbb. enthalten sein.

Um diese Verhältnisse klarzustellen, wurde folgender Versuch unternommen: Von 3, 9, 14, 21, 28 Tage alten Tbb.-Kulturen auf tweenhaltigen Nährböden wurden je 10 neue Röhrchen mit der gleichen Menge ( $\frac{1}{2}$ , 1, 2, 3, 4, 6 Tropfen) Kulturmaterial beimpft. Dabei zeigte sich optimales Wachstum bei der Verwendung der 9 Tage alten Ausgangskultur; die 14 Tage alte Ausgangskultur ergab in den niedrigen Impfdosen ( $\frac{1}{2}$ —2 Tropfen) bereits schwächeres Wachstum (gemessen mit Hilfe des Trübungsgrades); die 21 Tage alte Ausgangskultur wies schon eine deutliche Wachstumsverzögerung auf, so daß Röhrchen, welche nur mit  $\frac{1}{2}$ —1 Tropfen beimpft waren, auch nach 3wöchiger Bebrütung keine Trübung zeigten; mit der 28 Tage alten Ausgangskultur war in keinem Fall mehr Wachstum zu erzielen.

Diese Ergebnisse sind wohl in der Weise zu deuten, daß sich in alten Kulturen (sehr deutlich bei der 21- und 28tägigen Kultur) zahlreiche Bakterien befinden, die abgestorben oder zumindest nicht mehr vermehrungsfähig sind. Die von BLOCH festgestellte geringere Virulenz alter Tbb. im Mäuseversuch könnte also sehr wohl auch dadurch erklärt werden, daß zwar an dem Trübungsgrad gemessen die gleiche Menge von Tbb. injiziert wurde, daß aber in den jungen Kulturen die Tbb. überwiegend lebten und vermehrungsfähig waren, während bei den alten Kulturen die abgestorbenen und nicht mehr vermehrungsfähigen Tbb. überwogen, also eine Infektion mit den älteren Kulturen einer Infektion mit einer geringeren Menge von Tbb. gleichzusetzen wäre. Wir

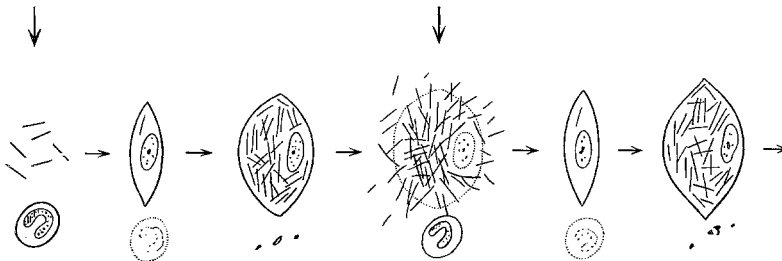


Abb. 16. Schematische Darstellung des Verhaltens der Tuberkelbakterien im Mäuseorganismus.

dürfen aber davon ausgehen, daß die Absterbekurve sehr wesentlich von der injizierten Dosis *lebender* Tbb. abhängt (s. Abb. 13). Deshalb glauben wir, daß die Befunde von BLOCH nicht unbedingt für eine hohe Virulenz junger Tbb. sprechen.

#### Ausblick.

Überblicken wir noch einmal den Ablauf der künstlich erzeugten Tuberkulose bei der weißen Maus und führen wir die beobachteten Veränderungen auf ein freilich stark vereinfachtes Schema zurück, so wäre der Ablauf der Erkrankung etwa folgender (s. Abb. 16): Die in das Gewebe gelangten Tbb. können zu einer rasch vorübergehenden leukocyären Reaktion führen (1), werden aber sehr schnell von Makrophagen aufgenommen (2), in denen sie sich unter Auftreibung des Zelleibs vermehren (3). Durch den Zerfall dieser Zellen (4) werden Tbb. frei, wobei es wieder zum Auftreten von Leukocyten kommen kann; sie werden aber dann neuerlich in Makrophagen phagocytiert (5). In Leber und Milz erfolgt nun längere Zeit keine oder nur eine geringe weitere Vermehrung dieser intracellulär gelagerten Tbb., während in der Lunge, wo die in die Alveolarräume freigesetzten Tbb. fortwährend mit neuen Alveolarepithelien in Berührung kommen, eine stärkere und mehr kontinuierliche Vermehrung der Tbb. festzustellen ist.

Eine chemotherapeutische Beeinflussung der Tbb., die sich in den Zellen befinden, wird kaum möglich sein, es sei denn, daß das Chemotherapeuticum durch die Zellmembran in das Protoplasma eindringen kann, was an sich wenig wahrscheinlich ist. Das Chemotherapeuticum wird also die Tbb. hauptsächlich in jenem Moment treffen, wo sie gewissermaßen nicht vom schützenden Mantel des Zellprotoplasmas bedeckt sind (s. senkrechte Pfeile).

Aus diesem Ablauf der Tuberkulose bei der Maus ergibt sich zwangsläufig, daß chemotherapeutische Versuche an der Mäusetuberkulose nicht ohne weiteres auf die Tuberkulose des Menschen oder des Meerschweinchens übertragbar sein werden. Auf der anderen Seite könnte uns aber die Mäusetuberkulose doch einen raschen Hinweis auf die Wirksamkeit eines chemotherapeutischen Stoffes auf Tbb. in einem Organismus geben: Sie steht also gewissermaßen zwischen dem Reagensglasversuch und dem Versuch am Meerschweinchen.

#### *Zusammenfassung.*

Um die Grundlagen für chemotherapeutische Versuche mit der Mäusetuberkulose zu schaffen, wurde der Ablauf derselben genauer studiert.

Nach intravenöser Injektion einer in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Reinkultur von bovinen Tuberkelbakterien (Tbb.) des Stammes Tb 8 B sterben die Tiere innerhalb weniger Wochen. In der *Lunge* findet man Bakteriemboli, die bei gleichzeitiger Leukocytenansammlung zersprengt werden. Die Tbb. werden von Makrophagen des Bindegewebes und Alveolarepithelien phagocytiert, in denen sie sich weiter vermehren. Durch Zerfall dieser Makrophagen werden weitere Alveolarräume mit Tbb. infiziert, so daß sich die Herde weiter ausbreiten und schließlich zusammenfließen. In der *Leber* werden Tbb. in den KUPFFERschen Sternzellen phagocytiert und vermehren sich in ihnen. Durch Wucherung der Sternzellen kommt es zur Bildung von eher stationär bleibenden Knötchen aus epitheloiden Zellen. In der *Milz* beteiligen sich die Reticulumzellen an der Phagocytose und durch nachfolgende Wucherung an der Bildung von Zellknötchen.

Geringere Dosen von Tbb. töten zwar auch die Tiere, doch verläuft die Absterbekurve flacher. Die Verwendung verschiedener Tbb.-Stämme beeinflußt die Absterbekurve, so daß sie dann einmal flacher, das andere Mal steiler verläuft. Die histologischen Veränderungen zeigen in diesen Versuchen nur quantitative, keine qualitativen Unterschiede. Alter und Gewicht der Mäuse verursachen nur geringe Unterschiede im Absterbeverlauf. Eine spontane Übertragung der Tuberkulose von den erkrankten Mäusen auf gesunde ließ sich nicht erzielen, obwohl die erkrankten Tiere reichlich Tbb. enthielten und ausschieden.



Kennzeichnend für die Tuberkulose der weißen Maus ist vor allem der Umstand, daß die von Makrophagen phagocytierten Tbb. sich im Zelleib weiter vermehren können, ein Verhalten, das auch mit anderen Mycobakterien bei anderen Säugetieren bzw. beim Menschen festgestellt werden kann (Rattenlepra, Menschenlepra).

### Literatur.

ARNOLD, PRIGGE u. Mitarb.: Ber. dtsch. chem. Ges. **75**, 373 (1942). — BINDER: Zbl. Bakter. Ref. **63**, 4 (1914). — BIRKHAUG: Amer. Rev. Tbc. **53**, 411 (1946). — BLOCH, H.: Schweiz. med. Wschr. **1951**, 37. — DONOVICK u. Mitarb.: Amer. Rev. Tbc. **60**, 109 (1949). — DUBOS and MIDDLEBROOK: Amer. Rev. Tbc. **58**, 698 (1948). GRUMBACH: Schweiz. Z. Path. u. Bakter. **12**, 614 (1949). — JAFFÉ u. KAHLAU: Frankf. Z. Path. **46**, 218 (1933). — DE JONG: XI. Congrès internat. d'hygiène et de demographie, Bruxelles 2.—8. Sept. 1903. Zit. nach WEBER u. BOFINGER, Tbk.arb. ksl. Gesdh.amt **1904**, H. I, 83. — KOCH, M., u. L. RABINOWITSCH: Virchows Arch., Beih. **190**, 246 (1907). — KOCH, R.: Gesammelte Werke, Bd. I, S. 539. — KOLLE u. SCHLOSSBERGER: Z. Hyg. **100**, 107 (1923). — KUESTER u. MEYER: Beitr. Klin. Tbk. **95**, 354 (1940). — LANGE, B.: Z. Hyg. **98**, 229 (1922). — MARMOREK: Berl. klin. Wschr. **1906**, 328. — MCKEE, RAKE, DONOVICK and JAMBOR: Amer. Rev. Tbc. **60**, 90 (1949). — MIDDLEBROOK, DUBOS and PIERCE: J. of Exper. Med. **76**, 175 (1947). — PETERS: Zbl. Bakter. I Orig. **62**, 1 (1912). — PIERCE, DUBOS and MIDDLEBROOK: J. of Exper. Med. **86**, 159 (1947). — PRIGGE: Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **32**, 33 (1935). — I. Internat. Kongreß der Therap. Union, Kongr.-ber. S. 344. Bern: H. Huber 1937. — Klin. Wschr. **1940**, 1273; **1941**, 633, 657. — Naturforsch. u. Med. **43**, 218, 225 (1948). — RAKE u. Mitarb.: Amer. Rev. Tbc. **60**, 121 (1949). — RALEIGH and YOUNG: J. Inf. Dis. **82**, 197, 205, 221 (1948). — ROEMER: Habil.-Schr. Marburg 1903. — SCHAEFER, W.: Arb. Staatsinst. exper. Ther. Frankf. **32**, 64 (1935). — TROMMSDORF: Arb. ksl. Gesdh.amt **32**, 568 (1909). — VOLKERT, PIERCE, HORSFALL and DUBOS: J. of Exper. Med. **86**, 203 (1947). — WEBER: Zbl. Bakter. **64**, 243 (1912). — WEBER u. BOFINGER: Tbk.arb. ksl. Gesdh.-amt **1904**, H. I, 83. — WELLS: Med. Res. Counc. Spec. Report Ser. No 256. London: H. M. Stationary Office 1946. Zit. nach Fortschr. Tbk.forschg **3**, 137 (1950). — Lancet **1949** 53.

Dr. H. GRÜN, Paul-Ehrlich-Institut, Marburg a. d. Lahn.

Dr. W. KLINNER, Pathologisches Institut, Marburg a. d. Lahn.