**Zeitschrift:** Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

**Herausgeber:** Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

**Band:** 97 (1955)

**Heft:** 2

**Artikel:** Beitrag zur Frage der Prüfung und Anwendung gefriergetrockneter Brucella-abortus-Impfstoffe

**Autor:** Bergmann, J.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-588806

**Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

**Conditions d'utilisation**

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

**Terms of use**

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

**Download PDF:** 15.07.2025

**ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch**

Ich spreche der Stiftung zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung an der Bernischen Hochschule meinen besten Dank aus für die finanzielle Unterstützung bei der Ausführung dieser Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Dr. Baumgartner, Leiter des Laboratoriums des Bernischen Milchverbandes und allen Herren Kollegen in der Praxis, die mich durch Zuweisung von Untersuchungsmaterial unterstützt haben.

---

Aus der Veterinaria AG, Zürich

# Beitrag zur Frage der Prüfung und Anwendung gefriergetrockneter Brucella-abortus-Impfstoffe (Stamm «Buck 19»)

Von J. Bergmann

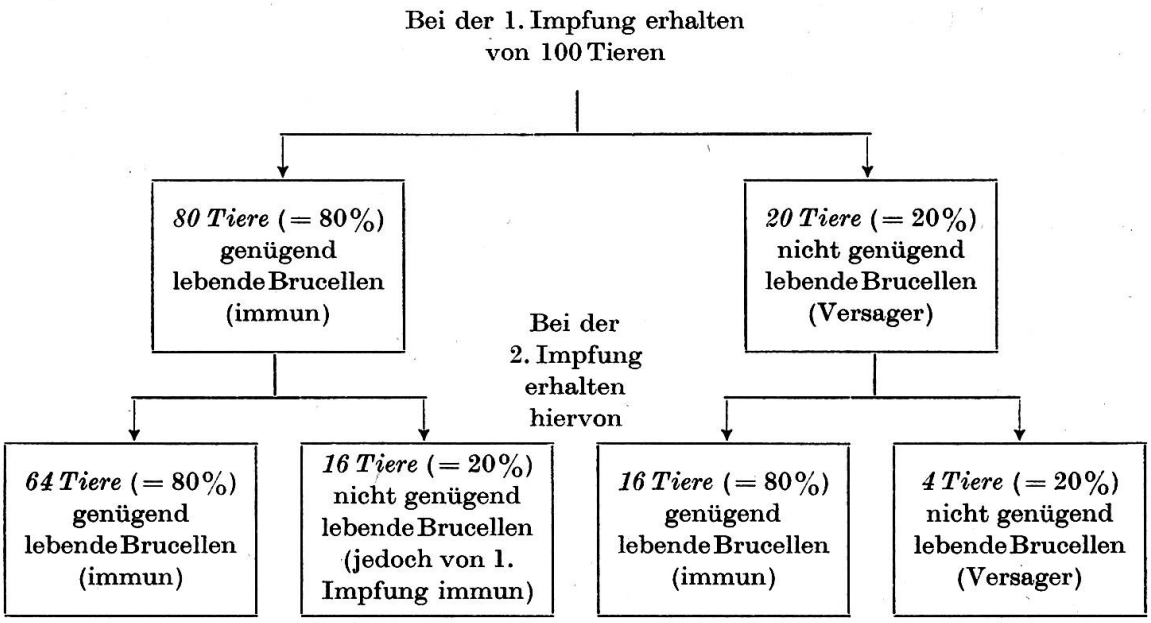
Die immer umfangreicher werdende aktive Schutzimpfung der Rinderbestände mit lebenden Kulturen schwach virulenter Stämme gegen das seuchenhafte Verwerfen (Abortus Bang) macht die Verwendung eines möglichst einheitlich wirksamen Impfstoffes zum dringenden Gebot; denn der Erfolg eines Bekämpfungsprogrammes läßt sich weder voraussagen, noch kann er erwartet werden, wenn einzelne Faktoren dieses Programmes labil sind. Und besonders dem Faktor Immunisierung messen wir im Rahmen des Bekämpfungsplanes gegen das seuchenhafte Verwerfen eine wichtige Rolle bei.

Die Schutzimpfung der Jungtiere mit lebenden Brucellen dürfte nach den bisher vorliegenden Erfahrungen die Methode der Wahl sein [6], wobei sich der von Buck [3, 4] in den Vereinigten Staaten eingeführte, schwach virulente Stamm «19» besonders bewährt hat [2, 6]. Die Erfahrung hat weiterhin gelehrt, daß zur Erzielung eines wirksamen Impfschutzes eine verhältnismäßig massive Dosis lebender Keime injiziert werden muß [7], wobei aber offenbar die Auffassungen über die genaue Zahl der zu injizierenden Brucellen noch auseinandergehen, wie wir weiter unten bei der vergleichenden Prüfung von Impfstoffen verschiedener Herkunft noch sehen werden.

Diese wichtige Forderung nach Verabreichung einer großen Zahl lebender Brucellen wird zweifellos in Frage gestellt durch die kurze Haltbarkeitsdauer der bisher und teilweise heute noch zur Anwendung gelangenden flüssigen Impfstoffe, die nichts anderes darstellen als eine Abschwemmung von Oberflächenkulturen mit physiologischer Kochsalzlösung. Begrenzt man die Verwendungsfrist solcher Abschwemmungen auf 14 Tage nach ihrer Herstellung, so ergibt sich daraus zwangsläufig, daß auch die Prüfung solcher Impfstoffe zeitlich kurz bemessen werden muß. Insbesondere die Feststellung der Anzahl lebender Keime kann vor Abgabe der Impfstoffe an die Praxis nicht abgewartet werden, da sie allein eine Zeitspanne von mindestens fünf Tagen

beansprucht. Man begnügt sich deshalb mit der Bestimmung des Trübungsgrades (Bariumsulfat-Methode) oder des Sedimentationsvolumens nach Auszentrifugieren (Trommsdorf-Methode) des zu prüfenden Impfstoffes. Beide Verfahren geben zwar Aufschluß über die Keimdichte, keineswegs aber über die Zahl lebender Keime nach einer zeitweiligen Lagerung. Damit aber die Gewähr gegeben ist, daß bei der Verimpfung des flüssigen, gegen äußere Einflüsse relativ empfindlichen Impfstoffes dennoch genügend lebende Keime verabreicht werden, führt man vielenorts, so auch in der Schweiz, eine zweimalige Impfung mit einem Intervall von 2 bis 4 Wochen durch.

Daß diese Maßnahme eine Bedeutung hat, ergibt sich aus der folgenden Überlegung: Nimmt man an, daß bei der Anwendung eines flüssigen Impfstoffes infolge fehlerhafter Lagerungsbedingungen oder anderer ungünstiger Faktoren 20% der damit schutzgeimpften Rinder nicht genügend lebende Brucellen erhalten, um eine wirksame Immunität auszubilden (Versager), so ergibt sich folgende Wahrscheinlichkeitsrechnung:




Diese Aufstellung macht deutlich, daß die Zahl von 20 Versagern nach nur einmaliger Impfung durch eine 2. Impfung auf 4 herabgesetzt werden kann, woraus die Berechtigung einer Doppelimpfung einwandfrei erhellt wird.

Nachdem nun in den letzten Jahren der durch das Gefriertrocknungsverfahren (Lyophilisation) in eine haltbare Form übergeführte Brucella-abortus-Impfstoff sich mehr und mehr durchsetzt und in einigen Ländern sogar ausschließlich noch Verwendung findet [1, 8], sind neue und bessere Voraussetzungen geschaffen worden: Zunächst wird man sich auf eine einmalige Impfung beschränken können, denn es ist wie bei den meisten lebenden Impfstoffen nach praktischen Erfahrungen auch bei der Rinder-Brucellose

zum Zustandekommen einer ausreichenden Immunität eine nur einmalige Impfung ausreichend, vorausgesetzt allerdings, daß genügend lebende Keime injiziert werden und daß die Impflinge möglichst nicht jünger als 5 Monate sind. Aus diesem Grunde hat man in der Schweiz das Mindestalter auf 6 Monate festgesetzt. Gerade aber die Mindestzahl lebender Keime kann in solchen Trockenimpfstoffen mit guter Stabilität gewährleistet werden. Weiterhin, und das scheint uns vom Gesichtspunkt der Impfstoffgewinnung her gesehen das wichtigste zu sein, erlaubt die längere Haltbarkeit des Trockenimpfstoffes eine genaue und gewissenhafte Prüfung *vor* seiner Abgabe zur Verimpfung und damit eine Standardisierung der Zahl der lebenden Brucellen.

Die nachfolgenden Ausführungen sollen nun unsere Erfahrungen während der letzten Jahre bei der Prüfung wiedergeben in der Absicht, daß die an verschiedenen Orten üblichen Prüfungsmethoden eine Angleichung untereinander erfahren und damit die Verwendung eines einheitlich standardisierten Impfstoffes erreicht wird. Wir bemerken jedoch, daß wir die allgemein bekannten bakteriologischen Prüfungen auf Reinkulturen und auf das Fehlen von R-Formen der Brucellen im Impfstoff hier aus Raumersparnisgründen nicht wiedergeben. Auch kann die Prüfung auf Löslichkeit des Trockengutes mit einem Satz abgetan werden: Es wird verlangt, daß sich der Trockenimpfstoff nach Zugabe des Lösungsmittels spontan auflöst und daß hierzu ein höchstens 1–2 Sekunden dauerndes, kräftiges Schütteln erforderlich ist. Weiterhin scheint es uns angeraten, zu betonen, daß die Trockenimpfstoffe keine nativen Eiweißkörper, jedenfalls keine artfremden (z. B. Serum) wegen der damit verbundenen Gefahr einer Sensibilisierung enthalten sollen.

Die einzelnen Prüfungsverfahren sollen wie folgt der Reihe nach beschrieben werden:

1. Bestimmung der Anzahl lebender Keime;
2. Prüfung der Schutzlösung und des Stabilisators;
3. Prüfung des Vakuums in den Fläschchen mit Trockengut.

## 1. Bestimmung der Anzahl lebender Keime

Das einfache Verdünnungsverfahren in Hunderterpotenzen mit jeweiligem Pipettenwechsel, wobei 1 ccm der Endverdünnung mit 9 ccm verflüssigtem Nähragar zu Platten ausgegossen wird, hat sich bei uns am besten bewährt. Das Ausspateln von 0,1 ccm der Endverdünnung auf der Oberfläche von Nähragar ist zwar einfacher, jedoch sind die Ergebnisse dabei nicht immer so gleichmäßig wie bei den Gußplatten. Dies scheint auch der Grund zu sein, weshalb Bosgra [1] und Stableforth [7] für das Ausspateln 6 Platten je Verdünnung fordern, während wir uns mit gutem Erfolg in bezug auf Gleichmäßigkeit der Koloniezahlen auf 2 Gußplatten je Verdünnung beschränken.

Im einzelnen gehen wir wie folgt vor: Der zu prüfende Impfstoff wird in der vorgeschriebenen Menge gelöst. Dann wird 0,5 ccm entnommen und zu 49,5 ccm gewöhnlicher Rindfleischbouillon (pH 7,5) in eine 100-ccm-Flasche gegeben (= Verdünnungsgrad $10^{-2}$). Eine gleichmäßige Mischung wird durch Rotieren und Schwenken der Flasche erreicht, wobei man Schaumbildung vermeiden soll. Von dieser Verdünnung wird dann mit einer frischen sterilen Pipette wiederum 0,5 ccm entnommen und zu 49,5 ccm Rindfleischbouillon gegeben (= Verdünnungsgrad $10^{-4}$) usw., bis die gewünschte Endverdünnung erreicht ist, die in unserem Falle $10^{-8}$ beträgt. Um diese Endverdünnung $10^{-8}$ zu erreichen, sind demnach nur 4 Verdünnungen von jeweils 0,5 + 49,5 ccm erforderlich, was eine Einsparung an Zeit und Pipetten sowie eine Reduktion möglicher Pipettierfehler zur Folge hat. Bei der Verdünnung in Zehnerpotenzen spart man zwar erhebliche Mengen an Verdünnungsflüssigkeit (Bouillon) ein, benötigt aber die doppelte Anzahl an Pipetten, was sich bei mehreren Zählungen zur gleichen Zeit nachteilig auswirkt. Auch etwaige Pipettierfehler kommen dabei stärker zur Geltung. Es ist besonders wichtig, daß bei jedem Überpipettieren zum nächsthöheren Verdünnungsgrad eine andere sterile Pipette verwendet wird, da die in der Pipette an der Glaswand zunächst haftenbleibenden, in den weiteren Verdünnungsflaschen aber nach und nach abschwemmenden Keime ein falsches Zählergebnis verursachen können. Auch soll man stets eine gleichbleibende Pipettiertechnik beibehalten und beispielsweise nicht bei einer Prüfung den Pipetteninhalt ausblasen und bei der nächsten ihn auslaufen lassen; oder man soll darauf achten, daß nicht das eine Mal nach dem Aufsaugen der Brucellen-Suspension ein Tropfen am Pipettenauslauf hängenbleibt und beim anderen Mal dieser Tropfen abgestreift wird.

Von der Endverdünnung (in unserem Falle $10^{-8}$) geben wir 1 ccm zu 9 ccm verflüssigtem und wieder auf 43–46°C abgekühltem Tryptose-Agar «Difco», der, in Röhrchen abgefüllt, im Wasserbad bereitsteht. Durch vorsichtiges Schwenken (Schaumbildung vermeiden!) wird eine gleichmäßige Mischung erreicht, worauf dann der Inhalt des Röhrchens in eine sterile Petrischale (⌀ 9 cm) ausgegossen wird. Auch die Schale selbst wird nochmals kurz rotiert, damit sich die Agarschicht auf die ganze Platte verteilt und überall gleichmäßig dick ist. Sobald dies vernachlässigt wird oder die Petrischale während des Erstarrens des Agars nicht genau horizontal liegt, wird die Nährbodenschicht an einigen Stellen sehr dünn. Die Folge davon ist, daß diese Teile des Mediums bei der nachfolgenden Bebrütung rasch austrocknen, und zwar bevor sich ein gut sichtbares Wachstum der Brucellen zeigt. Deshalb bilden die Keime in diesen Nährbodenteilen entweder überhaupt keine oder nur sehr spärlich entwickelte Kolonien, die oft mit bloßem Auge nicht erkannt werden können. – Von jeder Verdünnung werden 2 Platten ausgegossen und bei der Keimzählung das Durchschnittsergebnis der beiden Platten notiert. Wir sind uns bewußt, daß 3 Platten je Verdünnung in manchen Fällen ein noch genaueres Ergebnis liefern würden, besonders dann, wenn Verunreinigungen vorliegen.

Daß unsere Wahl bei der Bereitung der Gußkulturen auf Tryptose-Agar «Difco» fiel, hat zwei Gründe: Zunächst zeigen die Brucellen in diesem Medium ein maximales Wachstum, und zweitens zeichnet sich dieser in Trockenform gelieferte Nährboden auch bei längerer Lagerung durch eine bemerkenswerte Gleichmäßigkeit seiner Eigenschaften aus. Dadurch wird es möglich, während mehrerer Jahre das genau gleiche Nährbodenmaterial anzuwenden und somit die Fehlerquellen, die ein in kleineren Quantitäten und in kürzeren Zeitabständen selbst zubereiteter Nährboden mit sich bringt, praktisch auszuschalten.

Die Entscheidung, welche Verdünnung als Endverdünnung ausgezählt werden soll, richtet sich nach dem voraussichtlichen Keimgehalt des zu prüfenden Impfstoffes. Und zwar sollen sich in den Gußkulturen mindestens 50 und möglichst nicht mehr als 300 Kolonien entwickeln. Sind weniger als 50 Kolonien auf einer Platte, so wird die Umrechnung auf den Keimgehalt des unverdünnten Impfstoffes zu ungenau (Fehler der kleinen Zahl!). Sind mehr als 300 Kolonien auf einer Platte, so können infolge zu

dichten Wachstums leicht Zählfehler vorkommen, und außerdem beansprucht das Auszählen dann eine beachtliche Zeit. Je dichter das Wachstum ist, das heißt also je zahlreicher die Kolonien in einer Gußplatte sind, desto kleiner sind auch die Kolonien, und desto eher besteht deshalb die Möglichkeit, daß ein Teil ganz übersehen wird.

Das Verfahren mit Hunderterpotenzen liefert nur die Verdünnungen $10^{-2}$, $10^{-4}$, $10^{-6}$, $10^{-8}$ usw. Soll nun auch ein dazwischenliegender Verdünnungsgrad geprüft werden, so gehen wir beispielsweise bei $10^{-7}$ so vor, daß wir von der Verdünnung $10^{-6}$ 0,5 ccm mit 4,5 ccm Bouillon mischen und davon wieder 1 ccm mit Agar zur Plattenkultur ausgießen. Auch könnte man von der Verdünnung $10^{-8}$ nicht 1 ccm, sondern 0,1 ccm mit Agar ausgießen und würde dann den der Verdünnung $10^{-7}$ entsprechenden Keimgehalt des Impfstoffes in der Gußkultur vorfinden. Jedoch ist das Abmessen von 0,1 ccm verhältnismäßig ungenau, so daß wir auch hier das an sich einfachere Vorgehen ablehnen.

Die bisher geschilderten Arbeiten nehmen wir in einem möglichst kleinen Raum vor, in welchem sich gleichzeitig Wasserdampf entwickelt. Dadurch kann der Keimgehalt der Luft wesentlich verringert werden, und Verunreinigungen der Gußkulturen kommen nur selten vor.

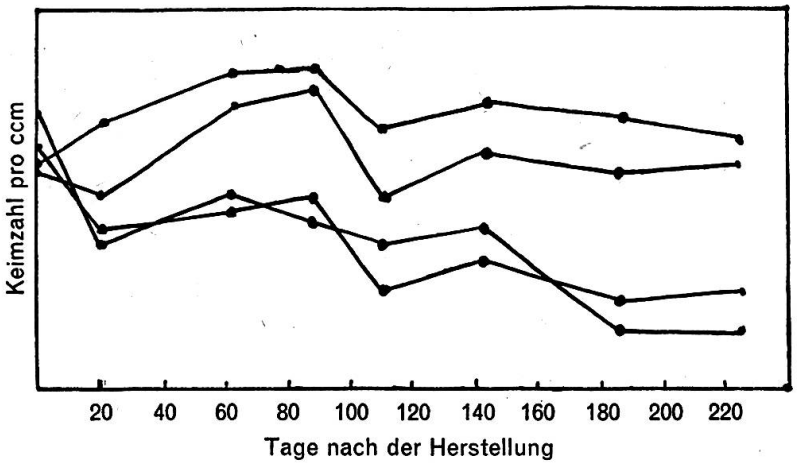
Nachdem die Gußplatten abgekühlt und fest erstarrt sind, werden sie 5 Tage lang bei 37°C bebrütet. Darauf erfolgt das Auszählen der Kolonien. Hierzu legen wir die Petrischalen mit ihrem den Nähragar enthaltenden Boden nach oben auf eine schwarze Unterlage und betrachten bei gutem, auffallendem Licht. Auf diese Weise kann man durch den Glasboden der Schale die Kolonien gut erkennen. Die Kolonieformen sind verschieden, je nachdem sie auf dem Agar, im Agar oder unter ihm, also zwischen Glas und Agarschicht, gewachsen sind. Im ersten Falle zeigen sie das übliche Aussehen von Brucella-abortus-Oberflächenkolonien (kuppelförmig, glänzend, mit 1–2 mm Durchmesser verhältnismäßig groß). Die im Agar sich entwickelnden Kolonien sind sehr kleine, höchstens 0,5 mm im Durchmesser messende, spindel- oder scheibenförmige Gebilde, und die zwischen Glas und Agarschicht anzutreffenden Kolonien sind ganz flach, sehr zart und rund mit einem Durchmesser von etwa 1 mm und haben mitunter ein fächerähnliches Aussehen.

Das Auszählen selbst erfolgt durch Anzeichnen jeder gezählten Kolonie mit schwarzer Tusche auf dem Glas des nach oben gekehrten Bodens der Petrischale. Aus der Zahl der Kolonien erhält man dann den Keimgehalt von 1 ccm des unverdünnten Impfstoffes, indem man die Koloniezahl mit dem reziproken Wert der betreffenden Verdünnung multipliziert. Hat man beispielsweise in der Gußkultur der Verdünnung $10^{-8}$ 153 Kolonien gezählt, so enthält 1 ccm des unverdünnten Impfstoffes $153 \cdot 10^8 =$ 15,3 Milliarden Brucellen. Für diesen Impfstoff sind als Dosis 2 ccm je Rind vorgeschrieben, so daß sein Keimgehalt demnach 30,6 Milliarden Brucellen pro Dosis beträgt.

Ein oft wiederkehrender Fehler stellt sich ein beim Auszählen zweier benachbarter Verdünnungen desselben Impfstoffes, also zum Beispiel der Verdünnungen $10^{-7}$ und $10^{-8}$. Rechnet man aus der Koloniezahl dieser beiden Verdünnungen jeweils den Keimgehalt des unverdünnten Impfstoffes aus, so wird man mit der Verdünnung $10^{-8}$ fast stets einen höheren Wert erhalten als mit der Verdünnung $10^{-7}$, wobei die Differenz bis zu 20% betragen kann. Wir führen diese Erscheinung darauf zurück, daß die Keime in niederen Verdünnungen teilweise noch zusammenhängen und erst bei jeder weiteren Verdünnung durch das jedesmalige Schwenken der Flaschen mehr und mehr auseinandergerissen werden. Zwei oder mehr zusammenhängende Keime aber bilden dann in der Gußkultur nur eine einzige Kolonie, und jede Kolonie wird beim Auszählen als nur ein Keim bewertet. Dieser Fehler kann durch besonders intensives Rotieren der Verdünnungsflaschen einigermaßen verringert werden, und das intensive Rotieren scheint nach unseren Erfahrungen sich nicht nachteilig auf die Brucellen auszuwirken, solange man Bouillon als Verdünnungsmedium verwendet.

Einen weiteren Fehler, den wir bisher noch nicht haben vermeiden können, weil wir seine Ursache noch nicht kennen, möchten wir anhand der Tabelle 1 schildern.

Tabelle 1




In dieser Tabelle sind die ermittelten Keimzahlen von 4 verschiedenen Abortus-Bang-Trockenimpfstoffen während rund 7 Monaten graphisch dargestellt. Die Keimzahlbestimmungen wurden bei allen 4 Impfstoffen jeweils zur gleichen Zeit, mit dem gleichen Trocken-Nährboden während der ganzen Versuchsdauer und nach genau derselben Technik durchgeführt. Auch handelte es sich bei allen Prüfungen um dieselbe technische Assistentin, die mit der Durchführung der Arbeiten betraut wurde und die sich während mehr als 3 Jahren auf diesem Gebiet eine gleichbleibende Routine angeeignet hatte. Das Ziel dieser Versuche, die Haltbarkeit der Impfstoffe zu ermitteln, interessiert hier nicht. Als Nebenbefund aber, und das soll in diesem Zusammenhang von Bedeutung sein, stellte sich heraus, das die 4 Impfstoffe an den meisten Zählterminen entweder alle eine abfallende, oder aber alle eine ansteigende Keimzahl im Vergleich zur vorangegangenen Zählung aufwiesen. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, daß die Unterschiede auf individuellen Faktoren an den einzelnen Zähltagen beruhen. Diese Faktoren haben wir bisher trotz peinlich genauer Einhaltung aller Vorschriften noch nicht ausschalten können. Hätte man nur einen einzigen Impfstoff geprüft, so wäre man zu leicht geneigt gewesen, die Unterschiede auf mengenmäßig verschiedene Abfüllungen in den Impfstoff-Fläschchen zurückzuführen. Wenn auch diese Abfüllfehler zweifellos eine Rolle spielen, so ist es bei der gleichzeitigen Prüfung von 4 verschiedenen Impfstoffen aber wohl kaum möglich, daß an einem Prüfungstag von allen Impfstoffen entweder ein überfülltes oder von allen Impfstoffen ein zu wenig gefülltes Fläschchen gewählt worden ist. Auch stellt dieses Ergebnis keinen Einzelfall dar, sondern es wurde eigentlich immer mehr oder weniger deutlich bei unseren bisherigen Arbeiten beobachtet. – Soll ein möglichst zuverlässiges Ergebnis bei der Prüfung eines Impfstoffes erhalten werden, so scheint es deshalb zweckmäßig zu sein, daß mehrere Proben zu verschiedenen Zeiten, und zwar mit mindestens eintägigen Intervallen, geprüft werden.

Der Vollständigkeit halber möchten wir noch bemerken, daß wir die Bestimmung der Zahl der lebenden Brucellen im Warburgschen Apparat ablehnen, da diese Methode zwar qualitativ, nicht aber quantitativ verläßliche Resultate liefert. Einmal dürfte eine gewisse Abhängigkeit bestehen zwischen dem Sauerstoffverbrauch und der betreffenden Suspensionsflüssigkeit, in welcher die Keime lyophilisiert worden sind, und weiterhin dürften auch gelegentliche Verunreinigungen während der Versuchsdauer den Sauerstoffverbrauch fehlerhaft beeinflussen. Außerdem findet der Tod der Bakterienzelle nach Frei [5] in Etappen statt: Der Proliferationsapparat, welcher in direkter Abhängigkeit zum Oxydationsapparat der Zelle steht, ist wesentlich emp-

findlicher als dieser und stirbt deshalb eher ab. Das bedeutet aber und läßt sich experimentell auch nachweisen, daß die Atmung – wenn auch in verringertem Ausmaß – selbst dann noch weitergeht, wenn die Keime ihre Vermehrungsfähigkeit bereits verloren haben.

Die Frage nach der Zahl der bei der Impfung zu verabreichenden Brucellen wird, wie eingangs bereits erwähnt, noch nicht einheitlich beantwortet. Einigkeit besteht nur insofern, als eine verhältnismäßig massive Dosis lebender Keime als notwendig erachtet wird. Seelemann [6] stellt seinen flüssigen Impfstoff nach der Bariumsulfatmethode so ein, daß er in frischem Zustand 2 Milliarden lebende Keime im ccm und bei einem Injektionsvolumen von 5 ccm demnach 10 Milliarden lebende Brucellen pro Dosis enthält. Mit diesem Impfstoff sollen – nach den Erfahrungen des Autors – die Tiere zweimal im Abstand von 3 bis 4 Wochen geimpft werden. Die Schwierigkeit bei der Festsetzung der optimalen Keimzahl in den Impfstoffen liegt vor allem darin, daß es bisher noch an einer exakten Methode fehlt, mit welcher der Grad der Immunität beim schutzgeimpften Rind bestimmt werden kann. Unsere Kenntnisse stützen sich deshalb lediglich auf die Erfahrungen der Praxis. Hinzu kommt, daß auch die einzelnen Zählverfahren verschiedenartige Ergebnisse liefern, und solange man sich nicht auf eine einheitliche Methode in der Keimzahlbestimmung geeinigt hat, wird man schon deshalb, was die optimale Brucellenmenge anbelangt, aneinander vorbeireden.

Wenn wir die erwähnten, von Seelemann angegebenen Zahlen nach unseren bisherigen Erfahrungen als Minimum und nur unter der Voraussetzung einer zweimaligen Impfung als ausreichend erachten, so glauben wir andererseits, daß Stableforth [7] mit 80 Milliarden lebender Brucellen je Impfdosis die obere Grenze der erforderlichen Keimzahl anstrebt. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß auch diese Angaben sich auf einen flüssigen Impfstoff beziehen, dessen verhältnismäßig lange Verwendbarkeitsdauer von 4 Wochen (Seelemann: 2 Wochen) erst *nach* Ablauf einer eingehenden, 7 Tage dauernden Prüfung beginnt. Am Ende dieser Verwendbarkeitsdauer wird die Zahl der lebenden Keime kaum höher sein als bei einem Impfstoff, welcher mit 10 Milliarden je Dosis frisch, das heißt 24 Stunden nach der Abschwemmung der Kulturen abgegeben und mit einer 14tägigen Verwendbarkeitsdauer befristet wird und bei welchem zudem noch der Sicherheitsfaktor der zweimaligen Impfung besteht.

Kilchsperger (persönliche Mitteilung) macht überzeugend geltend, daß zwar die Verabreichung einer optimalen Brucellenmenge unter allen Umständen gewährleistet werden muß, daß sie aber keinesfalls erheblich überschritten werden sollte, damit die durch die Impfung erzeugten positiven Agglutinationstiter baldmöglichst wieder verschwinden. Denn gerade diese «Impftiter» können ja von den durch eine natürliche Infektion hervorgerufenen Titern nicht unterschieden werden. Deshalb erschweren lang andauernde Impftiter nicht nur den serologisch-diagnostischen Teil des

Bekämpfungsplanes, sondern auch den intensiven Viehhandel insbesondere mit dem Ausland.

Unter Berücksichtigung der geschilderten Umstände hat das Eidgenössische Veterinäramt [9] festgelegt, daß der gefriergetrocknete Brucella-abortus-Impfstoff (Stamm «Buck 19») 30–50 Milliarden lebende Keime je Impfdosis bei seiner Anwendung enthalten und nur einmalig verimpft werden soll.

## 2. Prüfung der Schutzlösung und des Stabilisators

Die Schutzlösung hat die Aufgabe, die Brucellen beim Einfrierprozeß weitgehend vor dem Absterben zu schützen, während es dem Stabilisator zufällt, die im gefrorenen Zustand getrockneten Keime möglichst lange am Leben zu erhalten. Grundsätzlich unterscheiden wir zwischen diesen beiden Eigenschaften, wenn es auch möglich ist, beide in ein und derselben Substanz gelegentlich vereinigt zu finden. Aber beispielsweise die von Bosgra [1] angegebene, 7,5%ige Glukoselösung zeigte uns, daß sie sich durch gute schützende Eigenschaften beim Einfrieren auszeichnet, daß aber ihre stabilisierenden Eigenschaften während der Lagerung und besonders, wenn der betreffende Trockenimpfstoff einer Belastungsprobe (siehe unten) ausgesetzt wird, nicht besonders hoch sind.

Der Schutzlösung kommt vorwiegend nur interne Bedeutung bei der Impfstoffgewinnung zu, indem es darum geht, von den abgeschwemmten Kulturen beim nachfolgenden Einfrieren möglichst viele Keime am Leben zu erhalten, damit eine wirtschaftliche Ausbeute erreicht wird. Für die Praxis dagegen ist die Schutzlösung nur insofern von Bedeutung, als ein einmal gelöster Trockenimpfstoff vielleicht nicht sofort gebraucht wird und infolge sehr kalter Witterung einfrieren kann. Hierbei wäre es dann wichtig, daß die Keime durch das Einfrieren nicht geschädigt werden. Aber aus anderen Gründen sollte ein Trockenimpfstoff erst dann gelöst werden, wenn er unmittelbar darauf verimpft werden kann.

Diesen beiden Umständen angepaßt, gestaltet sich auch unsere Prüfung der Schutzlösung: Von einem Teil der abgeschwemmten Brucellen-Suspension wird eine kleine Probe zur Keimzahlbestimmung entnommen, der Rest wird eingefroren und bei Zimmertemperatur wieder aufgetaut. Davon wird wieder eine kleine Probe zur Keimzahlbestimmung entnommen und der Rest abermals eingefroren und wieder aufgetaut. Diesen Vorgang des Einfrierens mit nachfolgendem Auftauen und Auszählen der noch überlebenden Keime führen wir insgesamt dreimal unmittelbar hintereinander durch. Wir verlangen von der Schutzlösung, daß durch jeden dieser 3 Einfrierprozesse nicht mehr als 10% der zuvor ermittelten lebenden Keime absterben, oder, daß am Ende des Versuches noch rund 70% lebende Keime im Vergleich zur Ausgangs-Suspension (vor dem 1. Einfrieren) nachgewiesen werden müssen. Bei einer guten Schutzlösung jedoch verläuft das Einfrieren in der Regel ohne Absterben der Brucellen.

Infolge der Fehlermöglichkeiten aller Zählmethoden dürfen die dabei ermittelten Zahlenwerte allerdings nicht zu streng beurteilt werden. So ist es schon vorgekommen, daß nach dem 2. Einfrieren mehr Keime nachgewiesen wurden, als in der Ausgangs-Suspension vor dem 1. Einfrieren vorhanden waren. Immerhin gehören aber solche

paradoxen Ergebnisse zu den Seltenheiten. Bei gleichbleibender Technik in der Herstellung der Suspensionsflüssigkeit (Schutzlösung) wird man sich auf nur wenige Prüfungen dieser Art in größeren Zeitabständen beschränken können. Dann allerdings führen wir solche Prüfungen auch genau, das heißt mehrmals an verschiedenen Tagen durch, um ein einigermaßen verläßliches Durchschnittsergebnis zu erhalten.

Dem Stabilisator dagegen kommt ausschließliche Bedeutung für die praktische Anwendung des Impfstoffes zu, indem er für die Haltbarkeit, das heißt für die Konstanz der Zahl der lebenden Brucellen während der Lagerung des Impfstoffes verantwortlich ist. Für die Prüfung der Qualität eines Stabilisators mußte eine Untersuchungsmethode gefunden werden, mit welcher man rasch Aufschluß über die stabilisierenden Eigenschaften des einen oder anderen Trockenimpfstoffes erhält. Wird der zu prüfende Impfstoff bei Zimmertemperatur oder gar im Kühlschrank gelagert, so benötigt die Ermittlung seiner Haltbarkeitsdauer eine viel zu lange Zeitspanne, weshalb die Prüfung auch nicht vor Abgabe des Impfstoffes zum Verbrauch abgeschlossen werden kann. Gerade diese Forderung aber, daß die Prüfung *vor* der Abgabe abgeschlossen wird, sollte erfüllt werden. – Weiterhin kam es uns darauf an, Grenzwerte zu erhalten, ähnlich wie bei anderen Prüfungsverfahren, denen zum Beispiel Immunitätsreaktionen zugrunde liegen. Es war also nicht nur wünschenswert, festzustellen, daß ein Impfstoff während einer bestimmten Zeit sicher in seiner Zahl lebender Brucellen konstant bleibt, sondern ebenso wichtig war es auch, zu ermitteln, von wann ab und in welchem Maße die Zahl der lebenden Keime abfällt.

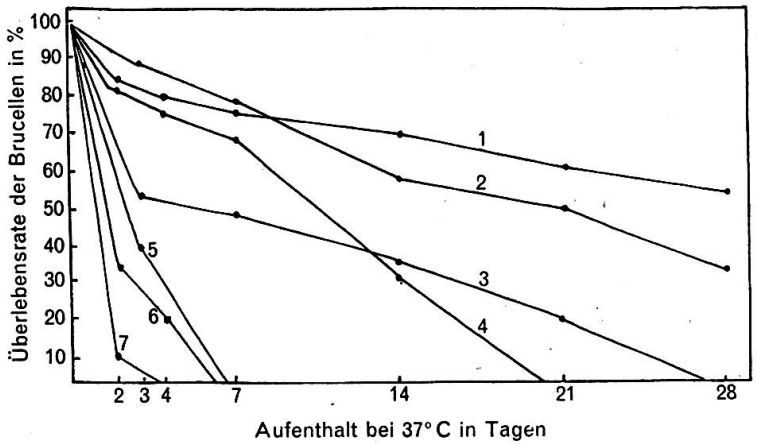
Es ist bekannt, daß die optimale Lagerungstemperatur für gefriergetrocknete Bakterien zwischen 1 und 5° C liegt und daß, je höher diese Temperatur steigt, desto schneller die Keime absterben. Schon bei Zimmertemperatur von etwa 18° C geht das Absterben erheblich rascher vor sich. Wir setzten deshalb verschiedene Impfstoffproben einer Belastungsprobe im Brutschrank bei 37° C aus und stellten dabei fest, daß solche Proben, die im Brutschrank verhältnismäßig langsam abstarben, auch ein längeres Überleben bei Zimmertemperatur und erst recht im Kühlschrank zeigten, gegenüber solchen Impfstoffen mit verhältnismäßig kurzer Haltbarkeitsdauer bei Zimmer- und bei Kühlschranktemperatur. Es zeigte sich also, daß die Geschwindigkeit des Absterbens bei der Belastungsprobe im Brutschrank in einem bestimmten Verhältnis steht zu der Geschwindigkeit des Absterbens bei Zimmer- und bei Kühlschranktemperatur. Deshalb können aus der Überlebensdauer der Keime bei 37° C Rückschlüsse gezogen werden auf die Haltbarkeitsdauer der Impfstoffe bei Zimmer- und bei Kühlschranktemperatur.

Für die Prüfung der stabilisierenden Eigenschaften eines gefriergetrockneten Brucella-abortus-Impfstoffes führten wir deshalb die Brutschrank-Belastungsprobe ein, die wir heute folgendermaßen vornehmen: Von dem zu prüfenden Impfstoff werden je 5 Proben in den Brutschrank bei 37° C und in den Kühlschrank bei 2–3° C gestellt. Nach 3, 7, 14, 21 und 28 Tagen wird jeweils eine Probe aus dem Brutschrank und eine solche aus dem Kühlschrank entnommen und mittels der in Abschnitt 1 ge-

schilderten Methode ihre Zahl lebender Brucellen bestimmt. Das Ergebnis wird graphisch dargestellt, und zwar werden die einzelnen Überlebensraten in Prozenten gegenüber dem Ausgangskeimgehalt ausgedrückt. Der Ausgangskeimgehalt stellt das Durchschnittsergebnis der Zählungen der 5 Kühlschrankproben dar und wird in der graphischen Darstellung mit 100% eingetragen. Dadurch haben alle Impfstoffe auch mit unterschiedlichem Ausgangskeimgehalt in der graphischen Darstellung den gleichen Ausgangspunkt und können gut miteinander verglichen werden.

In der Tabelle 2 geben wir ein Protokoll wieder, welches die Ergebnisse der Prüfung von sechs verschiedenen fremden Impfstoffen im Vergleich zu einem Impfstoff eigener Herstellung enthält. Die Zahl der lebenden Brucellen je Impfdosis dieser Trockenimpfstoffe haben wir wie folgt ermittelt: Impfstoff Nr. 1: $70.10^9$, Nr. 2: $35.10^9$, Nr. 3: $30.10^9$, Nr. 4: $8.10^9$, Nr. 5: $15.10^9$, Nr. 6: $2.10^9$, und Nr. 7: $6.10^9$. Zum Zeitpunkt der Prüfung hatten die fremden Impfstoffe laut Angabe auf den Etiketten noch eine Verwendbarkeitsdauer von im Maximum 10 Monaten (Nr. 4 und 7) und im Minimum 3 Monaten (Nr. 1).

Tabelle 2




Bei der Bewertung des Ergebnisses dieser Stabilisatorprüfung möchten wir uns heute noch nicht endgültig festlegen, da wir noch nicht über genügend vergleichendes Zahlenmaterial verfügen, welches die Haltbarkeit der betreffenden Impfstoffe bei Zimmer- und bei Kühlschranktemperatur während längerer Zeiträume angibt. Außer Zweifel steht aber wohl, daß die Stabilität der in der Tabelle 2 aufgeführten Impfstoffe Nr. 1 und 2 als sehr gut und die von Nr. 3 und 4 mindestens als gut bezeichnet werden kann. In einem größeren Versuch sind wir jetzt dabei, das genaue Verhältnis zwischen der Haltbarkeit verschiedener Impfstoffe im Brutschrank einerseits und bei Zimmertemperatur andererseits zu bestimmen. Erst wenn dieses Verhältnis zahlenmäßig genau ausgedrückt werden kann, möchten wir die Bedingungen festsetzen, welche wir an die Stabilisatorprüfung stellen. In diesem Versuch, über den dann zu einem späteren Zeitpunkt berichtet werden soll, sind selbstverständlich auch entsprechende Kühlschrankproben mit eingeschlossen, weil man diese schon zu Kontrollzwecken benötigt. Weniger Wert legen wir jedoch darauf, die Haltbarkeit der Kühlschrankproben zu ermitteln,

weil diese verhältnismäßig lang ist, denn auch solche Impfstoffe wie Nr. 5, 6 und 7 (Tabelle 2) halten sich im Kühlschrank mehrere Monate. Wesentlich mehr Gewicht legen wir auf die Haltbarkeit bei Zimmertemperatur, denn diese ist, sobald ein Impfstoff die Herstellungsstätte verläßt, von ausschlaggebender Bedeutung, weil nur in wenigen Fällen über diesen Zeitpunkt hinaus noch eine Lagerung im Kühlschrank gewährleistet werden kann.

Das Gesamtergebnis, welches die Tabelle 2 zu erkennen gibt, zeigt deutlich, daß an einzelnen Orten bei der Herstellung gefriergetrockneter Brucella-abortus-Impfstoffe noch manches im Hinblick auf die Stabilität getan werden muß, und daß dieser Teil der Anforderungen an einen solchen Impfstoff bei der Prüfung noch mehr Beachtung bedarf. – Die Keimzahlen der geprüften Impfstoffe sind ebenfalls sehr unterschiedlich. Sie variieren zwischen 2 und 70 Milliarden lebender Brucellen je Impfdosis. Auch in dieser Hinsicht scheint es wünschenwert, daß eine Angleichung erfolgt.

### 3. Prüfung des Vakuums in den Fläschchen mit Trockengut

Mit diesem Thema soll der Frage, ob nur ein Vakuum in den Impfstoffgefäßen optimale Lagerungsbedingungen schaffe, nicht vorgegriffen werden. Auch indifferente Gase wie zum Beispiel Stickstoff leisten dabei gute Dienste. Aber der Verschluß unter Vakuum bietet auch in prüfungstechnischer Hinsicht Vorzüge, indem sich vor allem der Nachweis des Vakuums sicher und verhältnismäßig einfach durchführen läßt, ohne daß die untersuchten Fläschchen geopfert werden müssen.

Zu dieser Prüfung benutzen wir den Hochfrequenz-Vakuumprüfer der Firma Leybold/Köln, mit dem je nach der Farbe des Aufleuchtens der Fläschchen auch graduelle Unterschiede des vorhandenen Vakuums grob ermittelt werden können. Das «Durchleuchten» der Impfstoffgefäße mit diesem Hochfrequenzgerät ist nach unseren bisherigen Erfahrungen ohne Nachteil für die Brucellen, so daß jedes Fläschchen eines Herstellungssatzes geprüft werden kann. Gerade dies bedeutet einen besonderen Vorzug, denn die Überprüfung des Vakuums nur an Stichproben nützt praktisch gar nichts.

Im einzelnen gehen wir so vor, daß jedes Fläschchen nach seinem Verschluß auf das vorhandene Vakuum geprüft wird. Eine zweite Überprüfung aller Fläschchen erfolgt nach etwa 14tägiger Lagerung im Kühlschrank, weil die niedrige Kühlschranktemperatur besonders hohe Anforderungen an den vakuumdichten Verschluß stellt. Fläschchen, die sich hierbei ohne Vakuum zeigen sollten, werden auf vorhandene Sprünge im Glas oder sonstige Fehler untersucht, gegebenenfalls nochmals evakuiert und nach weiteren 14 Tagen der gleichen Prüfung unterzogen. Nur wenn sich dann das Vakuum einwandfrei gehalten hat, werden sie zur Abgabe freigegeben. Der Vollständigkeit halber möchten wir noch hinzufügen, daß Chargen, die längere Zeit (mehr als 2 Monate) bei uns gelagert werden, bevor sie zum Verpacken und dann zur Abgabe gelangen, noch ein drittes Mal auf das vorhandene Vakuum geprüft werden.

Mit dem geschilderten Vorgehen glauben wir gewährleisten zu können, daß sich das Vakuum in den Gefäßen während der Verwendbarkeitsdauer der Impfstoffe, die in unserem Falle 8 Monate nach der Herstellung beträgt, hält.

## Zusammenfassung

Der gefriergetrocknete Brucella-abortus-Impfstoff mit dem Stamm «Buck 19» weist gegenüber dem gleichartigen flüssigen Impfstoff nicht nur bei seiner Anwendung, sondern auch in prüfungstechnischer Hinsicht wesentliche Vorzüge auf. Da es möglich ist, diesem Impfstoff eine beachtliche Stabilität zu verleihen, kann die Anzahl der lebenden Brucellen standardisiert und über mehrere Monate konstant erhalten werden. Alle erforderlichen Prüfungen des Impfstoffes können vor seiner Abgabe zum Verbrauch durchgeführt werden. Eine bewährte Methode zur Bestimmung der Anzahl lebender Brucellen nach dem Verdünnungsprinzip wird in Einzelheiten geschildert. – Zum Nachweis der Stabilität der Impfstoffe wird die Brutschrank-Belastungsprobe eingeführt und beschrieben. Aus den Überlebensraten der Brucellen während verschieden langer Zeiten im Brutschrank bei 37°C können Rückschlüsse gezogen werden auf die Haltbarkeit des betreffenden Impfstoffes bei Zimmer- und bei Kühlschranktemperatur. Diese Stabilitätsprüfung hat bei 7 verschiedenen Handelsimpfstoffen sehr große Unterschiede ergeben, und zwar gab es solche, die schon nach 4 Tagen bei 37°C weniger als 10% lebende Brucellen, und andere, die selbst noch nach 4 Wochen rund 50% lebende Brucellen aufwiesen. Ebenso unterschiedlich war die Keimzahl dieser 7 Impfstoffe: sie variierte zwischen 2 und 70 Milliarden lebender Brucellen je Impfdosis. – Weiterhin wird die Prüfung des Vakuums in den Impfstoffgefäßen und die der Schutzlösung beschrieben. Der Verschluß der Fläschchen unter Vakuum ist mit ausschlaggebend für die Haltbarkeit des Impfstoffes, und die Schutzlösung hat die Aufgabe, die Brucellen während des Einfrierens vor dem Absterben zu schützen.

## Résumé

Le vaccin contre l'avortement de Bang desséché par congélation avec la souche « Buck 19 » présente à l'égard du même vaccin liquide de grands avantages non seulement dans son application mais encore au point de vue de son contrôle technique. Comme il est possible de conférer à ce vaccin une appréciable stabilité, le nombre des brucelles vivantes peut être standardisé et maintenu constant pendant plusieurs mois. Tous les contrôles nécessaires du vaccin peuvent être exécutés avant sa livraison. Description détaillée d'une méthode éprouvée pour la détermination du nombre de brucelles vivantes selon le principe de la dilution. Description des différents moyens de contrôle de la stabilité des vaccins. Les différents temps de survie des brucelles dans l'étuve à 37° permettent certaines déductions quant à la durée de conservation du vaccin à la température de laboratoire et à celle du frigorifique. Ce contrôle de stabilité a révélé de forts contrastes pour 7 vaccins différents. Ainsi, certains d'entre-eux, à 37°, ont présenté en 4 jours déjà moins de 10% de brucelles vivantes; d'autres conservaient le 50% de brucelles vivantes pendant 4 semaines. La teneur en germes de ces 7 vaccins était également fort variable: elle oscillait entre 2 et 70 milliards de brucelles vivantes par dose vaccinale. Description du contrôle du vacuum dans les doses vaccinales et de la solution de protection. L'obturation des flacons à vacuum est déterminante pour la conservation du vaccin et la solution de protection a pour but d'empêcher la mort des brucelles pendant la congélation.

**Riassunto**

Il vaccino essiccato per congelamento derivante dalla brucella abortus con il ceppo «Buck 19» presenta, di fronte al vaccino liquido dello stesso genere, dei notevoli vantaggi, non solo in vista del suo uso, ma anche riguardo alla prova tecnica. Poichè a questo vaccino si può fornire una notevole stabilità, il numero delle brucelle vive può essere standardizzato e mantenuto costante per oltre parecchi mesi. Tutte le prove necessarie del vaccino possono effettuarsi prima che il vaccino venga consegnato per l'uso. Si illustra in particolare, col principio della diluzione, un metodo fidato per determinare il numero delle brucelle vive. Per dimostrare la stabilità dei vaccini, si cita e si descrive la prova di carico nel termostato. Dagli studi di sopravvivenza delle brucelle per diversi lunghi periodi di permanenza nel termostato a 37 gradi C, si possono trarre delle deduzioni sulla resistenza del rispettivo vaccino alla temperatura ambientale ed a quella frigorifica. Questa prova di stabilità ha già dato in 7 diversi vaccini commerciali delle grandi differenze ed in atti ci furono dei vaccini che già dopo 4 giorni a 37 gradi C presentarono meno del 10% di brucelle, mentre altri vaccini, persino dopo 4 settimane, avevano ancora circa il 50% di brucelle vive. Anche il numero dei germi di questi 7 vaccini è risulto diverso; esso è variato fra 2–70 miliardi di brucelle vive per ciascuna dose da iniettare. Infine si descrive le prove nel vuoto dei recipienti usati per il vaccino e di quelli della soluzione protettrice. La chiusura delle bottigliette nel vuoto, calcolata in vista della conservabilità del vaccino e della soluzione protettrice, ha il compito di salvaguardare la vitalità delle brucelle.

**Summary**

The freeze-dried Brucella Abortus Vaccine prepared from "Buck 19" strain, shows important advantages over the liquid vaccine, not only in its method of use but also in its testing technique. As the freeze-dried vaccine is of considerable stability, the number of live Br. abortus can be standardised and maintained for several months. All the necessary tests can be carried out before issuing the vaccine for use.

A reliable method for determining the number of live Br. abortus by the dilution technique is described in detail.

For the evaluation of the stability of the vaccine, an incubator method is introduced and described. From the survival rate of Br. abortus incubated for various periods at 37 °C., one can deduce the stability of the vaccine at room and refrigerator temperatures. This test of stability of seven various commercial vaccines, showed considerable differences. In some vaccines the live Br. abortus diminished to less than 10% after 4 days of incubation at 37 °C., in others about 50% of live Br. abortus were present even after 4 weeks of incubation. Similarly, the number of live organisms in these seven vaccines varied between 2,000 and 70,000 million live organisms, per vaccination dose.

The testing of the vacuum in the containers of the vaccine and diluent are described. The sealing of the containers under vacuum is an important factor in maintaining the stability of the vaccine. The protective diluent is responsible for preventing death of the Br. abortus during the freezing process.

## Literatur

[1] Bosgra, O.: Tijdschr. Diergeneeskd. *76*, 281 (1951). – [2] Bryan, H. S., M. E. Mansfield u. R. Graham: Proc. 57th Ann. Meeting U.S. Livestock Sanitary Assoc. *1953*, 124. – [3] Cotton, W. E., M. Buck u. H. E. Smith: J. Agric. Res. *46*, 219 u. 315 (1933). – [4] Dieselben: J. Amer. Vet. Med. Assoc. *85*, 232 u. 389 (1934). – [5] Frei, W.: Gastvorlesung a. d. Tierärztl. Hochsch. Hannover, 13.6.1947. – [6] Seelemann, M.:

Monh. prakt. Tierheilk. *5*, 247 (1953). – [7] Stableforth, A. W.: Bericht «WHO/FAO Seminar on Zoonoses», Wien, November *1952*, S. 67. – [8] Stableforth, A. W.: Report of Committee on Brucellosis: Proc. 57th Ann. Meeting U. S. Livestock Sanitary Assoc. *1953*, 124. – [9] Weisung des Eidg. Veterinäramtes über die Kontrolle der immunbiolog. Erzeugnisse v. 20.7.1954.

---

# BERICHTE

## Rapport sur le Symposium international de bactériologie alimentaire à l'Institut Pasteur de Lille (10–14 octobre 1954)

présenté et commenté par S. Debrot, Abattoirs de Lausanne, délégué de l'Association vétérinaire pour l'hygiène des viandes

Ce symposium a été *la première réunion internationale* des bactériologistes s'occupant d'hygiène alimentaire. Il a été organisé par la Section XXI de l'Association internationale des Sociétés de Microbiologie, avec le concours du Comité International Permanent de la conserve. Le Comité d'organisation était présidé par M. le professeur Gernez-Rieux, directeur de l'Institut Pasteur de Lille, et le Comité scientifique par M. le professeur Ingram de l'Université de Cambridge; M. le professeur Buttiaux (France) et M. le Dr Mossel (Hollande) fonctionnaient comme secrétaires. Environ 90 bactériologistes et hygiénistes représentaient 14 pays. Ce symposium a été consacré à des échanges de vue, des discussions et mises au point sur *la microbiologie des semi-conserves de viande*, plus particulièrement des *jambons en boîte*. Le texte de tous les travaux (rapports, communications, discussions) est publié dans les annales de l'Institut Pasteur de Lille en un numéro spécial qui a paru en janvier 1955.

Par *semi-conserves de viande* on comprend tous les produits carnés contenus dans un récipient hermétiquement fermé, soumis à un ou plusieurs procédés de conservation, et qui ne peuvent rester inaltérables ou consommables sans précautions spéciales. En effet, ces produits, dont le jambon en boîte est le type, ne peuvent être stérilisés en étant portés à une température élevée qui détruirait leur structure histologique; la pasteurisation à laquelle ils sont soumis est insuffisante à tuer tous les microbes qu'ils renferment. Certains peuvent être pathogènes, d'autres peuvent altérer le contenu de la boîte; ils peuvent se multiplier rapidement si les conditions sont favorables. L'emploi de désinfectants est interdit.

### L'infection microbienne du jambon en boîte

et jusque sur l'assiette du consommateur, a son origine dans l'entretien du porc, les méthodes d'abattage, les manipulations nombreuses de la viande jusqu'à sa mise en boîte, le traitement de la boîte et son entreposage, enfin la façon de débiter le jambon.

La recherche de ces microbes est surtout intéressante et importante lors d'altérations du contenu d'une boîte, dues généralement non à un seul germe, mais à une association microbienne qu'on peut faire entrer dans un groupe spécifique:

a) Microbes du tractus intestinal de l'animal: origine fécale: Coli, Clostridium, Streptocoques. La flore clostridienne peut être variable selon l'alimentation de l'animal. Cette origine fécale a sa source dans l'insalubrité des porcheries, le surmenage des animaux avant l'abattage et le fait que les animaux ne sont pas abattus à jeun, dans la saignée insuffisante ou malpropre, le baignage des porcs à 61–63 degrés, etc.