[Aus dem Hygien. Institut der Kgl. Tierärztl. Hochschule zu Berlin.]
(Direktor: Geh. Medizinalrat Prof. Dr. P. Frosch.)
(Abteilungsvorsteher: Dr. P. Knuth.)

Chemotherapeutische Versuche bei experimenteller Trypanosomiasis der Rinder.

Von

Dr. **Karl Anton Breisinger**, Tierarzt,
ehem. wissenschaftlichem Hilfsarbeiter der Tropenabteilung des Instituts.

(Hierzu Taf. II.)

I. Einleitung.

In der Abteilung für Tropenhygiene des Hygienischen Institutes der Königl. Tierärztlichen Hochschule zu Berlin sind mit den Mitteln der Deutschen Kolonialgesellschaft (Wohlfahrtslotterie) und unterstützt vom Preußischen Landwirtschaftsministerium vom Oktober 1909 bis Oktober 1910 chemotherapeutische Versuche bei experimenteller Nagana (Tsetsekrankheit) der Rinder von Knuth und Rauchbaar unternommen worden.

Durch Hrn. Abteilungsvorsteher Dr. P. Knuth wurde mir die Fortsetzung der Versuche unter seiner Leitung übertragen. Es sollte weiterhin festgestellt werden: 1. ob bestimmte chemische Mittel bei einer einmaligen Injektion die Blutbahn der Versuchstiere von Trypanosomen augenblicklich zu befreien und möglichst dauernd frei zu erhalten vermögen, 2. wie die zu diesem Zweck erforderlichen Dosen (Dosis efficax) von den Versuchstieren vertragen werden.

Die Arbeiten wurden im genannten Institut vom Dezember 1910 bis Juni 1911 ausgeführt. Als Versuchstiere dienten die aus den vorjährigen Versuchen übriggebliebenen Rinder Nr. 1, 2, 3, 4 und 6; ferner noch ein später angekauftes Rind Nr. 10. Alle diese Tiere waren viele Monate

hindurch ohne weitere künstliche Naganainfektion, bzw. therapeutische Behandlung geblieben. Während dieser Zeit waren sie auch immer gesund. Die Körpertemperatur der Tiere bewegte sich, abgesehen von einigen schnell vorübergehenden Steigerungen bei einzelnen infolge Tuberkulose-schutzimpfung, stets in physiologischen Grenzen.

Sämtliche Versuchsrinder wurden künstlich mit Naganatrypanosomen aus der Maus oder dem Rinde infiziert. Der zur Infektion benutzte, ursprünglich aus dem Institut von Exzellenz P. Ehrlich herrührende Naganastamm „Ferox“ ist dem Institut durch Hrn. Prof. Dr. Cl. Schilling vom Institut für Infektionskrankheiten in Berlin gütigst zur Verfügung gestellt worden. Die Virulenz dieses Stammes für Mäuse war derart, daß diese gewöhnlich in 3 bis 5 Tagen starben. Für Rinder war der Stamm, wie sich schon bei den Versuchen von Knuth und Rauchbaer gezeigt hatte, sehr wenig pathogen. Durch Rinderpassage wäre es vielleicht möglich gewesen, seine Virulenz zu steigern, jedoch standen hierzu nicht genügend Tiere zur Verfügung.

Für Heilversuche wurde Rind 1, 2, 4, 6 und 10, als Kontrolltier Rind 3 bestimmt. Rind 1 wurde mit Arsenophenylglyzin und Brechweinstein behandelt. Da für unsere weiteren Versuche Exzellenz P. Ehrlich eine größere Menge Salvarsan und ein neues Farbstoffpräparat „Trypaflavin B“ in liebenswürdigster Weise zur Verfügung stellte, wurden in der Folge Rind 2 und 4 mit Salvarsan, Rind 10 mit Trypaflavin B behandelt.

Ich möchte nicht verfehlen, auch an dieser Stelle Exzellenz P. Ehrlich für sein gütiges Entgegenkommen meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Vorprüfung sämtlicher Versuchstiere auf das Vorhandensein von durch Züchtung in Blutbouillon oder durch Tierversuch nachweisbaren Trypanosomen.

Um festzustellen, ob sich nicht etwa schon vor der künstlichen Infektion in einem der Versuchsrinder kulturell, d. h. in Blutbouillonkulturen, oder durch Tierversuch Trypanosomen nachweisen lassen, wurde am 24. und 29. Dezember 1910 von allen 6 Tieren aus der Jugularvene eine Blutprobe entnommen. Diese wurde in sterilen, einige Glasperlen enthaltenden Schüttelflaschen aufgefangen und defibriniert. Von jeder Blutprobe wurden hierauf sofort je 6 Rinderbouillonröhrchen beschickt, sowie je 3 Mäuse subkutan mit 1 bis 2^{ccm} Blut geimpft. Die Blutbouillonröhrchen wurden dann nach der bereits von Miyajima, Martini u. a.

angegebenen und im hiesigen Institut zum Nachweis der Blutflagellaten als zweckmäßig befundenen Methode bei Zimmertemperatur im dunkeln Schrank aufgestellt und vom 4. oder 5. Tage an etwa 4 Wochen lang täglich geprüft. Desgleichen wurden die Mäuse vom 4. oder 5. Tage nach der Impfung an, bzw. nach Eintritt des Todes auf Trypanosomen untersucht. Diese Vorprüfung wurde im übrigen unmittelbar vor jeder neuen Infektion der Rinder in derselben Weise wiederholt. Die Mäuse wurden jedoch später häufiger mit Blutzentrifugat geimpft, um durch Anreicherung der Trypanosomen die Resultate noch sicherer zu gestalten. Die genügende Verdünnung des Zentrifugates, die für das schnellere Angehen der Infektion nicht ohne Bedeutung ist, wurde durch sterile, physiologische Kochsalzlösung bewirkt.

Durch Züchtung in Blutbouillon lassen sich beim Rinde anscheinend nur die von Miyajima zuerst beschriebenen Flagellaten nachweisen, da die mit dem Blut etwa übertragenen Naganaparasiten innerhalb 4 bis 5 Tagen in den Blutbouillonkulturen zugrunde gehen. Hierauf hat schon Knuth (1) auf dem Deutschen Kolonialkongreß 1910 hingewiesen; auch meine eigenen Prüfungen der vor der therapeutischen Behandlung mit naganaparasitenhaltigem Rinderblut angelegten Blutbouillonröhrchen fielen immer negativ aus. In vorher negativen Rinderblutbouillonröhrchen, die ich mit reichlich naganatrypanosomenhaltigem Mäuseblut infiziert hatte, konnte ich die Naganatrypanosomen nur noch selten am 2. Tage nachweisen. Bei Überimpfung von 1·5^{cem} Kulturflüssigkeit aus der Grenzschicht zwischen Bouillon und roten Blutkörperchen von vier solchen 3 Tage zuvor angelegten Kulturen auf eine Maus ließ sich ebenfalls keine Infektion erzielen. Da nun aber die Infektion von Mäusen durch naganaparasitenhaltiges Blut bekanntlich leicht gelingt, dürfte sonach einerseits die Kultur- und andererseits die Mäuseprüfung eine Trennung der beiden Trypanosomenarten ermöglichen. Eine Vermischung oder Verwechslung der Naganaparasiten mit deutschen Trypanosomen ist in den später näher zu beschreibenden Versuchen nicht bloß auf Grund der negativ verlaufenen Kulturprüfungen mit Blut der Versuchstiere, sondern auch deshalb ziemlich sicher auszuschließen, weil, wie anderweitige Untersuchungen in der Tropenabteilung des Institutes ergaben, bei den übrigen, im selben Stalle aufgestellten Rindern während der Wintermonate auf kulturellem Wege Flagellaten überhaupt nicht nachgewiesen werden konnten.

II. Chemotherapeutische Versuche.

1. Literatur.

Aus den teilweise sehr umfangreichen Literaturangaben über chemotherapeutische Versuche bei natürlicher, bzw. experimenteller Trypanosomiasis des Menschen und großer Tiere gebe ich zur Orientierung über die bisher erzielten Resultate einen zusammenfassenden Überblick.

Die Ansichten über den therapeutischen Wert des Arsenophenylglyzins (Ehrlich) gehen weit auseinander. Gute Erfolge sind mit der Arsenophenylglyzinbehandlung bei der Schlafkrankheit des Menschen in Nyasaland von Schilling (2) beobachtet worden. Weniger befriedigende Heilergebnisse hatten Martin und Ringenbach (3), Hodges (4) in Uganda, sowie Broden (5) im Kongostaat. Die ungünstigen Ergebnisse der Heilversuche bei der Schlafkrankheit in Ostafrika, über die Eckard (6), Ullrich (7), Scherschmidt (8) und Wittrock (9) einerseits berichten und die befriedigenden Erfolge Zupitzas und v. Ravens (10) in Togo andererseits stehen in einem auffallenden Widerspruch zueinander. Auch sind in den Berichten aus Ostafrika und dem Kongostaat ganz übereinstimmend die örtlichen und allgemeinen Reizerscheinungen (Schmerzen) nach der Injektion des Arsenophenylglyzins, sowie dessen giftige Wirkung bei den Eingeborenen betont. Da in Ostafrika die Dosis und Art der Anwendung des Arsenophenylglyzins (einmalige große Doppelinjektion) sehr häufig dieselben waren wie in Togo, so glaubt v. Raven, daß in Togo der Fall für die Behandlung der Schlafkrankheit günstiger lag (Causus faustus nach Ehrlich). Ehrlich (33) führt die Mißerfolge in Ostafrika auf die von Natur aus sehr verschiedene Widerstandsfähigkeit derselben Trypanosomenart gegen Arsenikalien zurück. v. Raven hält wie Ehrlich zur Erzielung von Heilresultaten mit der Arsenophenylglyzinbehandlung bei der Schlafkrankheit die Auswahl frischer Krankheitsfälle und die intravenöse Anwendung hoher einmaliger Dosen, bzw. einer Doppelinjektion für erforderlich. Wenn diese nicht genügen, soll nach Ehrlich die Kombinationstherapie mit möglichst drei verschiedenen Heilmitteln angewandt werden, damit die Parasiten auf verschiedenen Wegen angegriffen würden. Die fortgesetzte Behandlung mit kleineren Dosen war unwirksam und erzeugte bald Überempfindlichkeit, sowie — ohne Rücksicht auf die Größe der Dosis — Vergiftungserscheinungen. Die gleichen Folgen scheint bei der Arsenophenylglyzinbehandlung großer Tiere die fortgesetzte Anwendung kleiner Dosen zu haben [Schilling und Jaffé (11 u. 12)]. Ebenso beruht auch bei großen Tieren der Heilerfolg gewöhnlich auf der Anwendung der Dosis maxima tolerata, die allerdings der Dosis letalis vielfach sehr nahe kommt [Strong und Teague (13)]. Wie Ehrlich

und andere Autoren betonen auch Breinl und Nierenstein (14), daß proportional mit der Körpergewichtszunahme die Schwierigkeit einer erfolgreichen Behandlung wächst, so daß öfter der letalen Dosis ganz nahe kommende Arsenophenylglyzinmengen unwirksam bleiben. Die Erfolge von Breinl und Nierenstein stehen weit zurück gegen die von Strong und Teague bei surrahkranken Pferden erzielten. Immerhin sprechen diese Autoren (14) dem Arsenophenylglyzin unter den trypanoziden Mitteln noch die größte Wirksamkeit zu. Auch Schilling (11) erblickte in ihm anfänglich das souveräne Mittel zur Heilung einer Naganainfektion. Miessner (15) wie auch Zwick und Fischer (16) erzielten je bei einem chronisch beschälseuchekranken Pferde durch intravenöse Arsenophenylglyzininjektion auffällige, augenblickliche Besserung, während Fröhner (17) in einem ebensolchen Fall trotz der gleichen Behandlung keine Heilwirkung sah. Fröhner, wie auch Zwick und Fischer mahnen zur Vorsicht in der Beurteilung der Heilmittelwirkung, da sie bei schwerkranken Beschälseuchepferden ohne jegliches therapeutisches Eingreifen spontan erhebliche Besserung eintreten sahen. Die Versuche von Knuth und Rauchbaa sollen weiter unten näher besprochen werden.

Die Heilwirkung des Brechweinsteins bei Trypanosomiasis wird bei intravenöser Anwendung ziemlich allgemein anerkannt [Brodén und Rodhain (18), G. Martin, Leboeuf und Ringenbach (19, 20), Kérandel (21), Camac (22) beim Menschen; Holmes (23, 24), Leese (25, 26), Thiroux und Teppaz (27), Brodén und Rodhain (28), Morgenroth und Rosenthal (29) bei Pferden, Kamelen, Rindern]. Ullrich (7) hatte dagegen trotz monatelanger täglicher Behandlung keinen Erfolg. Ebenso übereinstimmend wird die Unwirksamkeit des Brechweinsteins bei Anwendung per os, seine örtlich gewebssreizenden und allgemeinen Wirkungen auf den Körper, sowie vor allem seine sehr schnell vorübergehende, die Behandlungszeit nur kurz überdauernde trypanozide Wirkung hervorgehoben. Nur Thiroux und Teppaz erzielten bei Surrah der Pferde durch Brechweinsteinbehandlung anscheinend sogar Dauerheilungen.

Die anfangs bei Behandlung der Schlafkrankheit sich als wirksam erweisende Kombination von Brechweinstein mit Atoxyl versagte in späteren Versuchen [Brodén und Rodhain, G. Martin, Leboeuf und Ringenbach, L. Martin, Darré (30, 31)]. Bei Surrah von Kamelen war die gleichzeitige Anwendung von Brechweinstein mit Atoxyl und arseniksaurem Natrium (Leese), bei Surrah der Pferde diejenige mit Auripigment (Thiroux und Teppaz) von den bisher versuchten Kombinationen die wirksamste. Brodén und Rodhain beobachteten bei 2 Rindern in wenigen Minuten, bzw. 2 Stunden nach der intravenösen

Injektion von 2 bzw. 1·2 grm Brechweinstein in Lösung (6 mg pro Kilo Lebendgewicht) tödlich verlaufende Vergiftungen. Nach ihnen sollen Rinder nur eine subkutane Injektion von etwa 5 mg gelöstem Brechweinstein pro Kilogramm Lebendgewicht vertragen.

Erwähnt sei noch, daß Plimmer und Batemann (32) feststellten, daß bei Antimonbehandlung die Trypanosomen besonders im Knochenmark, sowie auch in der Leber latent werden, und daß Fantham (43) von einem Heilmittel fordert, daß es auch die Bildung der geißellosen Stadien (latenten Körper), die infektiösfähig sind, verhindert oder schon gebildete zerstört.

Das Salvarsan(Ehrlich) — Präparat „592“ (Hata) — ist nach seinem chemischen Aufbau „Dioxyamidoarsenobenzol“. Es ist ein hellgelbes, erst in alkalisch gemachtem Wasser lösliches Pulver, das wegen seiner leichten Oxydierbarkeit in Vakuumröhrchen und vor Licht geschützt aufbewahrt wird. Sein salzsaures Salz ist das Präparat „606“. Die Lösungen beider Präparate, die ganz dieselbe Wirkung haben, sind unmittelbar vor dem Gebrauch frisch herzustellen.

Über die Wirkung des Salvarsans bei „Trypanosomenkrankheiten“ der Menschen und großen Tiere liegen erst wenige Angaben in der Literatur vor.

Nach Ehrlich (33) übt es eine sehr augenfällige Wirkung auf die verschiedenen Trypanosomenkrankheiten aus, und seine Anwendung bietet keine besonderen Gefahren, wenn nur geeignete Fälle zur Behandlung ausgesucht werden. Bezüglich seiner Beeinflussung der Schlafkrankheit sagt Ehrlich (36) auch in neuester Zeit nur, daß es eine gewisse Wirkung auf sie ausübe. Broden (34) stellte bei zwei Patienten im ersten Stadium der Schlafkrankheit eine gute Wirkung einer einzigen Injektion fest. Er empfiehlt 0·01 grm Salvarsan pro Kilogramm Lebendgewicht. Bei Schlafkranken verschwanden die Trypanosomen nach Injektion von 0·3 bis 0·6 grm Salvarsan prompt.

Donagh (37) beobachtete bei einem schlafkranken Europäer, der mit Atoxyl, Arsacetin, Arsenophenylglyzin und Antimon vorbehandelt war, nach einer intramuskulären Injektion von Salvarsan ein längeres Freibleiben des Blutes von Trypanosomen als nach Anwendung obiger Heilmittel. Noch bessere Erfolge verspricht er sich von der intravenösen Anwendung.

Theiler (35) hat gute Resultate mit Salvarsan bei der Behandlung von Rindern, die mit *Trypanosoma cazalboui* infiziert waren, erzielt.

Endlich seien des näheren die hier speziell interessierenden chemotherapeutischen Versuche bei naganainfizierten Rindern besprochen, über

die Knuth (1) auf dem „Deutschen Kolonialkongreß“ im Oktober 1910 berichtet hat.

Von neun Versuchsrindern wurden fünf Tiere zu Heilversuchen benutzt (Nr. 1, 2, 4, 5 und 8); drei dienten als Kontrolltiere und wurden nur infiziert (Nr. 3, 6, 7). Rind 9 wurde mit Arsenophenylglyzin behandelt, ohne vorher infiziert worden zu sein. Die Infektion erfolgte stets mit Naganatrypanosomen vom Stamme „Ferox“, der für Rinder allerdings nur schwach pathogen war. Mäuse starben sicher innerhalb 3 bis 4 Tagen nach der Infektion.

Sämtliche drei Kontrolltiere scheinen durch die natürlichen trypanoziden Schutzstoffe ihres Körpers von den ihnen künstlich einverleibten Trypanosomen völlig befreit worden zu sein, und zwar Rind 3, das viermal infiziert wurde (Oktober und November 1909) 8 Wochen und Rind 7 sieben Wochen nach der Infektion. Bei Rind 6 waren die Trypanosomen noch 3 Monate nach der Infektion nachweisbar.

Die Heilversuche wurden bei Rind 1, 4, 5 und 8 ausgeführt mit einer Kombination von Arsenophenylglyzin (0.035 grm pro Kilogramm Lebendgewicht) mit Brechweinstein (0.01 grm pro Kilogramm Lebendgewicht). Beide Mittel wurden intravenös kurze Zeit hintereinander eingespritzt. Rind 2 erhielt nebst Arsenophenylglyzin (0.01 grm pro Kilogramm Lebendgewicht) gleichzeitig per os 0.2 grm Tryparosan pro Kilogramm Lebendgewicht und 5 Tage später nochmals 0.14 grm Tryparosan pro Kilogramm Lebendgewicht. Da nach 14 Tagen ein Rezidiv auftrat, wurde die Behandlung wiederholt mit 0.05 grm Arsenophenylglyzin und 0.2 grm Tryparosan pro Kilogramm Lebendgewicht. Die Behandlung erfolgte bei Rind 1 fünf, Rind 2 fünf bzw. zehn Tage, Rind 4 sieben Tage nach der Infektion; bei Rind 5 und 8 erst nach 14 Tagen.

Bei Rind 1 gelang es im Oktober 1909 durch eine einzige Dosis der beiden Heilmittel die Trypanosomen so vollkommen zu vernichten, daß sie bereits 6 Stunden später nicht mehr nachweisbar waren, und auch während eines ganzen Jahres nicht wieder auftauchten. Dagegen blieben sie bei Kontrollrind 3 bis zur 8. Woche nach der Infektion nachweisbar.

Bei Rind 2 war der Erfolg nach der Behandlung des nach 3 Wochen aufgetretenen Rezidives ebenfalls ein dauernder.

Desgleichen war bei Rind 4 nach einmaliger Behandlung (im April 1910) eine Dauerheilung erzielt worden. Ein Vergleich mit Kontrollrind 6 und 7 zeigt deutlich die spezifische Wirksamkeit der angewandten Heilmittel.

Knuth legte besonderen Wert auf die Erfolge bei Rind 1, 2 und 4, da sie in Anbetracht der ganz außerordentlichen Wirksamkeit der angewandten Mittel auf die sehr zahlreich im Blute der Rinder 1, 2 und 4

kreisenden Trypanosomen für die Erreichbarkeit des von Ehrlich angestrebten Zieles der „*Therapia magna sterilisans*“ sprechen. Die Beeinträchtigung der Beweiskraft der Heilversuche bei der schwachen Virulenz des Stammes „*Ferox*“ betont jedoch Knuth ausdrücklich.

Die erst 14 Tage nach der Infektion, aber mit ganz denselben Dosen behandelten Rinder 5 und 8 starben etwa 2 bzw. 6 Stunden nach der therapeutischen Behandlung, offenbar infolge Vergiftung durch die eingespritzten Mittel. Bei der Sektion wurden bei beiden Tieren Lungenödem und zahlreiche Blutgerinnsel in den Bronchien als charakteristische Erscheinungen festgestellt. In den mit Herzblut geimpften, aber bereits am nächsten Tage toten Mäusen waren keine Trypanosomen nachzuweisen. Der therapeutische Erfolg läßt sich also hier nicht beurteilen.

Daß die Todesursache bei Rind 5 und 8 eine Vergiftung war, dürfte der unter den gleichen Erscheinungen, 10 Stunden nach der Behandlung erfolgte tödliche Ausgang bei Rind 9 zur Genüge zeigen. Dieses Tier war nicht infiziert worden, erhielt jedoch die gleichen Dosen von Arsenophenylglyzin und Brechweinstein wie die anderen Rinder. Weshalb bei diesen Tieren die Mittel so giftig wirkten, während Rind 1, 2 und 4 genau dieselben Dosen ohne jede Störung vertragen haben, bleibt unaufgeklärt.

Knuth hält zwecks praktischer Verwertung der Versuchsergebnisse weitere Prüfungen an afrikanischen, unter wesentlich ungünstigeren Verhältnissen lebenden Tieren für erforderlich.

2. Eigene chemotherapeutische Versuche bei Rind 1, 2, 4 und 10.

a) Arsenophenylglyzin-Brechweinsteinbehandlung bei Rind 1.

Rind 1 befindet sich in mäßigem Nährzustand und hat am 13. Januar 1911 ein Lebendgewicht von 530^{kg}. Es zeigt eine langsame, stetige Abnahme in den letzten Monaten. Gesundheitsstörungen sind außer einem ab und zu hörbaren matten Husten nicht zu erkennen.

Nachdem durch die Vorprüfungen vom 24. und 29. Dezember 1910 festgestellt worden war, daß sich im Blut von Rind 1 vor der Infektion keine Trypanosomen mittels Mäuseimpfung und Blutbouillonkulturen nachweisen ließen, infizierte ich das Tier am 6. Januar 1911 mit dem Herzblut einer naganatrypanosomenhaltigen Maus. Vom 5. Tage nach der Infektion an ließen sich bei der täglichen Ohrblutuntersuchung Trypanosomen nachweisen. Auch unmittelbar vor der Behandlung von Rind 1 mit Arsenophenylglyzin (0.035^{grm} pro Kilogramm Lebendgewicht) und Brechweinstein (0.01^{grm} pro Kilogramm Lebendgewicht), die 8 Tage nach

der Infektion erfolgte, konnte ich im hängenden Tropfen die Nagana-parasiten leicht finden. Ebenso konnte durch Mäuseimpfung das Vorhandensein der Trypanosomen in der Blutbahn ganz kurz vor der Behandlung festgestellt werden.

Am 14. Januar 1911 (10.30^h a. m.) erhält Rind 1 intravenös 18.55^{grm} Arsenophenylglyzin in 3 prozentiger, klarer, mit 600^{grm} steriler physiologischer Kochsalzlösung hergestellter Lösung von 38° C injiziert. 45 Minuten später erfolgt in gleicher Weise die Injektion einer Lösung von 5.3^{grm} Brechweinstein in 530^{grm} destilliertem, auf etwa 37° C erwärmtem Wasser. Obwohl zuerst noch vollkommen munter, wird das Tier jedoch bald darauf unruhig, legt sich, zeigt Kolikerscheinungen (Schlagen mit den Beinen) und stirbt 2 Stunden nach der therapeutischen Behandlung (12.30^h p. m.).

Die Obduktion findet 3¹/₂ Stunden nach Eintritt des Todes statt.

Aus dem Sektionsbefund sei folgendes hervorgehoben:

Das Kadaver befindet sich in rechtsseitiger Rückenlage. Aus den Nasenöffnungen entleert sich eine wässrige, gelbliche Flüssigkeit in reichlicher Menge. Aus den durchschnittenen, starkgefüllten Unterhautgefäßen fließt eine auffallend große Menge dunkelgefärbten, teerartigen Blutes, das in kurzer Zeit gerinnt. Im Darmkanal ist nichts Krankhaftes nachzuweisen. Die Milz ist von brüchig-weicher Konsistenz. Auf der viszerale Fläche sind besonders entlang dem stumpfen Rande zahlreiche, bis 6^{cm} dicke beulenartige, außen schwarzrote, auf dem Durchschnitt schwarzbraune Herde vorhanden, in denen Blutgerinnsel sitzen. Ebenso finden sich dem scharfen Rande entlang, sowie auf der ganzen Magenfläche der Milz zerstreut, solche meist erbsen- bis haselnußgroße Herde. Auf dem Durchschnitt der linken Niere sind in der Rindenschicht spärliche punktförmige und mitunter streifige Blutungen sichtbar. Die Lungen sind groß, wenig retrahiert, von hellroter Farbe und zeigen vorgeschrittene tuberkulöse Veränderungen. In den Bronchien findet sich bis zu den feineren Verzweigungen dunkelrötliche, teilweise schaumige Flüssigkeit. Häufiger sind submuköse, schwarzrote, fleckige Blutungen sichtbar. In den feineren Bronchien, und zwar besonders in der rechten Lunge sitzen platte, tuberkulöse Knötchen, sowie zahlreiche schwarzrote, feine Blutgerinnsel. Besonders an den Teilungsstellen der feineren Bronchien sind sie reichlich vorhanden. In den Mittelfellymphknoten sind außer tuberkulösen Veränderungen fleckige Blutungen auf dem Durchschnitt sichtbar. Beide Herzkammern sind leer. Unter dem Endokardium der linken Kammer sind einige kleinere und größere Blutungen bemerkbar. Ebenso befinden sich außen in der Wand der großen Gefäßstämme dicht an deren Ursprung mehrere bis einmarkstückgroße Blutungen. Die Durchschnittsfläche der Thymusdrüse ist von zahlreichen fleckigen Blutungen durchsetzt. Die Trachealschleimhaut ist mit fleckigen, meist punktförmigen Blutungen besät. Ferner sind zahlreiche, in der Richtung der Schleimhautfalten verlaufende, streifige Blutungen sichtbar. Besonders reichlich sind

diese an der dorsalen Innenfläche der Luftröhre in ihrem oberen Drittel (auf etwa 30^{cm} Länge), wo einzelne Streifen eine Breite von 2 bis 5^{mm} erreichen. Auch ist das hier reichliche retromuköse Gewebe vollständig durchblutet. Auf den Durchschnitten der Kehlkopfmuskeln (besonders des M. transversus und der Mm. postici) und -knorpeln sind ebenfalls Blutungen (Petechien) sichtbar.

Zusammengefaßt ergaben sich als Hupterscheinungen die auch von Knuth (1) auf dem Deutschen Kolonialkongreß für die Rinder 5, 8 und 9 als charakteristisch bezeichneten, nämlich: Lungenödem und zahlreiche Blutgerinnsel in den feineren Bronchien. Außer diesen Veränderungen sind noch die zahlreichen Blutungen in Organen und Geweben (Herz, Luftröhre und Bronchien, Drüsengewebe) hervorzuheben.

Bei dieser Übereinstimmung der Erscheinungen vor und nach dem Tode bei Rind 1 mit den Feststellungen von Knuth und Rauchbaar bei Rind 5, 8 und 9, und bei gleichzeitiger Berücksichtigung der zahlreichen, in der Literatur verzeichneten Beobachtungen über die giftige Wirkung des Arsenophenylglyzins bei Menschen und Tieren, besonders auch nach alleiniger Anwendung dieses Heilmittels, ist es unzweifelhaft, daß der Tod auch im vorliegenden Falle eine Folge der Vergiftung durch die eingespritzten Mittel gewesen ist. Ob dabei in gleichem Maße wie die angewandte große Menge Arsenophenylglyzin auch die in destilliertem Wasser aufgelösten 5·3^{grm} Brechweinstein an der tödlichen Wirkung beteiligt sind, ist sehr fraglich. Allerdings zeigen die Versuche von Broden und Rodhain auch seine Giftigkeit für Rinder. Eine chemische Veränderung des vor Licht geschützt und in Vakuumröhrchen aufbewahrten Arsenophenylglyzins ist nach den Erfahrungen von Ehrlich und den von Springefeldt auf dem Deutschen Kolonialkongreß gemachten Mitteilungen (1) wohl sicher als Ursache seiner tödlichen Wirkung auszuschließen. Es dürfte hier lediglich die giftige Wirkung des Präparates an sich, wie dies auch oft bei anderen Arzneimitteln der Fall ist, in Betracht kommen. Auch Knuth ist durch diesen neuen Todesfall zu dem Schluß gelangt, daß die Arsenophenylglyzinbehandlung der experimentellen Trypanosomiasis der Rinder trotz der erzielten Erfolge wegen der großen Vergiftungsgefahr sich für praktische Zwecke nicht bewährt hat. Es dürfte dieser Todesfall bei Rind 1 (das 580^{kg} Lebendgewicht besaß) die Erfahrungen von Ehrlich, Breinl und Nierenstein u. a. bestätigen, daß proportional der Körpergewichtszunahme die erforderlichen Dosen schlechter bzw. nicht mehr vertragen werden; denn Rind 1 hatte im Oktober 1909 bei einem Körpergewicht von 380^{kg} dieselbe Behandlung ohne jede Störung vertragen.

Was den therapeutischen Erfolg bei Rind 1, in dessen Ohrblut die Trypanosomen unmittelbar vor der Behandlung leicht nachzuweisen waren, anbetrifft, so konnte ich feststellen, daß die bei der Sektion — also 6 Stunden nach der Arsenophenylglyzininjektion, bzw. 4 Stunden nach Eintritt des Todes — mit Herzblut von Rind 1 geimpften beiden Mäuse dauernd trypanosomenfrei und gesund blieben (Beobachtungszeit $4\frac{1}{2}$ Monate). Ebenso waren im Herzblut von Rind 1 keine Trypanosomen zu finden. Da sich aber bewegliche Trypanosomen der Regel nach noch längere Zeit nach dem Tode nachweisen lassen (bei Mäusen meist noch nach 24 Stunden), so scheinen meine Befunde für die Befreiung der Blutbahn des Rindes 1 von Trypanosomen durch die therapeutische Behandlung zu sprechen.

b) Heilversuch mit Salvarsan bei Rind 2.

Rind 2, dessen Lebendgewicht am 7. Februar 1911 445^{kg} beträgt, befindet sich in mäßigem Nährzustand und zeigt keine Gesundheitsstörungen.

Die am 24. und 29. Dezember 1910 mittels Mäuseimpfung und Blutbouillonkulturen vorgenommenen Prüfungen auf Trypanosomen hatten keine positiven Ergebnisse.

Am 6. Januar 1911 wurde Rind 2 subkutan mit dem verdünnten Herzblut einer naganatrypanosomenhaltigen Maus infiziert.

Da nach 10 Tagen im hängenden Tropfen und im „dicken Tropfenpräparat“ noch keine Trypanosomen nachzuweisen waren, impfte ich am 19. Januar 1911 zwei Mäuse mit Ohrblut von Rind 2 und infizierte dann das Tier nochmals. Hierauf trat bei Rind 2 eine Steigerung der Körpertemperatur ein, die am Abend des folgenden Tages 41°C erreichte. In den Blutpräparaten waren erst 5 Tage nach dieser Infektion in geringer Zahl Trypanosomen vorhanden. Wie jedoch das Resultat der Mäuseimpfung später auswies, war bei Rind 2 auch die erste Infektion gelungen. Aber aus dem späten Auftreten der Trypanosomen in der Blutbahn der Mäuse, sowie dem erst 12 bzw. 16 Tage nach deren Impfung erfolgenden Tode ist wohl zu schließen, daß in der Blutbahn von Rind 2 zur Zeit der Mäuseimpfung erst sehr spärlich Trypanosomen vorhanden waren. Dagegen starben 2 am 6. Tage nach der zweiten Infektion geimpfte Mäuse schon 5 bzw. 6 Tage später infolge Trypanosomeninfektion. Auch waren die Trypanosomen vom 14. Tage nach der letzten Infektion an in den Blutpräparaten täglich zahlreicher zu finden, nachdem zuvor der Befund wieder einige Tage negativ gewesen war.

Am Tage der therapeutischen Behandlung des Rindes 2 (7. Februar 1911), die 32 Tage nach der Infektion, bzw. 19 Tage nach deren Wiederholung erfolgte, waren in den Blutpräparaten sehr reichliche Trypanosomen nachweisbar. Auch starben 2 unmittelbar vor der Behandlung mit Jugularvenenblut des Rindes 2 geimpfte Mäuse bereits 4 Tage später infolge Trypanosomeninfektion. Die Zahl der Trypanosomen in der Blutbahn des Rindes 2 war also zur Zeit der Behandlung eine beträchtliche gewesen.

Zur therapeutischen Behandlung von Rind 2 wurde, wie beim Menschen, die Dosis von 0.01 grm pro Kilogramm Lebendgewicht = 4.4 grm Salvarsan gewählt. Dieses wurde in 1000 ccm steriler physiologischer Kochsalzlösung und etwa 8.27 ccm offizineller Natronlauge, wie folgt, gelöst.

4.4 grm Salvarsan wurden aus den Vakuumröhrchen in 400 ccm sterile, auf etwa 45° C erwärmte 0.9 prozentige Kochsalzlösung gebracht und im sterilen, einige Glasperlen enthaltenden Zylinder vorsichtig geschüttelt, bis das Pulver fast vollständig gelöst war. Dieser gelben Lösung wurden 8.27 ccm offizinelle Natronlauge zugefügt. Der hierbei entstehende Niederschlag löste sich bei weiterem Durchmischen bis auf einige kleine kristallinische Teilchen. Auf Zusatz noch einiger Tropfen Natronlauge lösten sich auch diese bis auf wenige Flocken, die sich zu Boden setzten. Der klaren Lösung wurden dann noch 600 ccm Kochsalzlösung zugegeben, so daß sie also 0.44 prozentig war.

Nach Herstellung der Lösung wurde dieselbe dem Rind 2 sofort bei 37° C mittels Injektionsapparat langsam in die linke Jugularvene eingespritzt. Da ein kleiner Teil der Lösung samt den ungelösten Kristallflocken von Salvarsan im Injektionszylinder zurückblieb, so dürfte die eingespritzte Salvarsanmenge nur 4.3 grm betragen haben.

$\frac{3}{4}$ Stunden nach der Injektion zeigte Rind 2 starkes Muskelzittern am Rumpf und an den Extremitäten, ängstlichen Blick und Drängen auf den Darm. Dann legte es sich nieder. Nach $1\frac{1}{2}$ Stunden hatte es sich vollständig beruhigt; auch das Muskelzittern hatte vollkommen aufgehört. Die Körpertemperatur von Rind 2, die zur Zeit der Injektion 38.9° C betragen hatte, war $1\frac{1}{2}$ Stunden später (12^{h} mittags): 40.2° C , nach $2\frac{1}{2}$ Stunden: 40.1° C , nach $5\frac{1}{2}$: 39.8° C , und nach $7\frac{1}{2}$: 39.6° C . Sie ging weiterhin langsam zurück und war am 2. Tage nach der Injektion unter 39° C gesunken. $7\frac{1}{2}$ Stunden nach der Injektion war das Tier ganz munter und zeigte guten Appetit. Lokale Reizerscheinungen traten an der Injektionsstelle nicht auf.

Technik der Blutpräparat-Herstellung und -Prüfung.

Zwecks Prüfung der therapeutischen Wirkung der angewandten Heilmittel fertigte ich von dem Blute der Versuchsrinder, das ich mehrmals zu verschiedenen Zeiten auf Mäuse überimpfte, eine größere Anzahl von Objektträgerausstrichen, frischen Blutpräparaten (hängende Tropfen) und „dicken Tropfenpräparaten“ an. Die Art der Herstellung und Untersuchung dieser Blutpräparate war folgende.

Die Objektträgerausstriche und die „hängenden Tropfen“ wurden in der allgemein üblichen Weise hergestellt. Auch wurde die Untersuchung des frischen Blutes häufiger im gewöhnlichen Deckglaspräparat ausgeführt, wobei das Deckglas vorher mit Vaseline umrandet wird. Aber auch ohne künstliche Umrandung blieb das unter dem Deckglas befindliche, mit steriler 0.9 prozentiger Kochsalzlösung verdünnte Blut infolge Eintrocknung des Blutes am Rande des Deckglases lange flüssig.

Die Herstellung der „dicken Tropfenpräparate“ erfolgte in der nach R. Roß und D. Thomson angegebenen Weise. Das Blut wurde gewöhnlich am Ohr der Versuchstiere nach vorheriger guter Reinigung der betreffenden Stelle (Entfernung von Haaren und Schmutz mit Kochsalzlösung) durch einen kleinen Einschnitt gewonnen. Mittels ausgeglühter Platinöse wurden durchschnittlich 8 kleine Tropfen frischen, gut flüssigen Blutes auf einen mit Alkohol entfetteten Objektträger gebracht, und dann abgewartet, bis das Präparat (bei horizontaler Lagerung!) vollständig trocken geworden war. Es wurde hierauf bei aufrechter Stellung des Präparates der Blutfarbstoff durch Wasser 5 bis 10 Minuten lang ausgezogen, darauf das Präparat vorsichtig aus dem Wasser herausgenommen, wieder abgewartet, bis es lufttrocken war, und dann 12 bis 24 Stunden in Alkohol gehärtet. Wenn die Präparate nach dem Herausnehmen ganz trocken waren, wurden sie 15 bis 20 Minuten mit Giemsalösung gefärbt, nachher gut, aber vorsichtig mit Wasser abgespült und nach vollständigem Trockenwerden in Zedernholzöl untersucht. Hierbei erfolgte die Prüfung der Präparate unter Verwendung des großen Kreuztisches, so daß die Befunde immer mittels der Koordinaten festgelegt werden konnten.

Vorstehende Angaben über Herstellung und Färbung der Präparate gelten auch für die Untersuchungen bei den übrigen Tieren, insbesondere auch für das Kapitel der „Kugeligen Trypanosomenformen“.

Die Färbung der Präparate geschah zeitweise auch unter Anwendung des Schillingschen Apparates mit Methylenblau und Eosinlösung.

Nach den Angaben von Prof. Dr. C. Schilling wurden zu dieser Färbung zuerst 2 Stammlösungen hergestellt:

1. Borax-Methylenblaulösung (sogen. Mansonlösung):

Methylenblau med. Höchst.	1.0 grm
Borax	5.0 „
Aqu. destill.	ad 100.0 „

2. Eosinlösung:

Eosin Extra BA. Höchst . . . 1.0 grm
 Aqu. destill. ad 100.0 „

Von diesen beiden Stammlösungen wurde je eine Verdünnung von 1:50 aqu. destill. (= 0.02 Prozent) hergestellt. Die beiden verdünnten Lösungen mischt man zu gleichen Teilen und läßt die frisch hergestellte Mischung auf das vorher fixierte Präparat einwirken. Im Notfalle genügt auch die Färbung mit einfacher „Mansonlösung“. Beim Schillingschen Apparat (von Lautenschläger-Berlin) erfolgt die Mischung der beiden Lösungen durch den Apparat selbst.

Bei Anwendung dieses Verfahrens erzielte ich schöne Färbung der Präparate, besonders der Chromatinbestandteile, schon bei 20 Minuten, besser aber bei 1 bis 2 Stunden langer Einwirkung des Farbstoffes.

Da obige Färbung des „dicken Tropfens“ nach Ross-Thomson reichlich Zeit in Anspruch nahm, führte ich zwecks sofortiger Feststellung des Auftretens der Trypanosomen in der Blutbahn bei infizierten Tieren die Färbung nach Ross-Koch, nämlich ohne vorheriges Ausziehen des Blutfarbstoffes und ohne Härtung aus. Ich ließ die Präparate gut trocken werden, was ich nötigenfalls vollends durch vorsichtiges, ganz leichtes Erwärmen schneller erreichte, stellte die Präparate dann vorsichtig etwa 20 Minuten lang in Giemsalösung, worauf sie vorsichtig abgespült wurden. Die blaugefärbten Parasiten und Leukozyten lassen sich dann in dem grünlich erscheinenden, durch die Erythrozyten gebildeten Untergrund nachweisen. Der Blutfarbstoff wird hierbei größtenteils durch die wässrige Farblösung ausgezogen.

Um die therapeutische Wirkung des Salvarsans bei Rind 2 zu prüfen, wurden 3 und 6 Stunden nach der Injektion je 2 Mäuse mit Ohrblut dieses Tieres subkutan geimpft. Außerdem wurden Objektträgerausstriche und frische Blutpräparate angefertigt. Weiterhin wurden, vom Zeitpunkt der therapeutischen Behandlung an gerechnet, hergestellt:

nach 23 Std.:	4 dicke Tropfenpräp.;	10 Blutausstriche;	2 häng. Tropfen
„ 30 „	3 „ „	— „	2 „ „
„ 48 „	1 dickes „	2 „	2 „ „
„ 72 „	1 „ „	1 Blutausstrich;	2 „ „

Vom 4. bis 10. Tage nach der Salvarsanbehandlung wurden täglich und später dann alle 3 bis 4 Tage frische Blutpräparate und dicke Tropfenpräparate angefertigt. Ferner wurden 8 Tage nach der therapeutischen Behandlung mit defibriertem Blut von Rind 2 Blutbouillonkulturen angelegt und zwei Mäuse mit dem Blutzentrifugat geimpft. Dieses wurde auch im Deckglaspräparat untersucht.

Das Ergebnis der Untersuchung auf die therapeutische Wirkung des Salvarsans war folgendes:

Sämtliche geimpften 6 Mäuse zeigten keine Trypanosomen in der peripheren Blutbahn und blieben während der ganzen 4 Monate langen Beobachtungszeit gesund.

Bei der Durchsuchung der Blutpräparate konnte ich Trypanosomen weder im frischen Blut, noch in den Ausstrichen von 3 und 6 Stunden nach der Behandlung nachweisen. Auffällig reichlich waren nur Haufen von rundlichen, blaufärbten Körnern in fast allen Präparaten vorhanden. Da ich solche körnige Massen aus trypanosomenhaltigen Mäusen in Ausstrichen, die etwa 36 Stunden nach Todeseintritt angefertigt wurden, ebenfalls fand, so dürften sie vielleicht Reste des zerfallenen Protoplasmakörpers der Trypanosomen darstellen.

Auch die weiteren Untersuchungen der Blutpräparate und die Mäusekontrollimpfungen (vom 1. April mit Zentrifugat und 25. Mai mit Ohrblut) zeigten, daß bei Rind 2 während der ganzen Beobachtungszeit (16 Wochen) die Trypanosomen nicht wieder in der Blutbahn auftauchten.

Dagegen entdeckte ich 5 1/2 Wochen nach der therapeutischen Behandlung (am 17. März) im dicken Tropfenpräparate geißellose und an den folgenden Tagen (bis 25. März, sowie am 28. und 30. März) ein- und zweigeißelige runde Gebilde, wie sie später auch bei den anderen Versuchstieren erwähnt werden, und deren Form jeweils im nachfolgenden Kapitel IV näher beschrieben ist. Aller Wahrscheinlichkeit nach dürften sie mit Trypanosomen im Zusammenhang stehen.

Am 30. Mai 1911, an welchem Tage Rind 2 aus anderweitigen Gründen geschlachtet wurde, fertigte ich noch ein dickes Tropfenpräparat aus Herzblut des Tieres an. In demselben waren ebenfalls keine Trypanosomen nachweisbar.

Der therapeutische Erfolg der Salvarsanbehandlung bei Rind 2 war also nach Ausfall des Tierversuches und der Blutpräparatuntersuchung ein schneller (in 2 bis 3 Stunden) und anhaltender (16 Wochen). Ob er ein dauernder geblieben wäre, kann ich infolge der Schlachtung des Tieres nicht entscheiden.

Das als Kontrolltier zu vorstehendem Versuche dienende Rind 3 zeigte trotz wiederholter, im Kapitel III noch näher zu besprechender Infektionsversuche niemals Trypanosomen im Blute.

c) Heilversuch mit Salvarsan (Ehrlich) bei Rind 4.

Rind 4, dessen Lebendgewicht am 20. März 1911 403^{kg} beträgt, befindet sich in mäßigem Nährzustand und bei guter Gesundheit.

Die am 24. und 29. Dezember 1910, sowie am 3. Februar 1911 vorgenommenen Prüfungen auf Bluttrypanosomen und Kulturflagellaten verliefen auch bei Rind 4 negativ.

Unmittelbar nach der letzten Vorprüfung infizierte ich das Tier mit Kulturflagellaten aus einem Kalb, indem ich ihm 30^{ccm} Kulturflüssigkeit aus vier positiven Blutbouillonröhrchen intravenös einspritzte.

Zur Prüfung auf Bluttrypanosomen wurden täglich aus Ohrblut oder Blutzentrifugat frische und gefärbte Präparate (dicke Tropfenpräparate und einfache bzw. Zentrifugatausstriche) hergestellt. Zwecks Prüfung des Auftretens von kulturell nachweisbaren Trypanosomen wurden vom 3. Tage nach der Infektion an jeden 2. Tag, bzw. bis zum 12. Tage täglich je vier Blutbouillonkulturen mit Jugularvenenblut von Rind 4 angelegt.

Trotz dieser zahlreichen Untersuchungen konnte ich nach der Infektion innerhalb 33 Tagen weder Bluttrypanosomen, noch Kulturflagellaten nachweisen.

Es gelang also bei Rind 4 nicht, durch Einspritzung von Kulturflagellaten in die Blutbahn eine Infektion zu erzielen.

Daher infizierte ich am 8. März 1911 Rind 4 subkutan mit dem Herzblut von zwei trypanosomenhaltigen Mäusen.

Durch die übliche Ohrblutuntersuchung konnte ich schon 3 Tage später im dicken Tropfenpräparat und am 5. Tage nach der Infektion auch im frischen Blutpräparat Trypanosomen nachweisen. In den am 6. Tage angelegten Blutbouillonkulturen, in denen die übertragenen Naganaparasiten bereits am nächsten Tage nicht mehr nachzuweisen waren, traten später auch keine Kulturflagellaten auf.

Da die Zahl der Trypanosomen in den nächsten Tagen im dicken Tropfenpräparat spärlicher geworden war, spritzte ich dem Rind 4 am 11. Tage nach der ersten Infektion das Herzblut von drei trypanosomenhaltigen Mäusen intraperitoneal ein.

Nachdem nun 12 Tage nach der ersten Infektion die Trypanosomen wieder zahlreich im Ohrblut von Rind 4 nachweisbar geworden waren, wurde das Tier an diesem Tage auf dieselbe Weise wie Rind 2 mit Salvarsan behandelt. Jedoch erhielt es nur die Hälfte der bei Rind 2 angewandten Dosis, also 0.005^{grm} pro Kilogramm Lebendgewicht = 2.0^{grm} Salvarsan.

Unmittelbar zuvor stellte ich durch Untersuchung des Jugularvenenblutes und Verimpfung desselben auf Mäuse nochmals das Vorhandensein von zahlreichen Trypanosomen in der Blutbahn des Rindes 4 fest.

Dann spritzte ich dem Rind 4 die, wie bei Rind 2 in 1000^{cem} Kochsalzlösung und etwa 3·8^{cem} Natronlauge gelöste Salvarsanmenge von 2·0^{grm} in die linke Jugularvene ein.

Hierauf zeigte das Tier weder eine Steigerung der Körpertemperatur, noch sonstige Störungen des Allgemeinbefindens.

Zwecks Prüfung des therapeutischen Erfolges der Behandlung wurden 3 und 6 Stunden später je zwei Mäuse subkutan mit Ohrblut von Rind 4 geimpft. Ferner stellte ich, wie bei Rind 2, in kurzen Zeitabständen jeweils eine größere Anzahl frischer und gefärbter Blutpräparate von Ohrblut her.

Das Ergebnis der Untersuchung war folgendes:

In den 2, 3 und 6 Stunden nach der therapeutischen Behandlung mit Ohrblut von Rind 4 angefertigten dicken Tropfenpräparaten fanden sich meist zahlreiche, scharf konturierte, geißellose, sowie ein- und zweigeißelige, kugelige Trypanosomenformen. Während diese in den nach 19 Stunden hergestellten dicken Tropfenpräparaten sehr spärlich vorhanden waren, fand ich sie in solchen von 28 Stunden und besonders von 2 und 3 Tagen nach der therapeutischen Behandlung stammenden sehr zahlreich.

Dagegen konnte ich in den Blutpräparaten niemals Trypanosomen nachweisen.

Auch die 3 und 6 Stunden nach der Salvarsanbehandlung geimpften Mäuse blieben während der ganzen Beobachtungszeit (bis 1. Juni 1911) trypanosomenfrei und gesund. Ich hatte also bei ihnen keine Infektion erzielt, obwohl die runden Gebilde doch vermutlich ebenso im Impflut vorhanden waren wie im Blut der gleichzeitig hergestellten dicken Tropfenpräparate. Ebenso konnte ich in den 11 Tage nach der Behandlung mit Blutzentrifugat von Rind 4 geimpften Mäusen und den zur selben Zeit angelegten Blutbouillonkulturen niemals Trypanosomen feststellen.

Nun aber entdeckte ich im Blut einer 9 Wochen nach der therapeutischen Behandlung von Rind 4 mit Ohrblut geimpften Maus vor und nach deren Tod (9 Tage nach der Infektion) zahlreiche Trypanosomen. Es war somit ein Rezidiv eingetreten.

Die Salvarsanbehandlung bei Rind 4 bewirkte bei Anwendung einer Dosis von 0·005^{grm} pro Kilogramm Lebendgewicht zwar eine fast augenblickliche Befreiung der Blutbahn von den Naganaparasiten, da sie bereits nach 2 Stunden aus dem Ohrblut vollständig verschwunden waren. Jedoch dürfte die angewandte Dosis zur Erzielung einer Dauerheilung nicht genügen, da zu verschiedenen Zeiten nach der Behandlung oben erwähnte Kugelformen (Fantham) auftraten, und sich außerdem nach 9 Wochen ein Rezidiv einstellte.

d) Heilversuch mit Trypaflavin B (Ehrlich) bei Rind 10.

Trypaflavin B (Ehrlich) ist ein leichtes, kristallinisches, zinnoberrotes Pulver, das in Wasser (0.9 prozent. Kochsalzlösung) ziemlich leicht löslich ist. In der Literatur finden sich noch keine Angaben über dieses neue trypanozide Farbstoffpräparat.

Bei Einwirkung einer 0.4 prozent., eine Stunde zuvor hergestellten Lösung von Trypaflavin in 0.9 prozentiger Kochsalzlösung auf reichlich naganatrypanosomenhaltiges Blut von lebenden Mäusen (je 1 Öse im Deckglaspräparat und hängenden Tropfen) waren die Parasiten nach 10 Minuten meist nur noch schwach beweglich; auch waren oft zwei und mehr Trypanosomen beisammenliegend in einheitlicher Bewegung zu sehen (Rosettenformen). Nach 15 bis 20 Minuten waren die Trypanosomen größtenteils fast oder ganz unbeweglich. Nach 30 Minuten waren alle unbeweglich.

Rind 10 befindet sich in gutem Gesundheits- und Nährzustand. Das Lebendgewicht beträgt am 1. März 1911 378 kg.

Vor der Infektion mit Trypanosomen waren durch die am 24. und 29. Dezember 1910, sowie am 18. Februar 1911 vorgenommenen Prüfungen weder Bluttrypanosomen noch Kulturflagellaten bei Rind 10 nachweisbar.

Die Infektion des Tieres führte ich dann am 19. Februar 1911 mit dem Herzblut einer reichlich trypanosomenhaltigen Maus aus.

Hierauf tauchten im dicken Tropfenpräparat vom 4. bis 7. Tage nach der Infektion die später näher erörterten rundlichen, geißellosen, sowie ein- und zweigeißeligen Kugelformen auf. Während diese nun vorerst nicht mehr nachzuweisen waren, traten von diesem Tage an bis zum Tage der therapeutischen Behandlung regelmäßig Naganatrypanosomen auf. Kulturflagellaten ließen sich dagegen in den 8 Tage nach der Infektion angelegten Blutbouillonkulturen niemals nachweisen. Auch waren von den hierbei übertragenen Naganaparasiten 2 Tage später keine mehr zu finden. Um zu prüfen, ob nicht etwa die Milch des stark infizierten Rindes 10 Naganatrypanosomen enthält, habe ich am 9. Tage nach der Infektion des Tieres zwei Mäuse mit je 1.5^{cem} Milchzentrifugat geimpft. Dieselben blieben jedoch dauernd trypanosomenfrei und gesund.

Am 2. März 1911, dem 11. Tage nach der Infektion, wurde Rind 10 mit Trypaflavin B behandelt.

Unmittelbar zuvor entnommenes Jugularvenenblut von Rind 10 enthielt reichlich Trypanosomen, so daß diese im frischen und gefärbten Blutpräparat leicht nachweisbar waren. Mit Zentrifugat geimpfte Mäuse erlagen der Infektion 6 Tage später. Kulturell konnte ich keine Trypanosomen nachweisen.

Als Heildosis des Trypaflavins wurde für Rind 10 bei intravenöser Anwendung 0.01 grm pro Kilogramm Lebendgewicht = 3.78 grm gewählt.

Die Herstellung der Injektionsflüssigkeit geschah einfach in der Weise, daß das Trypaflavin und zwar 4.0 grm in 1000 ccm sterile, auf 40° C erwärmte, 0.9 prozentige Kochsalzlösung gebracht und die Mischung bis zur vollständigen Lösung umgeschüttelt wurde. Die Auflösung des Trypaflavins vollzog sich schnell und ergab eine klare, hellgelbe Flüssigkeit, die also 0.4 prozentig war.

Die Trypaflavinlösung wurde sofort nach Herstellung bei 37° C dem Rind 10 intravenös injiziert. Da das Tier trotz der üblichen Befestigung sehr unruhig war, gelangte ein Teil der Lösung in das Unterhautgewebe. Da außerdem noch ein Teil derselben verloren ging, ist anzunehmen, daß Rind 10 nur 3.5 grm Trypaflavin intravenös erhalten hat. Die Injektion erfolgte in beide Jugularvenen, hauptsächlich aber in die rechte.

Gleich nach der Injektion war an beiden Einstichstellen eine etwa 10 cm lange eiförmige Anschwellung zu sehen und zu fühlen.

Die Erscheinungen, die das Rind während der ersten Stunden nach der Behandlung zeigte, bestanden nur in zeitweise an Rumpf und Extremitäten zu beobachtendem Muskelzittern. Eine bemerkenswerte Temperatursteigerung trat trotz der nachfolgenden lokalen Erscheinungen niemals ein.

Am nächsten Tage zeigte sich rechterseits am Trier herab bis zu dessen tiefster Stelle ein derber, schmerzhafter, hauptsächlich im Unterhautgewebe, aber auch in der Jugularvene sitzender Strang von etwa 20 cm Breite und 8 bis 10 cm Dicke. Links war an der Injektionsstelle eine mannsfaustgroße Anschwellung zu sehen. Die Haut ließ sich über den Schwellungen nicht verschieben. An den Rändern zeigten diese eine scharfe Abgrenzung sowohl gegen die Umgebung, als auch nach der Tiefe. Unter Beibehaltung der genannten Eigenschaften dehnten sie sich kopf- und rumpfwärts immer mehr aus, so daß 10 Tage nach der Injektion des Trypaflavins der vordere (ventrale) Halsrand vollständig abgerundet und auch der Kehlgang ergriffen war. Am brustwärts gelegenen Ende des Triels schloß die Anschwellung sackartig ab. Der Kopf wurde infolge der Schwere und Unbeweglichkeit des Halses tief und in gestreckter Haltung getragen. Die Futteraufnahme war infolge der hochgradigen Schluckbeschwerden zuletzt auf eine ganz geringe Menge flüssiger Nahrung beschränkt. Wegen dieser bedrohlichen Erscheinungen wurde das Tier zur weiteren Behandlung der chirurgischen Klinik hiesiger Hochschule übergeben. Nachdem dort im Bereiche der ganzen Anschwellung Kantharidensalbe eingerieben worden war, trat schon 4 Tage später eine Abnahme der Schwellung ein. Sie beschränkte sich 13 Tage nach der

Einreibung bereits auf den Verlauf der Jugularvenen, dann auf die Injektionsstellen, so daß am 1. Juni 1911 nur noch zwei Gewebverdickungen dort nachweisbar waren. Im übrigen erholte sich das Tier schnell, nachdem die Futteraufnahme wieder möglich war.

Die Einspritzung des Trypaflavins hat somit wegen der bei ihr eingetretenen Komplikation eine Thrombophlebitis und eine schwere Phlegmone zur Folge gehabt.

Zur Prüfung des therapeutischen Erfolges der Trypaflavinbehandlung bei Rind 10 wurden nach der Behandlung, nebst der regelmäßigen Untersuchung frischer Blutpräparate, an Dauerpräparaten vom Ohrblut hergestellt:

nach	2 Stunden	1 dickes Tropfenpräparat;	9 Blutausstriche
„ 3 und 6	„	2 dicke Tropfenpräparate;	8 „
„ 23 „ 31	„	2 „ „	; 1 Blutausstrich.

An den folgenden Tagen wurde je 1 dickes Tropfenpräparat, sowie öfter Ausstriche angefertigt.

Außerdem wurden 3 und 6 Stunden, sowie 9 Tage nach der therapeutischen Behandlung je zwei Mäuse subkutan geimpft.

Das Ergebnis der Untersuchung war folgendes: Die mit Ohrblut 3 Stunden und 9 Tage nach der therapeutischen Behandlung geimpften Mäuse blieben während der ganzen Beobachtungszeit (bis 1. Juni 1911) trypanosomenfrei. Von den nach 6 Stunden geimpften Mäusen blieb eine ebenfalls frei von Trypanosomen, während sich im Blut der anderen 8 Tage nach der Impfung Trypanosomen leicht nachweisen ließen, und dieselbe 11 Tage nach der Infektion starb. Die Trypanosomen waren also 6 Stunden nach der Trypaflavinbehandlung, wenn auch nur spärlich, noch in der Blutbahn von Rind 10 vorhanden.

In dem 2 Stunden nach der Behandlung angefertigten dicken Tropfenpräparat fand sich neben vielen blaugefärbten körnigen Protoplasmahaufen, in denen oft rotgefärbte Körner lagen, eine Zerfallsform eines Trypanosomas. Außer dem deutlichen Kern und Blepharoblasten waren nur noch in der durch diese bestimmten Richtung strichförmig angeordnete, blaugefärbte Granula als Teil des Protoplasmakörpers erhalten. Ebenso fanden sich in einem der dicken Tropfenpräparate von 3 Stunden nach der Behandlung zwei solche Zerfallsformen, in anderen dagegen nur undeutliche, rundliche Gebilde mit Chromatingranula. Intakte Trypanosomen sind in keinem Präparate zu finden, so daß sich die Mäuseimpfung durch ihren positiven Ausfall als sicherer erwies.

Dagegen traten in einem dicken Tropfenpräparate 31 Stunden nach der Trypaflavinbehandlung drei ganz dicht beisammenliegende eingeißelige

Kugelformen mit dunkelgefärbtem, dichtem Protoplasmakörper und je einem größeren und kleineren rotgefärbten Kerne auf. Am 2. Tage nach der Trypaflavinbehandlung fand sich eine länglichrunde Form mit Vakuolen und einem größeren rotgefärbten Kern in hellem Hof vor. Weitere geißellose Kugelformen konnte ich erst 20 Tage nach der Behandlung (22. März) in größerer Zahl entdecken. Auch nach 28 Tagen fanden sich noch eingeißelige und mitunter auch zweigeißelige im dicken Tropfenpräparat.

Während die weitere Prüfung der Blutpräparate wieder negativ ausfiel, gelang es mir durch Impfung zweier Mäuse 30 Tage nach der therapeutischen Behandlung abermals Trypanosomen in der Blutbahn von Rind 10 nachzuweisen. Es war also bereits nach 30 Tagen ein Rezidiv eingetreten (Tod der Mäuse schon 7 bzw. 8 Tage nach der Infektion). Zwei am 38. Tage nach der Behandlung mit Ohrblut geimpfte Mäuse starben nach 3 Tagen, ohne daß Trypanosomen in deren Herzblut nachweisbar waren. Jedoch konnte ich am 22. und 25. Mai 1911, also 12 Wochen nach der Trypaflavinbehandlung durch Mäuseimpfung abermals das Vorhandensein von Trypanosomen in der Blutbahn von Rind 10 feststellen. Im Blut der Mäuse ließen sich nämlich vor und nach deren Tod (12 bzw. 13 Tage nach der Impfung) reichlich Trypanosomen nachweisen. Es ist also wohl anzunehmen, daß die Trypanosomen seit Feststellung des Rezidives (1. April) nicht wieder aus der Blutbahn des Rindes 10 verschwunden sind.

Ich möchte noch bemerken, daß es in den am 7. Mai 1911 von Rind 10 angelegten Blutbouillonröhrchen wieder wie im Sommer 1910 gelang, Kulturflagellaten nachzuweisen, nachdem dieselben während der Wintermonate aus der Blutbahn verschwunden waren.

Die Trypaflavinbehandlung hat also in dem Heilversuch bei Rind 10 ein wenig günstiges Ergebnis geliefert; denn es erfolgte weder eine augenblickliche, noch eine dauernde Befreiung der Blutbahn von Trypanosomen, indem diese noch 6 Stunden nach der Behandlung nachzuweisen waren, und bereits nach 30 Tagen ein Rezidiv eintrat (bei 0.01 g^{mm} pro Kilogramm Lebendgewicht).

Auch dürfte die Anwendung des Mittels für praktische Zwecke nicht empfehlenswert sein, sofern die bei Rind 10 beobachtete starke örtliche Reizwirkung der Injektion der 0.4prozentigen Trypaflavinlösung sich auch in weiteren Versuchen zeigen sollte.

III. Infektionsversuche bei Rind 3 und 6.

Im nachstehenden sollen die Versuche an Rind 3 und 6 wegen ihres abweichenden Verhaltens gegenüber der Trypanosomeninfektion besonders besprochen werden.

Bei den früheren Versuchen von Knuth und Rauchbaar (1) war Rind 3 viermal (im Oktober und November 1909) und Rind 6 einmal (7. April 1910) erfolgreich mit Naganatrypanosomen infiziert worden. Die Infektion wurde von den Tieren selbständig überwunden, so daß die Trypanosomen 8 Wochen bzw. 6 Monate nach der Infektion aus der Blutbahn verschwunden waren und, soweit die im ganzen auf 11 bzw. 6 Monate (bis Oktober 1910) ausgedehnte Beobachtungszeit ergab, auch nicht wiederkehrten.

Bei den von mir geplanten Versuchen sollte Rind 3 als Kontrolltier und Rind 6 zu Heilversuchen dienen.

Rind 3 und 6 befinden sich bei guter Gesundheit und in mäßigem Nährzustand. Das Lebendgewicht beträgt bei Rind 3 während der Dauer der Versuche 436 bis 442 kg, bei Rind 6 am 1. März 1911 380 kg.

Die am 6. Januar 1911 erfolgte Infektion von Rind 3 mit dem Blut einer naganatrypanosomenhaltigen Maus blieb erfolglos, wie die am 16. Januar vorgenommene Mäuseimpfung auswies. Ebenso endete die am 19. Januar 1911 in gleicher Weise wiederholte Infektion negativ (Mäusekontrollimpfung am 25. Januar). Allerdings fand ich 9 Tage nach der letzten Infektion (28. Januar 1911) im dicken Tropfenpräparat elliptische, öfter mit zwei Geißeln versehene Gebilde, die vielleicht Beziehungen zu Trypanosomen haben könnten. Jedoch blieben zahlreiche weitere Prüfungen auf Kulturflagellaten und Bluttrypanosomen resultatlos (Mäusekontrollimpfung am 30. Januar 1911).

In der Erwägung, daß vielleicht die bisher mit negativen Resultaten benützten Naganatrypanosomen aus der Maus zu wenig virulent seien, injizierte ich dem Rinde 3 am 27. Februar 1911 subkutan und intraperitoneal je 5^{cem} reichlich naganatrypanosomenhaltiges, mit steriler 0.9prozentiger Kochsalzlösung verdünntes Blutzentrifugat von Rind 10, das zu jener Zeit zahlreiche Trypanosomen in der Blutbahn aufwies.

Obwohl nun 6 Tage nach dieser Infektion im dicken Tropfenpräparat von Ohrblut des Rindes 3 abermals runde, mit zwei Geißeln versehene Gebilde vorhanden waren, ließen sich weder durch wiederholte Mäuseimpfung (am 27. Februar und 6. März 1911), noch durch zahlreiche Kultur- und Blutpräparatprüfungen späterhin Kulturflagellaten oder Bluttrypanosomen nachweisen.

Schließlich injizierte ich dem Rind 3 intraperitoneal am 14. und 20. März 1911 nochmals je 50^{cem} defibriniertes, zahlreiche Trypanosomen enthaltendes Blut von Rind 4.

Aber auch auf diese Injektion reagierte das Tier in keiner Weise, wie auch die Mäusekontrollimpfungen zeigten. Trotzdem waren vom 2. Tage nach der letzten Infektion an 5 Tage lang, sowie nochmals am 10. Tage geißellose bzw. zahlreiche ein- und besonders zweigeißelige Kugelformen im dicken Tropfenpräparat zu finden.

Bei Rind 6, in dessen Blut im Sommer 1910 Kulturtrypanosomen in der bekannten Weise nachweisbar waren, sollte versucht werden, ob es empfänglich ist für die von P. Behn¹ in deutschen Rindern entdeckten Trypanosomen, die sich nach den bisher in der Tropenabteilung des Institutes gesammelten Erfahrungen leicht auf Rinder übertragen lassen.

Zu diesem Zwecke wurden dem Rind 6 am 30. Januar 1911 75^{cem} defibriniertes, filtriertes und mit steriler 0.9 prozentiger Kochsalzlösung verdünntes Blut von einem Kalb (Nr. 11) intravenös eingespritzt.

Jedoch ließen sich durch die 4 Wochen lang fortgesetzten Blutuntersuchungen weder Bluttrypanosomen im hängenden Tropfen, färberisch oder durch Mäuseimpfung, noch Kulturflagellaten in Blutbouillonröhrchen nachweisen.

Die Infektion von Rind 6 mit den von P. Behn entdeckten Trypanosomen ist daher nach 4 wöchentlicher Prüfung als erfolglos anzusehen. Es muß hiernach angenommen werden, daß Rind 6 gegen diese Trypanosomen einen hohen Grad von Resistenz besitzt.

Nun versuchte ich Rind 6 genau wie Rind 3 mit Naganatrypanosomen zu infizieren, indem ich ihm am 27. Februar 1911 subkutan 5^{cem} Blutzentrifugat von Rind 10 einspritzte. Da hiernach keine Trypanosomen in der Blutbahn nachweisbar waren (Mäusekontrollimpfung am 6. und 13. März 1911), injizierte ich dem Rind 6 intraperitoneal am 14. März 1911 50^{cem} und am 20. März 100^{cem} defibriniertes Blut von Rind 4.

Aber bei Rind 6 waren auch nach diesen wiederholten und großen Injektionen ebenfalls keine Naganatrypanosomen im Blut nachzuweisen (Mäusekontrollimpfung am 24. März 1911).

Sehr auffällig war auch hier wieder die Feststellung, daß sowohl am 3. Tage nach der ersten, als auch vom 1. bis 6. Tage und am 10. Tage nach der letzten Infektion des Rindes 6 erst spärliche, dann zahlreiche geißellose, sowie ein- und zweigeißelige Kugelformen im dicken Tropfenpräparat auftraten.

¹ Vgl. P. Behn, Gehen die bei Rindern kulturell nachweisbaren Flagellaten aus Trypanosomen hervor? *Diese Zeitschrift*. Bd. LXX.

Da nach Fellmer (57) Igel für die Naganainfektion besonders empfänglich sein sollen, habe ich — um zugleich die Infektiosität der Kugelformen zu prüfen — außer Mäusen (am 24. März und 25. Mai 1911) auch einen Igel zur Impfung verwendet. Ich injizierte ihm am 26. März 1911, also 6 Tage nach der letzten Infektion des Rindes 6 subkutan 6 ^{cem}, vorher verdünntes Blutzentrifugat von diesem Tier. Aber trotz der am 4. April 1911 wiederholten Impfung des Igels ließen sich in seinem Ohrblut weder Trypanosomen noch Kugelformen feststellen. Ebenso resultatlos verliefen die Blutuntersuchungen bei Rind 6 mittels der Mäuseimpfungen und im Kulturversuch.

Wichtig ist es aber, hier zu bemerken, daß später durch weitere Untersuchungen im Institut in den am 7. Mai 1911 mit Blut von Rind 6 angelegten Blutbouillonkulturen wieder Kulturflagellaten festgestellt wurden.

Da bei der am 30. Mai 1911 vorgenommenen Schlachtung im Blut von Rind 6 weder Bluttrypanosomen vom Typus Behn, noch Naganatrypanosomen gefunden wurden, geht aus dem Versuche also hervor, daß sich Rind 6 beiden Trypanosomenarten gegenüber vollständig refraktär verhielt.

Worin war nun dieses auffällige Verhalten von Rind 3 und 6 gegen die Infektionsversuche mit Naganatrypanosomen vom Stamme „Ferox“ begründet?

Bei den Versuchen von Knuth und Rauchbaar (1) hatte sich bei Rind 3 und 6 eine künstliche Infektion mit dem Naganastamm „Ferox“ ebenso leicht wie bei den übrigen Versuchstieren, beispielsweise Rind 2 und 4, erzielen lassen. Rind 2 und 4, die damals chemotherapeutisch behandelt worden waren, konnte ich auch in meinen eigenen Versuchen wieder mit dem Naganastamm „Ferox“ ohne Schwierigkeit infizieren. Bei Rind 3 und 6, die damals die künstliche Infektion selbständig überwunden haben, gelang dagegen keiner meiner Infektionsversuche. Sie haben also offenbar durch das selbständige Überwinden der Infektion vom Oktober und November 1909 (Rind 3) bzw. 7. April 1910 (Rind 6) eine hohe Resistenz gegen den beide Male benützten Naganastamm „Ferox“ erworben. Man darf daher wohl annehmen, daß Rind 3 und 6 durch meine wiederholten Einspritzungen reichlicher Mengen infektiösen Blutes von Mäusen und Rindern künstlich immunisiert worden sind.

Eine Prüfung auf Schutzkraft des Blutserums dieser beiden Tiere gegen die Naganainfektion mit Stamm „Ferox“ ergab bei weißen Mäusen den Kontrollversuchen gegenüber keine bemerkenswerten Resultate.

IV. Auftreten kugeliger Trypanosomenformen im Blut der Versuchsrinder (vgl. hierzu Taf. II).

Literatur.

„Kugelige Trypanosomenformen“ sind von zahlreichen Autoren unter sehr verschiedenen Namen (Kugel-, amöboide-, Kaulquappen-, Entwicklungs-, Dauer-, Ruhe-, Involutions-, Reduktions- und Degenerationsformen; latente Körper, Cysts) besprochen worden. Aus den Bezeichnungen ist bereits zu ersehen, daß sie einerseits als „Entwicklungsformen“ der Trypanosomen [Plimmer und Bradford (38), Durkant und Holmes (39), Holmes (40), Salvin-Moore und Breinl (41), Neumann (42), Fantham (43), Jaffé (44), Buchmann (45), Höhnel (55. Dauerformen!)], andererseits als „Degenerationsformen“ [Laveran und Mesnil (46), Nuttall (47), Hindle (48), Swellengrebel (49), Jowett (50), Nocht und Mayer (51)] aufgefaßt werden.

Für die erste Auffassung würde die von mehreren Verfassern [Fantham bzw. Halberstädter (52), B. Moore, Nierenstein und Todd (53)] beobachtete Infektiosität der fraglichen Gebilde bzw. von Blut, in dem keine flagellaten Trypanosomen vorhanden waren, für die zweite das scheinbar an die Einwirkung ungünstiger Lebensbedingungen (chemotherapeutische Behandlung) gebundene Auftreten der Kugelformen [Laveran und Mesnil, Nuttall, Wendelstadt (54), Hindle und Jowett] sprechen.

Die „Entwicklungsformen“ sollen nach Plimmer und Bradford (bei *Trypanosoma brucei*), sowie Holmes (bei *T. evansi*) im Verlauf eines Konjugationsprozesses entstehen, wobei sich nach Zerfall der Trypanosomen die „amöboiden Formen“ oder „latenten Körper“ (Salvin-Moore) bilden, welche wahrscheinlich im Knochenmark und in der Leber verbleiben, um sich später wieder zu flagellaten Organismen zu entwickeln. Auch Fantham bespricht eingehender die Umwandlung der fraglichen Gebilde zu flagellaten Trypanosomen und umgekehrt. Neumann schildert die im Blut von Meeresfischen gefundenen, als Entwicklungsstadien angesehenen Gebilde nach Form und Aufbau ausführlicher. Bei den von ihm als „Rückbildungsformen“ bezeichneten, geißellosen Gebilden fand er öfter eigentümlich langgestreckte und kommaförmige, sowie nicht selten auch zwei Blepharoblasten, was nach ihm schon als Ausdruck beginnender Teilung anzusehen ist.

Martini (56), Jaffé (44) und Fellmer (57) beobachteten erhebliche Formverschiedenheiten der Trypanosomen nach Passagen in denselben oder verschiedenen Tierarten; jedoch sieht Fellmer sie als normale Befunde an und führt sie nicht auf den Einfluß der Tierpassage zurück.

Von anderer Seite (Nuttall, Mesnil und Nicolle (58), Thomas (59), Hindle, Swellengrebel) wurde neben der Veränderung der äußeren Form der Trypanosomen (Einziehen des schnabelförmigen Hinterendes) das Auftreten der von zerfallendem Kernchromatin stammenden, kreisrunden, dunkelgefärbten, rötlichen bis purpurroten Granula im Protoplasma (besonders dem Geißelende zu) nach chemotherapeutischer Behandlung festgestellt. Ähnliche Veränderungen der Trypanosomen sind in sterbenden, unbehandelt gelassenen Tieren beobachtet worden. Mit fortschreitender Auflösung der Parasiten verschwinden auch die Granula (Nuttall).

Watson (60) weist auch auf die Verwechslungsmöglichkeit von gewissen sogenannten: „Entwicklungsformen“, wie solche von Holmes und Lingard sowie Raymond (nach Martin) im Blute von Rindern beobachtet wurden, mit Sporen von Sarkosporidien, besonders den „halbmondförmigen Körpern“ hin.

Im nachstehenden Abschnitt sollen die im Blute der Versuchsrinder Nr. 2, 3, 4, 6 und 10 aufgetretenen und kurz als „kugelige Trypanosomenformen“ bezeichneten rundlichen Gebilde näher besprochen werden. Die Benennung „kugelige Trypanosomenformen“ wählte ich in der Erwägung, daß dieselben nach ihrem Aussehen Beziehungen zu den Trypanosomen haben könnten.

Nachdem durch die vor der Trypanosomeninfektion der Rinder 2, 3, 4, 6 und 10 vorgenommenen Prüfungen weder Naganatrypanosomen, noch Trypanosomen vom Typus theileri (vgl. Versuche von P. Behn)¹, noch Kulturflagellaten nachweisbar waren, entdeckte ich zu verschiedenen Zeiten nach der Trypanosomeninfektion, gelegentlich der Blutuntersuchungen bei den Infektions- und Heilversuchen, im Blute obiger Rinder (in dicken Tropfenpräparaten) die in Frage stehenden kugeligen Trypanosomenformen.

Zum ersten Male fand ich solche am 28. Januar 1911 bei dem am 6. und 19. Januar ohne Erfolg mit Naganatrypanosomen infizierten Kontrollrind 3. In dem nach Giemsa gefärbten dicken Tropfenpräparat traten zahlreiche elliptische (seltener bohnenförmige) und öfter mit zwei kurzen, parallel verlaufenden Geißeln versehene Gebilde auf. Ihre Größe schwankt zwischen 6 bis 10 μ Länge und 4 bis 6 μ Breite. Der reichlich vakuolisierte Protoplasmakörper ist hellblau gefärbt. Der Kern zeigt sehr verschiedene Größe (bis 4 μ) und Form (rund, oval, länglich, bohnenförmig). Seine Farbe ist karmin- bis dunkelrot. Häufig liegen im Proto-

¹ A. a. O.

plasma in ungleichmäßiger Verteilung zahlreiche kleinere Chromatingranula, die oft von einem hellen Hof umgeben sind. Der Blepharoblast ist daher vielfach nur an seiner dunklen, karminroten Färbung erkenntlich. Ein solches geißellooses, sowie ein zweigeißeliges Gebilde von beschriebener Form ist in Taf. II, Figg. 1 und 2 wiedergegeben.

Alsdann fand ich 6 Tage nach der Infektion vom 27. Februar 1911 runde, zweigeißelige und am 2. Tage nach der Infektion des Rindes 3 vom 20. März 1911 abermals 5 Tage hindurch runde, geißellose bzw. zahlreiche ein- und besonders zweigeißelige Formen. Sehr reichlich waren sie vor allem am 3. und 4. Tage nach der letzten Infektion im dicken Tropfenpräparat nachzuweisen. Ebenso waren am 10. Tage nochmals Geißelformen in geringer Zahl vorhanden. Der Protoplasmaleib dieser Kugelformen ist schön blau gefärbt und in den meisten Fällen ebenfalls vakuolisiert. Außer dem gewöhnlich runden Kern und Blepharoblasten finden sich meist noch rotgefärbte Chromatingranula, die wieder öfter von einem hellen Hof umgeben sind. Die Geißel geht teils deutlich vom Blepharoblasten aus, teils läßt sich ein Zusammenhang mit diesem nicht nachweisen. Solche ein- und zweigeißelige Kugelformen sind in Taf. II, Figg. 3 und 4 abgebildet.

Bei Rind 6, das sich gegenüber dem Naganastamm „Ferox“, sowie den Trypanosomen vom Typus Behn refraktär verhielt und deshalb der geplanten chemotherapeutischen Behandlung nicht unterzogen wurde, entdeckte ich am 3. Tage nach der Infektion mit Naganatrypanosomen, gelegentlich der Untersuchung von dicken Tropfenpräparaten aus Ohrblut, die rundlichen Trypanosomenformen zum ersten Male. Es waren scharf konturierte, geißellose, elliptische Gebilde, die je einen Kern und Blepharoblasten, sowie auch Vakuolen besaßen.

Nach der zweiten Infektion des Rindes 6 fand ich bereits am folgenden Tage spärliche, geißellose, runde Formen. Seltener war das Vorkommen von elliptischen Formen, wie sie Taf. II, Fig. 7 zeigt, obwohl am 2. Tage nach der Infektion das Bild schon ein sehr mannigfaltiges war. Es liegen bei dieser elliptischen Form im scharf konturierten, dunkelblauen und vakuolisierten Protoplasmakörper ein runder Hauptkern, sowie in den hellen Stellen (Vakuolen?) zwei längliche Blepharoblasten bzw. Chromatinkörner. Daneben sind schöne geißellose runde Formen von eben beschriebenem Aufbau vorhanden. So zeigt Taf. II, Fig. 8 eine solche, die sich durch den kommaförmigen, dunkelrotgefärbten Blepharoblasten auszeichnet. Besonders zahlreich waren an diesem Tage vor allem die ein- und zweigeißeligen runden Formen festzustellen. Der Aufbau des Protoplasmakörpers ist der für die geißellosen bereits geschilderte. Der Verlauf der Geißeln ist verschieden. Bei den zwei-

geißeligen Formen gehen meist beide Geißeln von derselben Stelle aus, wobei die eine häufig der Peripherie des Protoplastmakörpers entlang läuft, und zwar sehr oft in deren ganzem Umfang. Auch bei eingeißeligen ist dies oft zu beobachten. Vom 3. Tage nach der Infektion an nahm die Zahl der Kugelformen immer mehr ab, so daß sie 3 Tage später verschwanden und erst am 10. Tage nochmals, aber in weniger scharf ausgebildeter Form nachzuweisen waren.

Bei Rind 10, das am 19. Februar 1911 mit Naganatrypanosomen infiziert worden war, tauchten 4 Tage nachher, ebenfalls ohne daß eine chemotherapeutische Behandlung des Tieres stattgefunden hatte, die in Frage stehenden Kugelformen auf. Es waren teils geißellose, teils ein- und zweigeißelige Formen mit gewöhnlich rundem Kern und Blepharoblasten, die im Aufbau mit den bereits beschriebenen übereinstimmen (vgl. Taf. II, Figg. 3 und 4). Der Zahl nach sind die zweigeißeligen ebenso reichlich oder selbst in Überzahl vorhanden gegenüber den eingeißeligen. Bei einem Teil der zweigeißeligen geht die eine Geißel an derselben Stelle ab vom Protoplastmakörper, wie die zweite; bei dem anderen Teil scheinen die Geißeln von gegenüberliegenden Polen derselben in gerade entgegengesetzter Richtung auszulaufen (Taf. II, Fig. 4). Auch beobachtete ich einige Formen, die sich von obigen dadurch unterschieden, daß von dem weniger deutlich gegen die Umgebung abgegrenzten Protoplastmakörper ringsum Geißeln in größerer Zahl ausgingen. Taf. II, Fig. 5 zeigt eine Form mit birnförmig gestaltetem Protoplastmakörper, in dem ein langer, stäbchenartiger Kern, dunkelrote Blepharoblasten und Chromatingranula nebst reichlichen Vakuolen liegen. Von dem spitz auslaufenden Teil des Protoplastmakörpers gehen vier Geißeln aus.

Noch zahlreicher waren die Kugelformen am 6. Tage nach der Infektion des Rindes 10 vorhanden, wurden aber Tags darauf schon spärlicher und am 8. Tage waren bereits die schlanken Trypanosomenformen reichlich nachzuweisen. Kugelformen waren dann nicht mehr zu finden.

Unter den am 7. Tage entdeckten Kugelformen zeigte eine geißellose folgende Besonderheit (Taf. II, Fig. 6). In dem runden, im dicken Tropfen hellblau gefärbten und schwach vakuolisierten Protoplastmakörper liegen ziemlich benachbart zwei verhältnismäßig große, runde Kerne. Der zwischen denselben liegende Teil des Protoplastmas ist etwas heller gefärbt als der übrige, so daß es auf den ersten Blick den Anschein hat, als ob hier kein Zusammenhang im Protoplastmaleib bestände. Den Kernen diametral gegenüber liegt, ebenfalls in der Nähe der Peripherie des Protoplastmakörpers, scharf abgegrenzt ein kommaförmiger, dunkelrotgefärbter Blepharoblast. Solche langgezogene und kommaförmige Blepharoblasten

beobachtete ich öfter, ohne daß am Kern Teilungserscheinungen festzustellen gewesen wären.

Jedoch traten bei Rind 10 die Kugelformen nicht bloß vor der chemotherapeutischen Behandlung auf, sondern der Befund wiederholte sich bereits 31 Stunden nach der am 2. März 1911 erfolgten Trypaflavinbehandlung. Ich entdeckte zu dieser Zeit im dicken Tropfenpräparat aus Ohrblut von Rind 10 dicht beisammenliegend drei eingeißelige Kugelformen mit dunkelblau gefärbtem, dichtem Protoplasmakörper und je einem größeren und kleineren rotgefärbten Kern (ähnlich den Abbildungen bei Jowett). Am 2. Tage nach der Trypaflavinbehandlung fand ich noch eine länglich runde Form mit Vakuolen und einem größeren Kern in hellem Hof. 20 Tage nachher traten wieder zahlreichere geißellose und 28 Tage nach der Behandlung nochmals eingeißelige, sowie mitunter auch zweigeißelige Kugelformen im dicken Tropfenpräparat auf.

Im Blut von Rind 4 ließen sich bei der Untersuchung der dicken Tropfenpräparate trotz der wiederholten Infektion die kugeligen Trypanosomenformen vor der chemotherapeutischen Behandlung niemals feststellen.

Dagegen fanden sich schon 2 Stunden nach der am 20. März 1911 ausgeführten Behandlung des Rindes 4 mit Salvarsan (0.005 grm pro Kilogramm Lebendgewicht) schöne geißellose, sowie ein- und besonders zweigeißelige Kugelformen im dicken Tropfenpräparat. Dieselben stimmen im Aufbau mit den vor der Behandlung mit Heilmitteln bei Rind 10, sowie bei Rind 3 und 6 aufgetretenen vollkommen überein (vgl. Taf. II, Fig. 3). Auch in den 3 und 6 Stunden nach der Behandlung mit Ohrblut angefertigten dicken Tropfenpräparaten waren die verschiedenen Kugelformen nachweisbar, u. a. auch solche, die gleichzeitig zwei Geißeln, zwei Kerne und zwei (bzw. drei) Blepharoblasten besaßen. Während 19 und 28 Stunden nach der Salvarsanbehandlung vorwiegend geißellose Formen im dicken Tropfenpräparat vorhanden waren, fand ich am 2., 3. und 4. Tage nach derselben besonders die Geißelformen wieder zahlreich. Später konnte ich keine Kugelformen mehr finden.

Endlich traten auch bei dem am 7. Februar 1911 mit Salvarsan (0.01 grm pro Kilogramm Lebendgewicht) behandelten Rind 2 am 17. März 1911, also erst 38 Tage später, im dicken Tropfenpräparat spärliche, geißellose und am folgenden Tage auch eingeißelige runde Formen auf. Am 23. und 24. März entdeckte ich zahlreiche ein- und zweigeißelige Kugelformen, die jedoch am 25. März spärlicher und am 26. März überhaupt nicht mehr zu finden waren. Erst im dicken Tropfenpräparat vom 28. und 30. März waren wieder geißellose Formen, sowie auch in geringer Anzahl Geißelformen vorhanden. Ferner fand ich an letzterem Tage ein rundes Gebilde, das von der undeutlich gegen die Um-

gebung abgegrenzten Peripherie des Protoplasmaleibes in ziemlich gleicher Entfernung voneinander drei Geißeln auszusenden schien.

Es sei nun noch kurz eine längsrunde bzw. schmalelliptische, mit zwei (und selbst drei) Geißeln ausgestattete Form besprochen (Taf. II, Figg. 9 und 10), die ich neben den bereits erwähnten im dicken Tropfenpräparat vom 23. März feststellte. Die in Taf. II, Fig. 9 wiedergegebene Form besitzt einen mehr fein vakuolisierten, hellblaugefärbten Protoplasmakörper, sowie einen großen runden Hauptkern, einen deutlichen Blepharoblasten und zwei scheinbar von den Polen ausgehende Geißeln. Eine in Taf. II, Fig. 10 abgebildete Form zeigt einen dunkler gefärbten Protoplasmakörper mit größeren Vakuolen, einen länglichrunden Hauptkern und zwei deutliche, kleine Blepharoblasten, von denen die feinen Geißeln ausgehen. Bei einem weiteren, den beiden vorigen im Präparate ganz benachbart gelegenen Gebilde, war der Verlauf der drei Geißeln durch den Protoplasmakörper hindurch zu verfolgen.

Aus meinen Befunden ergibt sich also, daß die rundlichen Trypanosomenformen in der Blutbahn der fünf Versuchsrinder zu verschiedenen Zeiten nach der Trypanosomeninfektion auftraten, und zwar sowohl ohne daß zuvor eine chemotherapeutische Behandlung der Tiere stattgefunden hatte (bei Rind 3, 6 und 10), als auch nach einer solchen (bei Rind 2, 4 und 10).

Hervorheben möchte ich noch, daß die wiederholten Versuche, mit Blut der Versuchsrinder zur Zeit, in der die rundlichen Formen im dicken Tropfenpräparate nachzuweisen waren, durch Verimpfung auf Mäuse bzw. einen Igel, eine Trypanosomeninfektion zu erzielen und in Blutbouillonkulturen Trypanosomen zu züchten, niemals erfolgreich waren.

Bedeutung der rundlichen Trypanosomenformen.

Sofern die in Frage stehenden rundlichen Gebilde zu den Trypanosomen Beziehung haben — was ich auf Grund ihres Aufbaues und der in der Literatur verzeichneten Befunde annehme — fragt es sich nun:

„Welche Bedeutung ist den kugeligen Formen hinsichtlich der Trypanosomen beizumessen?“

Wie aus den Literaturangaben ersichtlich ist, werden diese rundlichen Formen zurzeit einerseits als „Degenerationsformen“, andererseits als „Entwicklungs- bzw. Dauerformen“ aufgefaßt.

Ich selbst möchte auf Grund meiner Beobachtungen die Ursache ihres Auftretens hauptsächlich in der Einwirkung ungünstiger Lebensbedingungen auf die Trypanosomen (Tierpassage, chemotherapeutische Behandlung) suchen, wie dies besonders auch Laveran und Mesnil (46) an-

genommen haben. Denn aus meinen Versuchen geht hervor, daß das Auftreten der Kugelformen unter sehr verschiedenen Verhältnissen zu beobachten war.

So konnte ich sie in der peripheren Blutbahn der Versuchsrinder 3, 6 und 10 regelmäßig wenige Tage nach der Trypanosomeninfektion, aber ohne daß eine chemotherapeutische Behandlung stattgefunden hatte, nachweisen.

Bei diesen Tieren wurden sie wohl in erster Linie durch den Einfluß der „Tierpassage“ hervorgerufen. Denn die Übertragung der Naganaparasiten von einer Tierart auf eine andere, insbesondere von Maus auf Rind, dürfte eine eingreifende Beeinträchtigung der Lebensbedingungen darstellen, die sie vielfach nicht überstehen (Übertragung auf Vögel). Auch die Passage in derselben Tierart (von Rind zu Rind) ist wohl keine gleichgültige Veränderung der Lebensbedingungen. Bei Rind 3 und 6 könnte außerdem die vorhandene hohe „Resistenz“ gegen den Naganastamm „Ferox“ das Entstehen der Kugelformen mitbedingt haben. Bemerkenswert ist noch bei Rind 10 das sofortige Verschwinden derselben beim Erscheinen der Naganatrypanosomen in der Blutbahn.

Andererseits ist bei den Versuchsrindern 2, 4 und 10 das Auftreten der fraglichen Formen in der peripheren Blutbahn offenbar auf die direkte oder indirekte Einwirkung der angewandten chemischen Heilmittel zurückzuführen. Solche Beobachtungen sind auch von Laveran und Mesnil, Jowett u. a. gemacht worden.

Besonders bei Rind 4 ist das erstmalige und sehr zahlreiche Erscheinen der Kugelformen unmittelbar nach der therapeutisch nicht genügend wirksamen Salvarsanbehandlung (später Rezidiv!) auffällig. Ebenso ist bei Rind 10 als Entstehungsursache „nach der Behandlung“ alsbald nach Verschwinden der Naganatrypanosomen aus der peripheren Blutbahn die zur Heilung nicht genügende Trypaflavinwirkung anzusehen.

Dagegen muß das Auftreten der rundlichen Formen in chemotherapeutisch behandelten Tieren zu einer Zeit, zu der das Heilmittel schon wieder vollständig aus dem Körper ausgeschieden ist, wie dies bei Rind 2 und 10 1½ Monate, bzw. 20 Tage nach der Behandlung anzunehmen ist, wohl durch eine indirekte Wirkung desselben verursacht worden sein.

Wie nämlich die Infektionsversuche von Schilling u. a. bei chemotherapeutisch behandelten Tieren ergeben haben, scheint durch die Behandlung im Körper ein Zustand geschaffen zu werden (partielle Immunität nach Schilling; Auslösung trypanozider Schutzkräfte), der das Auftreten der Trypanosomen in der Blutbahn verhindert. Es wäre also hierdurch das Entstehen der Kugelformen besonders bei Rind 10 erklär-

lich, da in diesem Tiere noch Naganatrypanosomen vorhanden waren, wie aus dem bald nachher eingetretenen Rezidiv zu schließen ist.

In jedem Falle hat es den Anschein, als ob das schädigend wirkende Moment, welcher Art es auch sei (Tierpassage, chemisches Heilmittel, Immunkörper) die Trypanosomen beeinflusse, und zwar teils im ausgewachsenen Zustand, teils schon im Entwicklungsstadium. Die Teilungserscheinungen (z. B. 2 Geißeln, 2 Hauptkerne, 2 Blepharoblasten) an den Kugelformen lassen sich dann, wie auch Laveran (46) angenommen hat, dadurch erklären, daß ein im Teilungsprozeß begriffenes Trypanosoma durch Einwirkung der ungünstigen Lebensbedingungen den kugelförmigen Protoplasmakörper annahm. Die fraglichen kugeligen Formen wären demnach veränderte erwachsene Trypanosomen, bzw. Entwicklungsformen derselben, die aber in der Regel die Infektiosität verloren haben. Es dürfte dies auch aus meinen negativ verlaufenen Infektionsversuchen bei Mäusen, bzw. beim Igel geschlossen werden. Allerdings sind von Fantham auch positiv ausgefallene Infektionsversuche mit Blut, das keine Flagellaten, wohl aber die bekannten Kugelformen enthielt, verzeichnet worden. Da jedoch mit dem Verlust der Infektiosität nicht notwendigerweise auch die Lebensfähigkeit verloren gehen muß, so ist es denkbar, daß die Kugelformen ihre früheren morphologischen und funktionellen Eigenschaften unter günstigeren Lebensbedingungen wieder erlangen können.

Ich bin daher der Meinung, daß die besprochenen rundlichen Formen als erwachsene, bzw. noch in Entwicklung (Teilung) begriffene Trypanosomen aufzufassen sind, die infolge Eintretens ungünstiger Lebensbedingungen (Tierpassage, Einwirkung von chemischen Heilmitteln und Immunkörpern) weitgehende regressive morphologische und funktionelle (Verlust der Infektiosität) Veränderungen erfahren haben.

Schließlich sei noch bemerkt, daß ich die Kugelformen in dünnen Blutausstrichen niemals sah, obwohl ich sie sorgfältig daraufhin geprüft habe. Trotzdem ich im frischen Blutpräparate fragliche Kugelformen ebensowenig bemerkte, glaube ich dennoch nicht, daß sie außerhalb des Tierkörpers, wie Nocht und Mayer annehmen, vielleicht bei Herstellung des dicken Tropfenpräparates erst entstanden sind, da ich in diesem die Nagana-parasiten stets in schöner, typischer Form vorfand, und die fraglichen Gebilde sich bei ihrer geringen Größe wohl auch nicht bemerkenswert verändert haben werden. Außerdem sah ich bei Rind 10 die typischen Trypanosomenformen direkt im Anschluß an die Kugelformen auftreten.

Eine Verwechslung der elliptischen, bzw. bohnenförmigen „geißeltragenden“ und zahlreiche rotgefärbte Granula enthaltenden Gebilde (Taf. II, Fig. 2) mit den Sporen der Sarkosporidien ist wohl sicher aus-

zuschließen, während „geißellose“ Formen, wie sie Taf. II, Fig. 1 zeigt, allerdings eine gewisse Ähnlichkeit mit den Sichelkeimen der Sarkosporidien (der halbmondförmigen Körper Watsons) besitzen. Immerhin stimmt aber der Aufbau dieser geißellosen Gebilde so gut mit dem der geißeltragenden Trypanosomen überein, daß hier wohl eine Zusammengehörigkeit angenommen werden muß.

Ich möchte an dieser Stelle noch darauf hinweisen, daß sämtliche bei meinen Versuchen benutzten Rinder, nachdem sie seit Oktober 1909 (Nr. 1, 2, 3), bzw. April 1910 (Nr. 4, 6), bzw. Juli 1910 (Nr. 10) im Versuch standen, am 30. Mai 1911 geschlachtet worden sind. Über die Untersuchung der inneren Körperorgane auf das Vorhandensein von Trypanosomen, bzw. Kugelformen wird später von anderer Seite berichtet werden.

V. Zusammenfassung.

Meine Untersuchungen haben folgendes ergeben:

I. Die chemotherapeutische Behandlung der experimentellen Trypanosomiasis der mit dem Naganastamm „Ferox“ künstlich infizierten Rinder

1. mit Arsenophenylglyzin (Ehrlich) in Kombination mit Brechweinstein ist wegen der hohen, zur Heilung erforderlichen Dosen mit großer Gefahr für das Leben der Behandlungstiere verbunden. Der pathologisch-anatomische Befund bei dem infolge der Arsenophenylglyzin-Brechweinsteinbehandlung (2 Stunden später) gestorbenen Rind 1 bestand, wie bei den ebenso verendeten Rindern 5, 8 und 9 der früheren Versuche von Knuth und Rauchbaar, in Lungenödem und Blutgerinnseln in den feineren Bronchien, sowie in Blutungen in den Organen und Geweben (Herz, Milz, Niere, Thymus, Luftröhre und Bronchien).

2. Die Behandlung mit Salvarsan (Ehrlich) bewirkte das fast augenblickliche Verschwinden der Naganaparasiten aus der peripheren Blutbahn bei Rind 2 und 4 (innerhalb 2 Stunden). Vergiftungserscheinungen oder lokale Reizwirkung waren nach der intravenösen Salvarsaninjektion bei diesen Tieren nicht im geringsten zu beobachten. Bei Rind 2 trat nachher eine sehr schnell ansteigende Körpertemperatursteigerung ein (40.2°C), die innerhalb der 2 Tage nach der Injektion langsam, aber stetig auf die physiologische Grenze herabsank. Die Naganaparasiten konnten bei Rind 2, das mit 0.01 grm Salvarsan pro Kilogramm Lebendgewicht behandelt worden war, während des Lebens (4 Monate lange Beobachtungszeit) nicht mehr nachgewiesen werden. Dagegen war die Salvarsanbehandlung mit 0.005 grm pro Kilogramm

Lebendgewicht bei Rind 4 nicht von dauerndem Erfolg (Rezidiv nach 9 Wochen).

3. Die Behandlung mit Trypaflavin B (Ehrlich) ist wegen seiner ungenügenden Heilwirkung (bei intravenöser Anwendung von 0.01 ^{grm} pro Kilogramm Lebendgewicht) und besonders seiner starken örtlichen Reizwirkung wegen (Thrombophlebitis, ausgedehnte Phlegmone bei Rind 10) wenig aussichtsvoll.

II. Die Infektion des Rindes 4 mit Kulturflagellaten erwies sich als vollkommen erfolglos. Sie bewirkte weder das Auftreten von Bluttrypanosomen, noch von Kulturflagellaten.

III. Die Infektion des Rindes 6 mit Blut eines Kalbes, in dem sich weder Bluttrypanosomen, noch durch Züchtung in Blutbouillon nachweisbare Flagellaten fanden, das sich jedoch früher bei Überimpfung als infektiös erwiesen hatte (Auftreten von Bluttrypanosomen; vgl. Versuche von P. Behn), führte weder zum Auftreten von Bluttrypanosomen, noch von Kulturflagellaten.

IV. Die Rinder 3 und 6, die selbständig die künstliche Infektion mit dem Naganastamm „Ferox“ vollkommen überwunden hatten (bei den Versuchen von Knuth und Rauchbaer), verhielten sich noch nach 12, bzw. 9 Monaten gegen erneute Infektionsversuche mit demselben Trypanosomenstamm, bei Überimpfung großer Mengen Mäuse-, bzw. Rinderblutes, vollkommen refraktär und sind durch diese offenbar noch weiter künstlich immunisiert worden.

V. Die bei sämtlichen fünf teils chemotherapeutisch nicht behandelten, teils behandelten Versuchsrindern nach der künstlichen Infektion mit dem Naganastamm „Ferox“ in der peripheren Blutbahn (dicken Tropfenpräparat) aufgetretenen „kugeligen Trypanosomenformen“ dürften als erwachsene, bzw. in Entwicklung (Teilung) begriffene Trypanosomenformen aufzufassen sein, die durch ungünstige Einflüsse verschiedener Art (Tierpassage, chemische Heilmittel, Immunkörper) weitgehende regressive morphologische und funktionelle Veränderungen (Verlust der typischen Form und Infektiosität) erfahren haben.

Weder in den mit solchem Rinderblut subkutan geimpften Mäusen (bzw. Igel), noch in den hiermit angelegten Blutbouillonröhrchen ließen sich jemals Trypanosomen nachweisen.

Literatur-Verzeichnis.

1. Paul Knuth, Über die Ergebnisse von Behandlungsversuchen bei experimenteller Trypanosomiasis großer Tiere. *Verhandlungen des Deutschen Kolonialkongresses*. 1910. S. 356–369.
2. Claus Schilling, Sleeping Sickness News from Nyasaland. *Bulletin of Sleeping Sickness Bureau*. Nr. 15. und 25.
3. George Martin et Ringenbach, Premiers Résultats du Traitement de la Trypanosomiasis humaine par l'Arsenophenylglycine. *Bull. de la Soc. Path. Exot.* 1910. Nr. 4. p. 222–228.
4. B. Hodges, Report on the Experimental Treatment of Sleeping Sickness with Arsenophenylglycin in the Uganda Protectorate. *Bull. of Sleep. Sick. Bureau*. 1911. Vol. III. Nr. 28.
5. A. Broden, Briefliche Mitteilungen an Paul Ehrlich aus: Paul Ehrlich und S. Hata, *Die experimentelle Therapie der Spirilloxen*. Schlußbemerkungen von Ehrlich. 1910.
6. B. Eckard, Über therapeutische Versuche gegen die Trypanosomiasis des Menschen. *Archiv für Schiffs- u. Tropenhygiene*. 1909. S. 493–501. — 1910. S. 48 bis 51.
7. Ullrich, Die Behandlung Schlafkranker und die Wirkung der hierbei angewandten Arzneimittel in den Schlafkrankenlagern Kigarama u. Kishanje während der Zeit ihres dreijährigen Bestehens. *Ebenda*. 1911. Bd. XV. Nr. 2. S. 41–57.
8. Scherschmidt, Zur Behandlung der Schlafkrankheit mit Arsenophenylglyzin. *Deutsche med. Wochenschrift*. 1911. Nr. 7.
9. Wittrock, Über Arsenophenylglyzinbehandlungsversuche bei der Schlafkrankheit. Mitteilung von Taute in: *Behandlung der Schlafkrankheit* von Uhlenhuth. *Verhandlungen des Deutschen Kolonialkongresses*. 1910.
10. v. Raven und Zupitza, Berichte der Schlafkrankheitskommission in Togo über die Zeit vom 1. April 1909 bis 31. März 1911. *Amtsblatt für das Schutzgebiet Togo*. Von Oktober 1909 an.
11. Claus Schilling, Chemotherapeutische Versuche bei Trypanosomeninfektionen. *Archiv für Schiffs- u. Tropenhygiene*. 1909. Bd. XIII.
12. Claus Schilling und Josef Jaffé, Weitere chemotherapeutische Versuche bei Trypanosomeninfektionen. *Ebenda*. S. 525–534.
13. Paul Strong und Oskar Teague, The Treatment of Trypanosomiasis, with special reference to Surra. *Philipp. Journ. of Science, B. Med. Sc.* 1910. Nr. 1.
14. A. Breinl und M. Nierenstein, Beitrag zur Kenntnis des Arsenophenylglyzins. *Zeitschr. f. Immunitätsf. u. exper. Therapie*. 1909. Bd. IV. Teil I.
15. Miessner, Die Beschälseuche des Pferdes. *Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene*. 1909. Bd. XIII. Beihefte. S. 136.
16. Willy Zwick und Fischer, Untersuchungen über die Beschälseuche. I. Mitteilung. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. Bd. XXXVI. Hft. 1.
17. Eugen Fröhner, Die Behandlung der Beschälseuche mit Arsenophenylglyzin. *Berliner tierärztl. Wochenschrift*. 1910. Nr. 23.
18. A. Broden et J. Rodhain, Le traitement de la trypanosomiasis humaine. *Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene*. 1909. Bd. XIII.

19. G. Martin, Leboeuf et Ringenbach, Sur le traitement de la trypanosomiase humaine. *Bull. de la Soc. Path. Exot.* 1909. p. 308—313.
20. Dieselben, L'association atoxyl-émétique chez les malades du sommeil avancés. *Ebenda.* 1909. p. 620—624.
21. J. Kérandel, Un cas de trypanosomiase chez un médecin. *Ebenda.* 1910. p. 642—662.
22. C. N. B. Camac, Intramuscular and intravenous injections of antimony in Trypanosomiasis. *Brit. Med. Journ.* 1911. p. 104—105.
- 22a. Kudicke, Bekämpfung der Schlafkrankheit im Bezirk Bukoba am Viktoria-see (Deutsch-Ostafrika). *Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene.* Bd. XV. Hft. 21.
23. J. Holmes, Investigation of an outbreak of horse surra with result of treatment with atoxyl, tartaremetic, mercury and other drugs. *Journ. of Trop. vet. sciences.* 1908. Part. II. Vol. III.
24. Derselbe, The treatment of surra in horses by means of arsenic and its derivatives. Thirty-two cases of successful treatment. *Ebenda.* 1910. Vol. V. Nr. 1.
25. A. S. Leese, Summary of first results of experiments on treatment of surra in Camels. *Ebenda.* 1910. Vol. V. Nr. 1.
26. Derselbe, Second series of treatment of surra in Camels. *Ebenda.* 1910. Vol. V. Nr. 3.
27. A. Thiroux et L. Teppaz, Traitement des Trypanosomiasés chez les chevaux par l'orpiment seul ou associé à l'atoxyl ou à l'Emétique de Potasse. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1910. Nr. 3.
28. A. Broden et J. Rodhain, Action de l'émétique sur le Trypanosoma angolense (s. Casalbouii). *Bull. de la Soc. Path. Exot.* 1910. Nr. 4.
29. Morgenroth u. Rosenthal, Über die Wirkung des Antimons bei künstlicher Trypanosomeninfektion. *Berliner klin. Wochenschrift.* 1911. Nr. 2.
30. Louis Martin et Henri Darré, Trypanosomiase chez les Blancs. *Bull. de la Soc. Path. Exot.* 1908. p. 569.
31. Dieselben, Résultats éloignés du traitement dans la Trypanosomiase humaine. *Ebenda.* 1910. Nr. 5. p. 333—341.
32. H. G. Plimmer and H. R. Bateman, Further results of the experimental treatment of Trypanosomiasis, being a Progress Report to a Committee of the Royal Society. *Proceed. of the Royal Soc.* Series B. 1908. Vol. LXXX. Nr. B. 543.
33. Paul Ehrlich, Schlußbemerkungen in: Paul Ehrlich und S. Hata, *Die experimentelle Therapie der Spirillen.* Berlin 1910.
34. A. Broden, Briefliche Mitteilungen an Ehrlich. *Ebenda.* S. 158.
35. Theiler, Briefliche Mitteilung an Ehrlich. *Ebenda.*
36. Paul Ehrlich, Über Chemotherapie. Bericht über die 15. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie in der internationalen Hygieneausstellung in Dresden vom 8. bis 10. Juni 1911. *Centralblatt für Bakteriologie.* Beilage zu Abtlg. I. 1911. Referate.
37. Mc Donagh, Practical Experience with Ehrlich's new Specific for Syphilis. *West London Med. Journ.* 1911. p. 1—19.
38. H. G. Plimmer u. J. Rose Bradford, Vorläufige Notiz über die Morphologie und Verbreitung des in Tsetsekrankheit („Fly disease“ oder „Nagana“) gefundenen Parasiten. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1899. Orig. Bd. XXVI. S. 440—447.
39. Durkant and J. Holmes, A Trypanosoma found in Blood of Cattle in India. *Journ. of Comp. Path. and Therap.* 1904. Vol. XVII. Nr. 1.
40. J. Holmes, Evolution of the Trypanosoma evansi. *Ebenda.* Vol. XVII. 1.

41. J. E. Salvin-Moore and A. Breinl, The cytology of the Trypanosomes. *Ann. of Trop. Med. and Parasit.* 1907. Vol. I. Nr. 3.
42. R. O. Neumann, Studien über protozoische Parasiten im Blute von Meeresfischen. *Diese Zeitschrift.* 1909. Bd. LXIV. Mit Tafel IV.
43. H. B. Fantham, The life history of *Trypanosoma gambiense* and *Trypanosoma rhodesiense* as seen in rats and Guinea-pigs. *Proceed. of the Roy. Soc.* 1911. B. 563. p. 212—227.
44. Josef Jaffé Formveränderungen bei Trypanosomen der Nagana. *Centralblatt für Bakteriologie.* Abt. I. Orig. Bd. L.
45. George Buchmann, Note on Developmental Forms of *Trypanosoma brucei* (pecaudi) in the Internal Organs, Axillary Glands and Bone Marrow of the Gerber (Gerbillus pygargus). *Proceed. of the Roy. Soc.* 1911. B. 570.
46. A. Laveran et F. Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiasés.* 1904.
47. H. F. George Nuttall, The Degenerative Appearances, observed in *Piroplasma canis* and in *Trypanosoma brucei* following upon Drug treatment. *Parasitology.* 1910. Nr. 2.
48. Edward Hindle, Degeneration Phenomena of *Trypanosoma gambiense*. *Ebenda.* 1910. Bd. III. Nr. 4. p. 423—439.
49. N. H. Swellengrebel, Normal and abnormal Morphology of *Trypanosoma lewisi* in the blood of the rats. *Ebenda.* 1910. Bd. III. Nr. 4.
50. Walter Jowett, Further Note on Cattle Trypanosomiasis of Portuguese East-Afrika (Chapitre IV!). *Journ. of Comp. Path. and Therap.* 1911. Vol. XXIV. Part. I.
51. B. Nocht und Martin Mayer, Trypanosomen als Krankheitserreger. In Kolle-Wassermann's *Handbuch der pathog. Mikroorganismen.* 1907. Ergzbd. I.
52. Halberstädter, Untersuchungen bei experimentellen Trypanosomenerkrankungen. *Centralblatt für Bakteriologie.* 1905. Orig. Bd. XXXVIII.
53. B. Moore, M. Nierenstein und J. L. Todd, Concerning the Treatment of Experimental Trypanosomiasis. Part. II. *Ann. of Trop. Med. and Parasit.* 1908. Vol. II. Nr. 4.
54. Wendelstadt, Behandlung und einige Entwicklungsformen der Nagana-trypanosomen. *Diese Zeitschrift.* 1906.
55. F. Höhnelt, Über *Trypanosoma congolense*. *Archiv f. Schiffs- u. Tropenhygiene.* 1908. Bd. XII. (Beiheft 13.)
56. Erich Martini, Untersuchungen über die Tsetsekrankheit zwecks Immunisierung von Haustieren. *Diese Zeitschrift.* 1905. Bd. L.
57. Fellmer, Veränderungen der Naganatrypanosomen durch Igelpassage. *Centralblatt für Bakteriologie.* Abt. I. Orig. Bd. XLV.
58. F. Mesnil et Nicolle, Traitement des Trypanosomiasés par les couleurs de benzidine. II. Part.: Étude expérimentale. *Annales de l'Institut Pasteur.* 1906. XX. p. 513—538.
59. H. Thomas, Memoir XVI. *Liverpool School of Trop. Med.* 1905. p. 60.
60. E. A. Watson, Sarcosporidiosis. Its association with „Loco-Disease“ and Dourine, and the possibility of mistaking the Spores of *Sarcocystis* for certain so-called developmental forms of Trypanosomata. *Journ. of Comp. Path. and Therap.* 1909. Vol. XXII. Nr. 1. Mit Literaturangaben.
61. Aldo Castellani, Adult Forms and developmental forms of the Trypanosome found in Sleeping Sickness. *Royal Society Reports of the Sleeping Sickness Commission.* 1903. Nr. II.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. II.)

Fig. 1. Geißellose, elliptische (öfter auch bohnenförmige) Form aus Rind 3 vom 28. I. 1911, 9 Tage nach der letzten Trypanosomeninfektion. (Ähnlich den Sporen der Sarkosporidien.)

Fig. 2. Zweigeißelige, elliptische Form aus Rind 3 vom 28. I. 1911, ebenso 9 Tage nach der Trypanosomeninfektion vom 19. I. 1911.

Fig. 3. Eingeißelige Kugelform aus Rind 4 vom 21. III. 1911, 1 Tag nach der Salvarsanbehandlung.

Fig. 4. Zweigeißelige Kugelform aus Rind 10 vom 26. II. 1911, 6 Tage nach der Trypanosomeninfektion, aber vor der Trypaflavinbehandlung. (Nach Laveran: in beginnender Teilung begriffenes Trypanosoma, dessen Protoplastmakörper Kugelform annahm.)

Fig. 5. Viergeißelige Form aus Rind 10 vom 24. II. 1911, 4 Tage nach der Trypanosomeninfektion, aber vor der Trypaflavinbehandlung. (Agglomerationsform, wie sie Castellani [61] abbildet.)

Fig. 6. Geißellose Kugelform mit zwei großen Hauptkernen und einem kommaförmigen Blepharoblasten aus Rind 10 vom 26. II. 1911, 6 Tage nach der Trypanosomeninfektion, vor der Trypaflavinbehandlung.

Fig. 7. Geißellose, elliptische Form mit einem Hauptkern und zwei in einer Vakuole dicht beisammenliegenden, stäbchenartigen Blepharoblasten aus Rind 6 vom 22. III. 1911, 2 Tage nach der letzten Trypanosomeninfektion.

Fig. 8. Geißellose Kugelform mit einem großen Hauptkern und einem kommaförmigen Blepharoblasten aus Rind 6 vom 22. III. 1911, 2 Tage nach der letzten Trypanosomeninfektion.

Fig. 9 und 10. Zweigeißelige, schmalelliptische Formen mit je einem runden, bzw. länglichrunden Hauptkern und ein bzw. zwei Blepharoblasten aus Rind 2 vom 23. III. 1911, 1 $\frac{1}{2}$ Monate nach der Salvarsanbehandlung.

Die Figuren 6, 7, 8 und 10 sind nach Neumann wegen der Form und Zahl der Hauptkerne, bzw. Blepharoblasten, als „Teilungsformen“ aufzufassen.

Die Zeichnungen wurden unter Verwendung des Apochromaten und des Kompensationsokulars 6 des Zeiss'schen Mikroskopes von Hrn. Kunstmalers R. Landsberg mit Hilfe eines Zeichenapparates angefertigt. Sie sind eine genaue Wiedergabe der mikroskopischen Bilder.

1.

2.

3.

4.

5.

6.

7.

8.

9.

10.