[Aus dem Institut für Infectionskrankheiten zu Berlin.]

Ueber einen malariaähnlichen Blutparasiten bei Affen.

Von

Prof. H. Kossel.

(Hierzu Taf. V.)

Aus dem Studium der Blutparasiten bei Thieren hat die Forschung schon manche Anregung geschöpft, welche der Kenntniss der entsprechenden Schmarotzer beim Menschen zu Gute gekommen ist. So haben die Untersuchungen, welche in neuester Zeit von Ross über den Entwicklungsgang des Proteosoma der Vögel im Mosquito angestellt worden sind, feste experimentelle Grundlagen geschaffen für die Beantwortung der viel umstrittenen Frage nach dem Infectionsmodus bei der menschlichen Malaria. Jede Erweiterung unserer Kenntnisse von dem Vorkommen malariaähnlicher Blutparasiten bei Thieren ist schon deshalb wünschenswerth, weil sie uns die Möglichkeit der experimentellen Bearbeitung wichtiger Fragen näher rückt.

Aus diesem Grunde hat mich mein hochverehrter Chef, Herr Geheimrath R. Koch, im vergangenen Sommer beauftragt, einen zuerst von ihm in Ostafrika gefundenen Blutparasiten der Affen einem genaueren Studium zu unterwerfen. Er hat mir zu diesem Zwecke die Resultate der von ihm in Afrika ausgeführten Untersuchungen nebst zahlreichen Präparaten zur Verfügung gestellt und mir den Auftrag ertheilt, den Parasiten zu beschreiben, wofür ich ihm meinen ergebensten Dank sage.

Ausser diesem Materiale benutzte ich Präparate, welche Herr Stabsarzt der kaiserlichen Schutztruppe für Ostafrika, Zupitza, für Herrn Geheimrath Koch auf der Expedition anfertigte, die er zum Studium der Bubonenpest in das Innere des ostafrikanischen Schutzgebietes unter-

nommen hat. Endlich habe ich selbst eine Reihe von Affen in Berlin untersucht. Ein Theil derselben gehörte dem zoologischen Garten zu Berlin, dessen Direktor, Herr Dr. Heck, in zuvorkommendster Weise die Untersuchungen gestattete, wofür ihm mein bester Dank gebührt.

Soweit ich die Litteratur übersehe, ist ein Parasit, der auf den rothen Blutkörperchen des Affen lebt, noch nicht beschrieben. R. Koch ist der erste Forscher, der ihn beobachtet hat.

Untersucht man das durch einen Einstich in den Schwanz gewonnene Blut von Affen, welche mit diesem Parasiten inficirt sind, im ungefärbten Präparat, so findet man bald sehr spärlich, bald reichlicher blasse Kugeln, etwa von der Grösse der rothen Blutkörperchen, die ein hellgelbbraunes körniges Pigment besitzen. Diese kugelförmigen Gebilde liegen eine Zeit lang scheinbar unbeweglich da, bis plötzlich bei einem Theile derselben in den Randzonen des Parasiten eine wellenförmige Bewegung beginnt. Unmittelbar darauf schiessen an einer Stelle des Randes mehrere dünne, fadenförmige Fortsätze hervor, die eine Länge von ungefähr dem 4fachen des Durchmessers der Kugel haben und eine lebhafte peitschende Bewegung ausführen, so dass die Kugel bald hier-, bald dorthin geschleudert wird und in der Umgebung ein Strudel entsteht, in welchem die benachbarten rothen Blutkörperchen durch einander geworfen werden. Bald sieht man auch die Fortsätze sich von der Kugel loslösen und einzelne fortschwimmen, bis sie sich in einem Knäuel von Blutkörperchen verwickeln. Man kann dann noch eine Zeit lang beobachten, wie der bewegliche Faden versucht, sich von den Blutkörperchen zu befreien, wobei der ganze Knäuel in Bewegung geräth. Allmählich erlischt aber auch diese. Von der Kugel, aus der die Fäden hervorgingen, ist nur etwas formlose Protoplasammasse und das Pigment übrig geblieben.

Der Vorgang ist also derselbe, wie er seit langer Zeit bei den Malaria-parasiten der Menschen und der Vögel bekannt ist. Laveran wurde durch dieses Phänomen der sogenannten Geisselbildung zuerst auf das Vorhandensein von Parasiten im Malariablute aufmerksam gemacht.

Im gefärbten Präparat lassen sich die Parasiten ebenfalls leicht nachweisen. Für die gewöhnlichen Zwecke genügt es, ein mit möglichst dünnen Deckgläsern angefertigtes Blutpräparat nach einer 20 bis 30 Minuten dauernden Fixirung in Alcohol absolutus mit einer Boraxmethylenblaulösung (Borax 5·0, Aq. dest. 100·0, Methylenblau 2·0) ca. 1 Minute lang zu färben. Die Parasiten treten dann ausserordentlich deutlich hervor, und zwar lassen sich schon jetzt zwei verschiedene Formen derselben unterscheiden, je nach der Intensität, mit welcher sie den Farbstoff aufgenommen haben. Die einen sind nur blass und mehr homogen gefärbt in einem grünlichen Farbton, die anderen erscheinen ziemlich intensiv

blau und granulirt. Das Pigment hebt sich dunkel von dem gefärbten Protoplasma ab.

Die Gestalt der gefärbten Parasiten ist nicht immer so völlig kugelförmig, wie die der lebenden; sie sehen häufig so aus, als ob an einer Stelle der Kugel ein Segment abgeschnitten sei. Allerdings sieht man schon bei Borax-Methylenblaupräparaten zuweilen eine Andeutung, dass die Lücke nur scheinbar ist und von einer schlecht färbbaren Substanz eingenommen wird, aber erst durch Anwendung anderer Färbemethoden überzeugt man sich, dass dem in der That so ist. Der Eindruck, dass sich an dieser Stelle eine Lücke befindet, wird dadurch verstärkt, dass das Pigment hier ebenfalls fehlt, während es sonst gleichmässig über den Parasiten vertheilt ist.

Die Parasiten sitzen manchmal noch deutlich einem Blutkörperchen auf, in den meisten Fällen ist aber von einem solchen nichts mehr zu sehen. Nur zweimal habe ich ausser diesen noch andere Stadien des Parasiten im Blute beobachten können, und zwar je einmal bei einem von Hrn. Geheimrath Koch in Afrika und bei einem von mir in Berlin untersuchten Affen. Hier fanden sich auf den rothen Blutkörperchen Parasiten, welche grosse Aehnlichkeit mit den jüngeren Formen der gewöhnlichen menschlichen *Tertiana* hatten.

Das Blutkörperchen wurde zu einem Drittel und mehr von unregelmässig geformten Gebilden eingenommen, die oft noch deutliche Ringform hatten, d. h. der mittlere ungefärbte Theil des Parasiten war umgeben von einer blaugefärbten Zone, die an einer Seite sichelartig verdickt war und an der gegenüberliegenden ein stark gefärbtes rundes Korn zeigte. Bei anderen Exemplaren war eine deutliche Ringform nicht mehr vorhanden; oft lagen die Parasiten langgestreckt quer über das Blutkörperchen ausgebreitet, noch andere hatten Scheibenform mit unregelmässig gebuchtetem Rand. Alle haben feines Pigment, das mit der Grösse des Parasiten an Menge zunimmt. Diese Mannigfaltigkeit in der Form lässt darauf schliessen, dass die Parasiten im Leben amöboide Bewegungen ausführen. Leider standen mir von den beiden Tagen, an denen diese Formen beobachtet wurden, nur Trockenpräparate zur Verfügung, so dass ich die amöboide Beweglichkeit nicht am lebenden Parasiten beobachten konnte.

Später habe ich trotz oft wiederholter Untersuchung diese Formen nur einmal bei dem zweiten Affen im gefärbten Präparate wiedergesehen. Dieselben sind jedenfalls als jüngere Parasiten zu betrachten; sie scheinen jedoch bei älteren Affen (nur solche standen mir zur Verfügung) selten im Blute aufzutreten.

Die vorhin erwähnte Uebereinstimmung in der Form mit den menschlichen *Tertian*parasiten liess vermuthen, dass die Parasiten der Affen aus

ähnlichen Theilungsformen hervorgehen, wie die Malariaerreger und das Proteosoma der Vögel. Es ist mir jedoch niemals gelungen, eine Theilungsform (sogenannte Sporulationsform) im Blute zu entdecken. Bei zwei Affen, welche allerdings nur die erwachsenen Parasiten im Blute hatten, habe ich die sämtlichen inneren Organe und das Knochenmark einer sorgfältigen Untersuchung unterworfen, ohne etwas derartiges finden zu können. Wahrscheinlich werden sie leichter bei frisch inficirten, jugendlichen Affen zu finden sein, wenn auch eine Vermehrung bei älteren Affen in irgend einer Form vorkommen muss. Denn der Gehalt des Blutes an Parasiten schwankte zu verschiedenen Zeiten erheblich. Es mag hier daran erinnert werden, dass auch beim Halteridium Danilewsky, dem hantelförmigen Blutparasiten der Vögel, die Theilungsformen noch nicht bekannt sind. Ich selbst habe im vergangenen Sommer auf Anregung von R. Koch eine Anzahl stark inficirter Vögel mit negativem Resultate daraufhin untersucht.

Färbt man nun die oben beschriebenen erwachsenen Formen nach anderen Methoden, so lassen sich interessante Structurverhältnisse in den Parasiten feststellen. Wendet man statt der Borax-Methylenblaulösung Ehrlich'sches Hämatoxylin an und färbt bei einer Temperatur von ca. 50 bis 60°, so sieht man, dass in dem erwähnten ungefärbten Segment ein körniger Körper liegt, der intensiv das Hämatoxylin aufgenommen hat.

Noch schöner lässt sich dieser Theil des Parasiten sichtbar machen durch die Romanowsky'sche Methode der Chromatinfärbung mit einem Gemisch von Methylenblau und Eosin. Diese Färbung, welche hauptsächlich von russischen Forschern, in Deutschland besonders von Ziemann angewendet worden ist, giebt uns in der That einen Einblick in die Structurverhältnisse der Parasiten, wie keine andere. Es mag kurz angeführt werden, dass sich bei den bisherigen Untersuchungen herausgestellt hat, dass das Protoplasma der Blutparasiten aus drei verschiedenen Bestandtheilen zusammengesetzt ist, einem mit Romanowsky's Flüssigkeit blau gefärbten Theile, einem roth gefärbten, der als Chromatin bezeichnet wird, und einem ungefärbten Theile, der die achromatische Zone heisst. Die letztere umgiebt das Chromatin in mehr oder minder grosser Ausdehnung. Sobald ein Parasit in die Theilung eintritt, so theilt sich zunächst das Chromatin in eine bestimmte Anzahl von Chromatinkörpern, deren Zahl nach den verschiedenen Parasitenarten variirt. Jeder dieser Körper umgiebt sich dann mit Protoplasma und es entsteht so eine Anzahl von jungen Parasiten, die sich wieder auf neuen Blutkörperchen ansiedeln und bei allen Formen der menschlichen Malaria im gefärbten Präparate als blaue Ringe erscheinen. Das Knöpfchen, welches jeder Ring an einer Seite trägt, färbt sich in der Chromatinfarbe roth.

Die Affenparasiten verhalten sich nun der Färbung nach Romanowsky gegenüber ebenso wie die menschlichen Parasiten. Bei der oben erwähnten Jugendform (Taf. V, Figg. 1, 2) ist ebenfalls der Knopf am Rande des Ringes in Chromatinfarbe roth gefärbt; auch eine achromatische Zone ist vorhanden, während der sichelförmig verdichtete Rand blau erscheint. Das Chromatin nimmt beim Wachstume des Parasiten im Allgemeinen weniger zu, als das Protoplasma. Seine Form ist bald rundlich, bald körnig, bald die eines leicht gekrümmten Stäbchens. Es liegt beim erwachsenen Parasiten stets in dem Segment, das bei der Färbung mit Methylenblau die Farbe gar nicht oder nur unvollkommen annimmt. Zuweilen kommt neben dem einen noch ein zweites kleineres Chromatinkorn vor; eine wahre Theilung, welche der bei der Vermehrung der menschlichen Parasiten vorkommenden gleichzustellen wäre, habe ich jedoch nicht beobachtet.

Bei Anwendung dieser Chromatinfärbung sieht man nun, dass die beiden Kategorien der erwachsenen Parasiten, die sich, wie oben erwähnt, schon durch ihre stärkere oder schwächere Färbbarkeit mit Boraxmethylenblau unterschieden, in ihrem Gehalte an chromatischer Substanz ausserordentlich von einander abweichen. Diejenige Form, welche sich mit Methylenblau nur schwach und in einem grünlichen Tone färbt, besitzt weit mehr Chromatin als die, welche das Methylenblau stark aufnimmt. Das Chromatin der ersteren Kategorie ist häufig in eine grosse Menge feiner Körnchen aufgelöst und seine Masse beträgt oft ein Drittel des ganzen Parasiten (Taf. V, Fig. 3), das der zweiten dagegen ist in Gestalt eines groben Kornes oder Stäbchens vorhanden und tritt dem Protoplasma gegenüber ganz in den Hintergrund (Taf. V, Fig. 4). Letztere Form überwiegt gewöhnlich an Zahl die erstere.

Die Bedeutung dieser beiden Formen wird uns klar, wenn wir uns an die analogen Verhältnisse bei anderen Blutparasiten erinnern, welche durch R. Koch in dem vorliegenden Hefte dieser Zeitschrift eine eingehende Bearbeitung gefunden haben und daher hier nicht näher besprochen werden sollen. Die einen, chromatinreichen sind zu vergleichen mit den geisselbildenden Formen des Halteridium, des Proteosoma und den Halbmonden der tropischen Malaria. Sie sind vermuthlich dazu bestimmt, die zweite chromatinarme Form zu befruchten, welche dadurch analog den bei Halteridium im Proteosoma beobachteten Vorgängen zum Ausgangspunkt einer neuen Entwicklungsreihe wird. Man geht wohl nicht fehl in der Annahme, dass auch hier ein blutsaugendes Insect den Zwischenwirth für den zweiten Entwicklungszyklus bildet und die Uebertragung vermittelt.

Die Befruchtung selbst habe ich bei den Affenparasiten unter dem Mikroskope nicht verfolgen können. So leicht sie bei Halteridium zu beob-

achten ist, so schwer scheint sie bei den übrigen Blutparasiten ausserhalb des Zwischenwirthes zu Stande zu kommen. Ausserdem standen mir Affen mit sehr zahlreichen Parasiten leider nicht zur Verfügung; bei solchen würden die Untersuchungen weit aussichtsvoller sein. Dieses negative Resultat beweist aber nicht, dass keine Befruchtung stattfindet. Auch bei *Proteosoma* lässt sie sich, nach Beobachtungen von R. Koch, im Objectträger nicht erreichen, kommt jedoch im Magen einer Mücke, die *Proteosoma*blut gesogen hat, zu Stande.

Krankheitserscheinungen scheint die Anwesenheit des Parasiten bei den Affen nicht hervorzurufen. Temperaturmessungen, die R. Koch in Afrika vornehmen liess, liessen keine Beeinflussung der Körperwärme durch die Parasiten erkennen. Auch bei den in Berlin von mir beobachteten Affen fehlte sie. Allerdings würden auch hier noch ergänzende Untersuchungen an jugendlichen Thieren vorzunehmen sein, in deren Blut sich noch frühere Entwicklungsstadien der Parasiten finden.

Alles spricht, wie erwähnt, dafür, dass die gewöhnlich vorkommenden grossen Formen der Affenparasiten den Halbmonden bzw. grossen Sphären der menschlichen Malaria gleichzustellen sind. Halbmonde finden sich ja ebenfalls gerade dann im Blute, wenn kein Fieber mehr besteht. Auch die Uebertragungsversuche weisen auf die Beziehungen zwischen Halbmonden und grossen Affenparasiten hin. Es gelingt nämlich nicht, mit Affenblut, welches nur die grossen Parasiten enthält, andere Affen zu inficiren, weder bei subcutaner noch bei intravenöser Injection; ebenso wenig ist bisher beim Menschen die Uebertragung ausschliesslich mit Halbmonden geglückt.

Der einzige pathologische Befund, den man bei inficirten Affen findet, die an anderen Krankheiten gestorben sind oder getödtet wurden, ist eine starke Pigmentirung der Milz. Ferner ist die Milzkapsel verdickt und die Milz selbst von stärkeren Bindegewebszügen durchsetzt. Sowohl in der Kapsel, wie in der Nähe der Bindegewebszüge liegt das Pigment in groben unregelmässigen Klumpen angehäuft, in den Zellen der Pulpa findet es sich hier und da in feineren Körnern. Im Knochenmark kommt es ebenfalls vor. Milz, Leber, Nieren und Knochenmark beherbergten bei den untersuchten Thieren die Parasiten ebenfalls, in gleicher Menge wie das Blut aus dem Herzen oder aus peripheren Gefässen.

Die Gesamtzahl der Affen, deren Blut auf Parasiten untersucht worden ist, betrug 62, und zwar waren 34 in Ostafrika durch Hrn. Geheimrath Koch, 12 ebenfalls in Ostafrika durch Hrn. Stabsarzt Zupitza, endlich 16 durch mich in Berlin untersucht.

Die Herkunft der Affen war bekannt bei 55, unbekannt bei 7.

Von ersteren stammten aus Ostafrika 49 (davon 19 mit Parasiten behaftet), aus Indien 6 (sämmtlich parasitenfrei).

Von den ostafrikanischen Affen waren 18 an der Küste gefangen, 31 im Inneren.

Von 18 Küstenaffen hatten 10 die Parasiten, von den übrigen 31 waren 9 inficirt. Daraus ist jedoch nicht zu schliessen, dass die Parasiten an der Küste häufiger vorkommen. Es befanden sich nämlich unter den

	Meer- katzen	Hunds- affen	Species nicht angegeben
a) an der Küste gefangenen 18 Affen:	14	3	1
davon inficirt 10 „ :	8	1	1
b) im Inneren gefangenen 31 Affen:	13	14	4
davon inficirt 9 „ :	7	2	—

Unter den im Inneren untersuchten Affen befanden sich also weniger Meerkatzen und diese stellen das grösste Contingent der inficirten. Sowohl an der Küste, wie im Inneren waren ca. 55 Proc. derselben mit Parasiten behaftet. Im Ganzen waren von 28 Meerkatzen (meist grüne M.) 15 inficirt, von 21 Hundsaffen 4, von 13 nicht genauer bezeichneten Affen 1.

Unter den 7 Affen, deren Herkunft unbekannt war, waren die Parasiten vorhanden bei 1 von 4 Hundsaffen; 1 Meerkatze und 2 nicht näher bezeichnete Affen waren frei davon.

Die Parasiten wurden constatirt sowohl in dem an der Küste gelegenen Dar es Salaam, wie mehr nach dem Inneren des ostafrikanischen Schutzgebietes zu in Masinde, Mpapua, Kilimatinde, endlich ganz im Inneren bei Kifumbiro, in der Nähe des Victoria Nyanza. Der muthmassliche Zwischenwirth muss also gleichfalls über einen grossen Theil des Schutzgebietes vertheilt sein.

In Wirklichkeit werden die Parasiten wohl noch häufiger vorkommen. Die Zahl derselben im Blute schwankt nämlich zu verschiedenen Zeiten erheblich, und so können sie bei einmaliger Untersuchung leicht übersehen werden. Bei denjenigen Affen, die ich in Berlin dauernd beobachten konnte, nahm die Zahl der Parasiten unter Schwankungen immer mehr ab. Eine Regelmässigkeit liess sich jedoch bei den Schwankungen nicht feststellen. Zwei Affen, die ich über 6 Monate lang von Zeit zu Zeit, wochenlang auch täglich, untersuchte, zeigten nach Ablauf dieser Zeit der eine spärlich, der andere ganz vereinzelte Parasiten. Schliesslich können sie ganz verschwinden. Die untersuchten Affen des Berliner zoologischen Gartens, die sich sämmtlich schon seit Jahren im Garten befanden, waren ausnahmslos frei von Parasiten. Wenn man hier in Europa Studien vor-

nehmen will, ist es also rathsam, nur frisch aus Afrika importirte Thiere, besonders Meerkatzen (*Cercopithecus*), zu wählen.

Es würde von Interesse sein, zu erfahren, ob die Parasiten ausschliesslich bei Affen vorkommen, die aus malarischen Gegenden stammen. Darüber können nur eingehende Nachuntersuchungen in tropischen Ländern Aufschluss geben, zu denen diese Zeilen hoffentlich anregen.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V.)

(Nach Zeichnungen von V. Uwira.)

Fig. 1. Junger Parasit, auf einem rothen Blutkörperchen liegend, ringförmig.

Fig. 2. Mitteltgrosser Parasit, auf einem rothen Blutkörperchen liegend.

Fig. 3. Erwachsener freier Parasit, stark chromatinhaltige (geisseltragende) Form.

Fig. 4. Erwachsener freier Parasit, chromatinarme Form.

Vergr. Zeiss, Apochrom. Immers. 2·0, Oc. 4.

1.

2.

3.

4.