

*Nachdruck verboten.*

### Untersuchungen über die chemische Natur der den Tuberkelbacillen eigenen Fett- und Wachsarten und über das Phänomen der Säureresistenz.

#### Differentialdiagnose der Tuberkel- und Pseudotuberkelbacillen. Tuberkelbacillengranulationen.

[Aus dem Institut „Oswaldo Cruz“ in Manguinhos, Rio de Janeiro (Direktor: Dr. Oswaldo Gonçalves Cruz).]

Von Dr. A. Fontes, Assistenten des Instituts.

Der Nachweis der den Tuberkelbacillen eigenen Fettstoffe diente lange Zeit dazu, das Phänomen der Säureresistenz zu erklären; man schrieb nämlich den im Bacillenkörper vorhandenen Wachsstoffen die Funktion zu, einerseits das Eindringen des Farbstoffes und somit die Färbung zu erschweren, andererseits den einmal aufgenommenen Farbstoff derartig festzuhalten, daß er den Entfärbungsagentien widersteht, wodurch die charakteristische Ehrliche Reaktion ihre Erklärung finden sollte.

Hammerschlag konstatierte jedoch schon im Jahre 1899, daß im Tuberkelbacillus ein eiweißartiger Stoff existiert, der sich säureresistent zeigt. Neuerdings wiesen Auclair und Paris nach, daß die Säureresistenz ein komplexes Phänomen ist, welches von der partiellen Säureresistenz verschiedener Komponenten des Bacillenkörpers abhängt.

Zur Untersuchung dieser Frage wurden 14,996 g durch Erwärmen sterilisierte und getrocknete Tuberkelbacillen nacheinander im Soxhlet-Apparat durch Xylol, 95-proz. Alkohol, Aether und Chloroform ausgelaugt. Die Bacillen wurden zwischen zwei Glaswollschichten gelegt und die Fettstoffe mit dem nächsten Auflösungsmittel immer erst dann behandelt, wenn die zuletzt benutzten Anteile des vorigen (10 ccm) nach Verdunstung keinen Rückstand mehr hinterließen und der Kampferversuch nach Lightfoot sich negativ zeigte. Die nach jeder Auslaugung gewonnenen Produkte wurden durch Porzellan filtriert und die zurückgebliebenen Bacillen im Mikroskop untersucht. Die Färbung mit Ziehlscher Lösung widerstand in allen Untersuchungen, welche nach der Wirkung eines jeden der angewandten Lösungsmittel vorgenommen wurden, den nachherigen Entfärbungsversuchen mittels Salpetersäure (1:3). Das Aussehen der Bakterien zeigt sich jedoch bei genauerer Untersuchung verändert, indem die Stäbchen feiner und granulierter erscheinen, und zwar so, als ob die im Parasitenkörper vorhandenen Stoffe, welche sich sonst zwischen den mit Ziehl gefärbten Granulierungen befinden, verloren gegangen seien.

Der Xylolauszug. Wird derselbe mit überschüssigem absoluten Alkohol behandelt, so entsteht ein Niederschlag, welcher abfiltriert, getrocknet und gepulvert weißgelblich aussieht und teilweise in Aether, vollkommen in Chloroform sowie anderen bekannten Fettlösungsmitteln löslich ist. Er besteht, mikroskopisch betrachtet, aus kleinen, lichtbrechenden, amorphen Körnchen (Obj. C und E, Zeiss, Ok. 3), färbt sich mit Ziehl und ist säureresistent. Er ist in destilliertem oder

gt ist, daß  
da wir das  
n noch für  
den Ver-  
daß das  
er es wäre  
Optimum  
num fehlt,  
astero-  
Man sehe  
dbuch der  
  
der Mikro-  
[Russisch.]  
ische Mikro-  
XLL. 1905.  
erien, sowie  
Bd. XIX.  
renkeimung  
archführen-  
Centralbl.  
gsvermögen  
Herkunft.  
ischer und  
vermögens  
handlungen  
I. No. 10.  
sphère par  
5. No. 4.  
ed. Woch.  
inant des  
l. f. Bakt.  
ne libre.

alkalisch gemachtem Wasser und Alkohol, und zwar nicht nur kalt, sondern auch bei den betreffenden Siedepunkten, unlöslich. Er verändert sich bei Behandlung mit siedender Salpetersäure (1:3), indem er durch Sudan erkennbare Fettstoffe liefert. Die Verseifung dieser Substanz bewies, daß es sich um Wachs handelte, unter dessen Bestandteilen sich ein von Cholesterin, Isocholesterin und Phytosterin verschiedener Alkohol befindet. Das Destillat des vom Wachs abfiltrierten Xylol-Alkohol-Gemisches wurde in Barytwasser geleitet. Bei der Zersetzung des dort entstandenen Niederschlages durch Schwefelsäure (1:10) resultierten keine freien Fettstoffe (Prüfung nach Lightfood). Im Wasserbad verdampft, erstarrt jenes Produkt beim Abkühlen, indem es eine fettige Substanz von rötlichgelber Farbe liefert, nach etwas verändertem Tuberkulin riecht, dem Geruch von Honig ähnelt und herb schmeckt. Es schmilzt bei  $53,5^{\circ}$  und erstarrt bei  $52^{\circ}$ ; es ist in den gewöhnlichen Fettlösungsmitteln löslich und gibt eine positive Reaktion bei der Prüfung nach Lightfood.

Die soeben näher beschriebene, aus dem Xylolauszug mittelst Alkohol ausfällbare Substanz ist in Aether teilweise, in Chloroform vollkommen löslich; die Aetherlösung hinterläßt beim Einengen einen gelblichweißen Rückstand, der sich als ein Wachs vom Schmelzpunkte  $54,5^{\circ}$  herausstellte, die Chloroformlösung gleichfalls eine wachsähnliche Masse, welche etwas dunkler als die des Aetherrückstandes war, den Schmelzpunkt  $193^{\circ}$ , den Erstarrungspunkt  $191^{\circ}$  zeigte, wegen der geringen Menge jedoch chemisch noch nicht mit genügender Sicherheit charakterisiert werden konnte.

Wenn man das vom Wachs abfiltrierte Xylol-Alkoholgemisch mit Wasser behandelt, wird weiterhin eine Substanz ausgefällt, welche sich in Aether löst und beim Verdampfen des Vehikels in büschelförmig angeordneten, seideartigen Nadeln auskristallisiert. Diese Substanz ist durch alkoholische Natronlauge verseifbar. Wird sie im trockenen Zustande vorsichtig geschmolzen, so erstarrt sie beim Abkühlen zu einer schuppigen, perlmutterfarbenen Masse. Die Art ihrer Kristallisation weist auf Palmitinsäure hin.

Die Studien über die chemischen Eigenschaften der betreffenden Bakterienfette, insbesondere über die heute noch gar nicht beschriebenen Rückstände des Alkohol-, Aether- und Chloroformauszuges, werden weiter fortgesetzt werden, und es soll später darüber berichtet werden.

Wie bereits erwähnt, zeigen sich die nach Ziehl gefärbten Tuberkelbacillen auch nach Einwirkung der Fettlösungsmittel noch gegen Säureentfärbungsmittel resistent. Auf Grund dieser Tatsache, welche auch schon von Auclair und Paris beobachtet worden war, dachte ich an die Möglichkeit einer Differentialfärbungsmethode, welche den Tuberkelbacillus von dem der Pseudotuberkulose unterscheiden sollte, und entschloß mich, diesbezügliche Untersuchungen anzustellen.

In der großen Gruppe der Pseudotuberkelbacillen ist die Säureresistenz auch noch keine absolute und wechselt mit dem Alter der Kultur und dem Ursprung des Erregers.

Es wurden 10 Stämme von Pseudotuberkelbacillen geprüft, und ein jeder wies einen verschiedenen Säureresistenzgrad auf. Es muß daher ein Entfärbungsmittel gefunden werden, welches imstande wäre, unter Schonung der echten Tuberkelbacillen eine sichere Wirkung auf den Bacillus der Pseudotuberkulose auszuüben. Ein anderer Weg wäre vielleicht der, einen elektiven Farbstoff zu finden, der beide Arten von

Fonite

vornhe  
wirkur  
bacille  
am be

B

Entfär  
schen

tives I

kelbac

aber

Zwisch

W

Färbu

mittels

Salzsä

und g

eine P

man l

die Z

säure

Man s

energi

Pikrin

Chlor

E

elektiv

Mischu

zum

blaupi

Eigens

zifisch

und c

darin

rosafa

E

Aceton

noch

zu mo

tuberl

nur n

Teile

irgend

man,

Karbon

grad

prakti

Tuber

lichen

I

macht

Tuber

vornherein deutlich voneinander unterschiede. Während ich die Einwirkung der gewöhnlich angewandten Entfärbungsmittel auf die Tuberkelbacillen untersuchte, erkannte ich, daß sich eine Entfärbungsflüssigkeit am besten dazu eignete, welche aus folgender Mischung besteht:

Absoluter Alkohol 1 Teil  
Essigsäure 2 Teile.

Behandelt man nun das betreffende Präparat, nachdem man das Entfärbungsgemisch erfolgreich hat einwirken lassen, nach der Gramschen Methode, so ergeben die Pseudotuberkelbacillen ein intensiv positives Resultat und weisen große, dichte Granulationen auf. Die Tuberkelbacillen verhalten sich dagegen anders; sie bleiben zwar auch rotgefärbt, aber die nach Gram intensiv gefärbten Granulationen treten durch Zwischenräume von einander getrennt auf.

Wenn man ein Tuberkulose- oder Pseudotuberkulosepräparat nach Färbung mit Ziehlscher Lösung und darauf folgender rascher Entfärbung mittels einer sauren Lösung (Salpetersäure 1:3, Schwefelsäure 1:4, Salzsäurealkohol) mit einer wässrigen Methylenblaulösung behandelt und gleich danach auf die noch mit der Färbung bedeckten Präparate eine Pikrinsäurelösung gießt und eine Zeitlang einwirken läßt, so sieht man bei nachheriger mikroskopischer Betrachtung des Präparates, daß die Ziehlsche Färbung schwächer ist, als vor Einwirkung der Pikrinsäure und daß einzelne Pseudotuberkelbacillen sich violett gefärbt haben. Man sieht, daß die Entfärbung nach der Einwirkung der Pikrinsäure energischer gewesen ist. Vielleicht spielt bei dieser Reaktion neben der Pikrinsäure auch der aus dem Methylenblaulchlorhydrat frei werdende Chlorwasserstoff eine gewisse Rolle.

Es lag nahe, festzustellen, ob das Methylenblaupikrat als solches elektive Eigenschaften für die Pseudotuberkelbacillen besäße. Eine Mischung der Ziehlschen Farbflüssigkeit mit dem in Glycerinwasser zum Teil gelösten, zum Teil in Schwebefällung befindlichen Methylenblaupikrat warm angewendet, hat nun tatsächlich die bemerkenswerte Eigenschaft, die säurefesten Tuberkel- oder Pseudotuberkelbacillen spezifisch rot zu färben, während der Kern der Zellen des geprüften Materials und die anderen Bakterien, welche eventuell, wie z. B. beim Sputum, darin vorkommen, sich violett färben. Das Protoplasma der Zellen bleibt rosafarbig.

Die Differenzierung wird allerdings erst durch Behandlung mit Acetonalkohol erzielt. Legt man vor der Acetoneinwirkung das Präparat noch in Lugolsche Lösung, so scheinen sich die Färbungsverhältnisse zu modifizieren, denn ich erhielt hiermit bei einigen Stämmen von Pseudotuberkelbacillen eine totale Entfärbung. Nach dieser Behandlung weisen nur noch die Tuberkelbacillen violette Granulationen auf; die übrigen Teile des Präparates entfärben sich und lassen sich dann leicht mit irgendeiner Kontrastfarbe tingieren. Weit bessere Resultate erlangt man, wenn man anstatt der Methylenblaupikrate Kristallviolett oder Karbol-Gentianviolett anwendet, weil diese Farben einen höheren Elektivgrad für die tuberkulösen Granulationen besitzen. Diese Methode ist praktisch und für die Differentialdiagnose verwendbar, denn die echten Tuberkelbacillen, welche ihr unterzogen wurden, behalten den ursprünglichen Farbton vollkommen, wie energisch auch die Säuren seien.

Der Acetonalkohol, welcher als Entfärbungsmittel gebraucht wird, macht die Pseudotuberkelbacillen vom Fuchsin frei, während die echten Tuberkelbacillen sich durchaus nicht verändern und sich rot gefärbt zeigen.

Die violetten Granulationen heben sich von dem rotgefärbten Bakterienleib und den im Methylenblauton gefärbten übrigen Präparatenteilen sehr kontrastisch ab.

Ich schlage daher als eine zur mikroskopischen Unterscheidung der echten von den unechten Tuberkelbacillen vorzüglich geeignete Methode folgende vor:

- a) Präparat mit Ziehlschem Karbolfuchsin (gewöhnliche Methode) färben,
- b) in Leitungswasser waschen,
- c) ca. 2 Minuten mit Karbolkristallviolett färben,
- d) Behandlung mit Lugol, bis sich kein Metallspiegel mehr bildet, Behandlung mit Acetonalkohol (gleiche Teile Aceton und Alkohol),
- e) in Leitungswasser waschen,
- f) mit Methylenblaulösung färben.

Die in a und c gebrauchten Lösungen können auch zur gleichen Zeit in gleichen Teilen angewandt werden, doch wird der Kontrast weniger ausgesprochen.

Bei den so behandelten Präparaten sind die Tuberkelbacillen rot gefärbt und enthalten im Innern stark violett gefärbte, durch Zwischenräume getrennte Granulationen. Die Pseudotuberkelbacillen erscheinen violett gefärbt, ohne roten Saum und weisen dichtere Granulationen auf.

Die Assoziationsmikroben (Streptokokken, Staphylokokken etc.) sind grampositiv, die anderen Bakterien und alles andere zeigt sich im Tone der Kontrastfarbe (Methylenblau).

Es ist bemerkenswert, daß die in Tuberkelbacillen vorhandenen Granulationen die charakteristische Fähigkeit besitzen, stark grampositiv zu sein.

Wenn man in der Wärme mit Ziehlscher Lösung und Kristallviolett färbt und das Präparat darauf nach Gram, selbst längere Zeit, behandelt, so zeigen sich diese Granulationen stark violett tingiert.

Färbt man in umgekehrter Reihenfolge, so fällt das Resultat ähnlich aus; die Granulationen erscheinen violett und der übrige Bacillus rot. Dieses zweite Verfahren gibt aber kein so deutliches Bild, wie das erste. Ebenso verhält es sich, wenn man die Farbstoffe vereint zur Anwendung bringt und das Präparat dann in der vorhin erwähnten Weise weiter behandelt.

Läßt man auf nach Ziehl gefärbte Präparate Kristallviolett nur ganz kurze Zeit einwirken, dann nehmen nicht alle Granulationen den Farbstoff an; man sieht sie dann vielmehr im rot gefärbten Bacillenkörper als nicht gefärbte, lichtbrechende Punkte. Daraus muß man schließen, daß diese Granulationen größere Elektivität für Kristallviolett als für Fuchsin besitzen und daß es sich nicht etwa um eine Auflagerung von Farben handelt, als vielmehr um das Verdrängen des einen Farbstoffes durch den anderen. Eine andere Deutung müssen auch die minder gefärbten Stellen erhalten, die man nur bei mit Ziehl gefärbten Tuberkelbacillen beobachtet und die früher von einigen Autoren als Sporen, von anderen als Vakuolen angesehen wurden.

In den homogenen Tuberkelbacillenkulturen, in denen sich die Biologie der Parasiten kraft der ihnen aufgezwungenen Anpassung an ein neues Lebensverhältnis ändert, kann man die Granulationen sehr genau studieren, besonders in ihren Aktinomykoseformen.

Die Granulationen erscheinen hier (Ok. Kompens. 12 Zeiss) als Körnchen, die in einem genau begrenzten, mit deutlichen Konturen versehenen Raum eingeschlossen sind.

Ma  
als soll  
Aussehe  
und sich  
körper  
Die  
Stäbchen  
Monat  
Granula  
Stäbchen  
je eine  
teilen si  
gekrüm  
Au  
manchun  
In  
ändert  
kleiner.  
kavernö  
schied  
Phthisis  
haupt ko  
die Gran  
Tuberkel  
tuberkel  
Ich  
wenn a  
zum  
welche

F  
[A

10  
S  
10  
10  
10

Manchmal bilden sie eine Protuberanz an der Peripherie der Bacillen, als sollten sie ausgestoßen werden; der Bacillenkörper hat ein dickeres Aussehen und die Substanz, welche das Körnchen unmittelbar umgibt und sich rot färbt, erscheint dünner; zwischen letzteren und dem Bacillenkörper befindet sich ein heller Raum.

Die Zahl dieser Granulationen schwankt zwischen 1 und 6 in jedem Stäbchen; selten kommt es auf 8 oder 10, was ich nur an über einen Monat alten, homogenen Kulturen beobachtete. Ist nur eine einzige Granulation vorhanden, dann nimmt sie gewöhnlich den Mittelpunkt des Stäbchens, oder einen der Pole ein; sind zwei da, so befindet sich meistens je eine an den Enden des Bacillenkörpers; in den anderen Fällen verteilen sie sich, je nach der Form des Erregers, eine mehr oder weniger gekrümmte Reihe bildend.

Auch in den Bacillen älterer Kulturen liegen die Granulationen manchmal in kettenförmiger Anordnung, andere Male isoliert.

In den frischen Kartoffelkulturen virulenter Tuberkelbacillen verändert sich das Aussehen dieser Granulationen; sie erscheinen hier weit kleiner. Dasselbe beobachtet man, wenn man das Sputum von nicht kavernösen mit dem von kavernösen Individuen vergleicht. Dieser Unterschied ist namentlich beim Sputum mit Tuberkulin lange Zeit behandelter Phthisiker ein beträchtlicher. Bei diesen findet man sogar bisweilen überhaupt keine mit Ziehl noch deutlich färbbaren Bacillen mehr, während die Granulationen selten fehlen und durch Meerschweincheninokulation Tuberkulose nachweisbar ist. Ebenso verhält es sich mit dem Eiter bei tuberkulösen Abszessen.

Ich glaube, hieraus schließen zu müssen, daß die granuläre Form, wenn auch vielleicht nicht eine charakteristische Resistenzform, so doch zum mindesten eine Form von der größten Widerstandsfähigkeit ist, welche der Tuberkelbacillus annehmen kann.

*Nachdruck verboten.*

## Experimentelle Untersuchungen über Trypanosomen.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten. Leiter Medizinalrat Prof. Dr. Nocht.]

Von

**Dr. R. Gonder und Dr. H. Sieber,**  
Assistenten am Institut.

Mit 1 Tafel.

Im Bd. XLV. 1907. p. 512—515 dieser Zeitschrift berichtet Fellmer<sup>1)</sup> über Veränderungen an Naganatrypanosomen durch Igelpassage. Seine Resultate erschienen uns wichtig genug, um weitere Experimente in dieser Richtung, besonders an anderen Trypanosomenarten, anzustellen. Sollten nämlich Trypanosomen durch Igelpassage an Virulenz immer mehr verlieren, wie Fellmers Untersuchungen ergeben haben, so liegt es nahe, mit diesen an Virulenz stark abgeschwächten Trypanosomen Tiere gegen Trypanosomenkrankheiten eventuell immunisieren zu können.

1) Fellmer, T., Veränderungen an Naganatrypanosomen durch Igelpassage. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. Heft 6.)



Versuche, die wir anfangs mit *Trypanosoma equiperdum*, dem Erreger der Dourine (Beschälseuche), anstellten, führten zu ganz anderen Resultaten, so daß wir sogleich Veranlassung nahmen, die Fellmerschen Experimente mit Naganatrypanosomen (*Tryp. Brucei*) zu wiederholen.

Fellmer faßt seine Ergebnisse kurz dahin zusammen:

- 1) Igel sind sehr empfindlich gegen Naganatrypanosomen,
- 2) im Igel verändern sich die Naganatrypanosomen in bezug auf die Form und in bezug auf die Virulenz,
- 3) die abgeschwächte Virulenz läßt sich durch nachfolgende Rattenpassage nicht wieder erhöhen, sondern sie nimmt stetig ab,
- 4) gegen Naganatrypanosomen, die eine Igelpassage durchgemacht haben, scheinen Meerschweinchen refraktär zu sein,
- 5) die Trypanosomen des Mal de Caderas behalten trotz Igelpassage ihre Virulenz für Meerschweinchen,
- 6) Immunisierungsversuche mit den abgeschwächten Trypanosomen fielen bisher negativ aus.

Diese Ergebnisse wurden bereits benutzt, die große Anpassungsfähigkeit der Trypanosomen an ihre Umgebung neben anderen Ursachen mit zu erklären. So z. B. folgerte Schilling, daß Virulenzunterschiede bei verschiedenen Trypanosomenarten in der freien Natur womöglich dadurch zustande kommen, daß durch Fliegenstiche die Trypanosomen auf Tiere übertragen werden könnten, die eben die Virulenz der Trypanosomen in verschiedenem Grade beeinflussen<sup>1)</sup>. Czaplewski<sup>2)</sup> mißt Fellmers Untersuchungen weniger Bedeutung zu, da eine spontane Erkrankung der Igel mit Originaligeltrypanosomen störend mitgespielt haben könnte, zumal Fellmer die Passagetrypanosomen des Igels als verändert und als viel größer beschrieben habe.

Wir machten zunächst einen Versuch mit Dourinetrypanosomen (*Tryp. equiperdum*). Einem mit diesen Trypanosomen infizierten Pferde wurde Blut entnommen, einem Igel subkutan eingespritzt. Die Blutmengen wurden derart gemessen, daß stets 2 dicke Blutropfen mit 1—2 cm physiologischer Kochsalzlösung gemischt und subkutan injiziert wurden. Ueberimpft wurde an dem Tage, an welchem sich die ersten Trypanosomen im Blute zeigten.

Versuche I. Dourine.  
Igel 1, am 4. Tage tot

Igel 2 am 6. Tage tot	Ratte 1 am 6. Tage tot
Igel 3 „ 6. „ „	Ratte 2 „ 6. „ „
Igel 4 „ 5. „ „	Ratte 3 „ 3. „ getötet
Igel 5 „ 5. „ „	Ratte 4 „ 8. „ tot
	Ratte 5 „ 5. „ „

Nach diesem Ergebnis wollten wir nicht weitere Igel opfern. Die Virulenz der Trypanosomen hatte mit Ausnahme eines Falles (Ratte 4)

1) Schilling, Die neueren Fortschritte auf dem Gebiete der pathogenen Protozoen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XLII. Beilage. Originalbericht d. Sitz. d. Freien Vereinigung f. Mikrobiologie. 1908.)

2) Czaplewski, Diskussionsbemerkung. (Ebenda. p. 103.)

zugen  
3. Ta  
suchu  
die er  
Versu  
schwe  
zehrte  
diesen  
Erreg  
vorher  
oder :  
Zecker  
A  
zwei z  
lösung  
wurde  
Bei di  
anördr  
den ei  
dann 1

Igel 2  
Ratte 2a  
Ratte 3a

Au  
Es fiel  
daß di

Igel 4  
Ratte 4a  
Ratte 4b  
Ratte 4c  
Ratte 4d  
Ratte 4e

zugenommen. Bei dem 1. Igel fanden sich die Trypanosomen schon am 3. Tage, beim Igel 4 bereits am 2. Die mikroskopischen Blutuntersuchungen der Ratten ergaben ähnliches. Im Blute der Ratten wurden die ersten Trypanosomen meist schon am 2. Tage vorgefunden. — Ein Versuch, einen Igel durch Verfüttern einer mit *Tryp. equiperdum* schwer infizierten Ratte zu infizieren, fiel negativ aus. Der Igel verzehrte die Ratte zwar vollkommen, infizierte sich dabei aber nicht. Nach diesem negativen Resultat versuchten wir es mit *Tryp. Brucei*, dem Erreger der Nagana. Alle Igel, mit welchen wir experimentierten, wurden vorher auf Blutparasiten untersucht. Wir fanden niemals Trypanosomen oder andere Parasiten im Blute der Igel, welche sehr häufig stark mit Zecken, *Ixodes erinacei*, behaftet waren.

Auch bei allen diesen Tsetseversuchen machten wir es so, daß wir zwei ziemlich dicke Blutstropfen mit 1—2 cem physiologischer Kochsalzlösung mischten und subkutan injizierten. Das Blut zur Ueberimpfung wurde dann entnommen, wenn sich die ersten Trypanosomen zeigten. Bei diesen Experimenten haben wir anfangs die Fellmersche Versuchsanordnung etwas modifiziert, insofern wir von Igel auf Igel, und von den einzelnen Igeln auf Ratten überimpften. Von den Ratten aus wurden dann Rattenpassagen angestellt.

Versuch II. Tsetse.

Igel 1, am 3. Tage die ersten Trypanosomen im Blute, am 9. Tage tot

	die ersten Trypanosomen im Blute, am 7. Tage	tot am 11. Tage		die ersten Trypanosomen im Blute, am 3. Tage	tot am 8. Tage
Igel 2			Ratte 1a		
Ratte 2a	„ 4. „	„ 7. „	Ratte 1b	„ 3. „	„ 5. „
Ratte 3a	„ 6. „	„ 9. „	Ratte 1c	„ 2. „	„ 6. „
			Ratte 1d	„ 3. „	„ 6. „
			Ratte 1e	„ 6. „	„ 12. „

Aus diesem Versuch konnten sichere Schlüsse nicht gezogen werden. Es fiel uns nur auf, daß Igel 2 erst am 11. Tag der Krankheit erlag und daß die Ratten 3a und 1e am 9. bzw. 12. Tage zugrunde giengen. —

Versuch III. Tsetse.

Igel 2, am 7. Tage die ersten Trypanosomen im Blute, am 11. Tage tot

Igel 3, am 4. Tage die ersten Trypanosomen im Blute, am 7. Tage tot

	die ersten Trypanosomen im Blute, am 6. Tage	tot am 8. Tage		die ersten Trypanosomen im Blute, am 5. Tage	tot am 7. Tage
Igel 4			Ratte 3a		
Ratte 4a	„ 3. „	„ 6. „	Ratte 3b	„ 3. „	„ 3. „
Ratte 4b	„ 3. „	„ 6. „	Ratte 3c	„ 3. „	„ 5. „
Ratte 4c	„ 4. „	„ 7. „	Ratte 3d	„ 3. „	„ 3. „
Ratte 4d	„ 3. „	„ 3. „	Ratte 3e	„ 2. „	„ 7. „
Ratte 4e	„ 2. „	„ 3. „			

In den einzelnen Trypanosomenstämmen verhalten sich die Ratten häufig sehr verschieden, es kommt hin und wieder einmal vor, daß eine infizierte Ratte die doppelte Zeit am Leben bleibt, als es gewöhnlich der Fall ist. Wir wiederholten demnach den Versuch, infizierten von Igel 2 auf einen weiteren Igel 3, der schon am 7. Tage starb. Von Igel 3 wurde weiter infiziert auf eine Ratte und auf einen anderen Igel (s. Versuch III).

Aus diesen Versuchen geht deutlich hervor, daß die Igelpassage die Virulenz der Naganatrypanosomen in keiner Weise abzuschwächen vermag. Fast scheint es umgekehrt, im Blute der beiden Rattenpassagen fanden sich die Trypanosomen schon am 2. und 3. Tage vor.

Eben das gleiche Resultat wurde beim folgenden Experiment erzielt. Von dem Igel 4 wurde auf einen neuen Igel 5 übergeimpft, der schon am 6. Tage der Krankheit erlag. In der Rattenpassage kam es allerdings zu einem Ausnahmefall, insofern die Ratte 5b erst am 14. Tage zugrunde ging, ein Umstand, der in keiner Weise als sonderlich bezeichnet werden darf, da bei Haltung von Trypanosomenstämmen, wie schon gesagt, einige gegen Trypanosomen resistendere Tiere vorkommen.

## Versuch IV. Tsetse.

Igel 4								
	Igel 5	am 4. Tage die ersten Trypanosomen im Blute,	am 6. Tage tot					
	Ratte 5a	„ 3. „ „ „	„ „ „ „	5. „ „				
	Ratte 5b	„ 8. „ „ „	„ „ „ „	14. „ „				
	Ratte 5c	„ 3. „ „ „	„ „ „ „	7. „ „				
	Ratte 5d	„ 2. „ „ „	„ „ „ „	6. „ „				

Auch die Fellmersche Versuchsordnung führte zu keinen anderen Resultaten. Fellmer infizierte Igel, von denen Ratten infiziert wurden. Nach einer einzigen Igelpassage, in welcher die Virulenz der Trypanosomen ganz bedeutend abnahm und bei weiteren Uebertragungen auf Ratten immer mehr abnahm, wurde von der letzten Ratte der Rattenpassage wieder auf einen Igel geimpft. Von diesem Igel wurden dann neue Rattenpassagen gemacht.

## Versuch V. Tsetse.

Ratte 5d.

Igel 6, am 4. Tage die ersten Trypanosomen im Blute  
am 6. Tage tot

Ratte 6a, am 4. Tage die ersten Trypanosomen im Blute, am 7. Tage tot

Meerschweinchen, am 43. Tage die ersten Trypanosomen im Blute, am 54. Tage tot

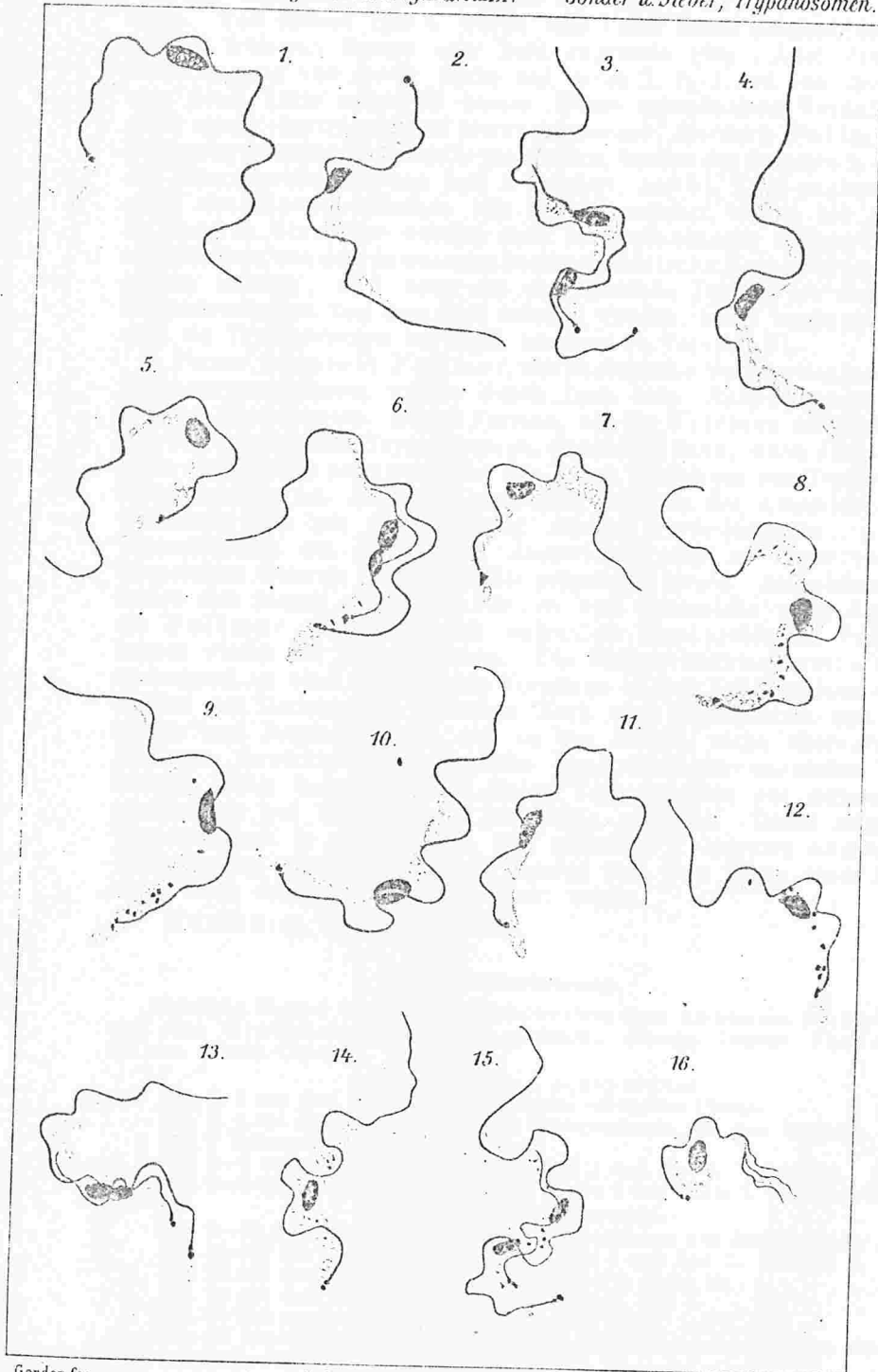
Ratte, am 32. Tage infiziert, am 6. Tage die ersten Trypanosomen im Blute, am 10. Tage tot

Igel 7, am 7. Tage die ersten Tryp. im Blute, am 9. Tage tot

Ratte 7a, am 3. Tage die ersten Tryp. im Blute, am 4. Tage tot

Meerschweinchen, am 27. Tage die ersten Tryp. im Blute, am 33. Tage tot  
Ratte, am 21. Tage infiziert, am 6. Tage die ersten Tryp. im Blute, am 8. Tage tot





Gondier fec.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

Lith. Anst. Johannes Arndt, Jena.

Gondier

Wir infizierten die Ratte, wie die frühere Arbeit zeigt, durch Uebertragung einer neuen Rasse. Auch eine Uebertragung von Naganatrypanum auf das Meerschweinchen starb das Meerschweinchen. Zu unseren Versuchen mit Meerschweinchen, die von einem Meerschweinchen infiziert wurden, dem sie Trypanosomen übertrugen.

Ferner beobachteten wir, dass Naganatrypanum bei den Meerschweinchen, die wir bei den Experimenten dem Exsufflationen überschwemmt vorsichtig sein müssen. Die Trypanosomenkörperchen finden sich immer in der sie Fellmer immer wieder andauernd, es sind Tiere, welche mit Befragungen und Reaktionen bewiesen Passagen bewiesen können. Wir untersuchen die Reihen auf Trypanosomen. Eine Veränderung, eine Ratte oder eine Ratte.

Hamburg

Sämtliche Figuren sind von einem Winkel von 1,8 mm. Komp. O.

Fig. 1, 2 aus  
Fig. 3, 4 aus  
Fig. 3 Teilung  
Fig. 5-6 aus  
Fig. 7-8 aus

Fig. 9-10 aus  
Fig. 11-12 aus  
Fig. 13 aus de  
Fig. 14 aus de  
Fig. 15 Teilung  
Fig. 16 Macer

stark infizierten Ratte

Wir infizierten von Ratte 5d. den Igel 6, der schon am 6. Tage starb. Von diesem Igel 6 wurde dann eine Ratte infiziert, die ebenso wie die früheren Ratten sehr bald zugrunde ging. Auch die weitere Uebertragung von dieser Ratte auf einen 7. Igel und von diesem auf eine neue Ratte zeigte in keiner Weise irgendwelche Veränderungen. Auch eine Uebertragung auf Meerschweinchen, die nach Fellmer gegen Naganatrypanosomen refraktär sein sollen, bewies das Gegenteil. Während das Meerschweinchen von Igel 6 infiziert, am 54. Tage zugrunde ging, starb das Meerschweinchen von Igel 7 infiziert, schon am 33. Tage. Zu unseren Versuchen wurden stets Kontrollversuche angestellt. Meerschweinchen, von dem in unserem Institut gehaltenen Naganatrypanosomenstamm infiziert, und zwar an den gleichen Tagen, an welchen die Meerschweinchen von dem Igel infiziert wurden, leben heute noch, trotzdem sie Trypanosomen im Blute besitzen (s. Versuch V).

Ferner beschreibt Fellmer morphologische Veränderungen an den Naganatrypanosomen, welche durch Igel- resp. Rattenpassage hervorgerufen worden seien. Derlei Formen, wie sie Fellmer abbildet, finden wir bei den meisten Trypanosomen, besonders dann, wenn die infizierten Tiere dem Exitus nahe sind und der ganze Tierkörper von Trypanosomen überschwemmt ist. Auch muß man beim Studium der Ausstrichpräparate vorsichtig sein mit der Deutung solcher Veränderungen, wenn die Trypanosomen am Rande des Ausstriches oder an einer von Blutkörperchen freieren Stelle des Blutpräparates liegen. An solchen Stellen finden sich immer macerierte Formen und ebensolche vergrößerte, wie sie Fellmer abbildet. Auch aufgelöste Blepharoblasten finden sich immer wieder bei Trypanosomen. Die Kernverhältnisse verändern sich andauernd, es sind komplizierte Vorgänge in dem Zellorganismus selbst, welche mit Beziehungen zwischen Kern und Protoplasma und Reduktionen und Regenerationen etc. zu tun haben, nicht aber als durch Passagen bewirkte morphologische Veränderungen angesehen werden können. Wir haben deshalb einige Trypanosomen aus unseren Versuchsreihen auf Tafel X zur Abbildung gebracht. Dabei zeigten die Trypanosomen in gut fixierten und gefärbten Präparaten absolut keine Veränderung, einerlei, ob das Präparat von dem Blute eines Pferdes, einer Ratte oder eines Igels gemacht wurde.

Hamburg, Dezember 1908.

#### Tafelerklärung.

Sämtliche Figuren wurden unter Zuhilfenahme eines Abbeschen Zeichenapparates und eines Winkelschen Mikroskops gezeichnet. Homog. Immers. Fluoric.-System 1,8 mm. Komp.-Okul. 7.

#### Fig. 1—8, *Tryp. equiperdum*:

- Fig. 1, 2 aus dem Blute eines an Dourine erkrankten Pferdes.
- Fig. 3, 4 aus dem Blute einer Ratte (Dourinestamm aus dem Institut).
- Fig. 3 Teilungsform.
- Fig. 5—6 aus dem Blute eines Igels. Igel 1 und Igel 5. Versuch 1.
- Fig. 7—8 aus dem Blute einer Ratte. Ratte 1 und Ratte 5. Versuch 1.

#### Fig. 9—16, *Tryp. brucei*:

- Fig. 9—10 aus dem Blute einer Ratte. Tsetsestamm aus dem Institute.
- Fig. 11—12 aus dem Blute eines Igels. Igel 1 und Igel 2. Versuch 2.
- Fig. 13 aus dem Blute einer Ratte. Versuch 1, Ratte 1b.
- Fig. 14 aus dem Blute eines Igels. Versuch 3, Igel 4.
- Fig. 15 Teilungsformen aus dem Blute eines Igels. Igel 7.
- Fig. 16 Macerationspräparat vom Rande eines Ausstriches aus dem Blute einer stark infizierten Ratte.