[Aus dem pharmakologischen Institut in Bonn.]
(Director: Geheimrath Binz.)

Ueber die Einwirkung von Brillantgrün auf Nagana-Trypanosomen.

Von

Prof. H. Wendelstadt und T. Fellmer.

(Hierzu Taf. V.)

In einer kurzen Mittheilung¹ haben wir eine Reihe von Versuchen publicirt, die mit den verschiedensten Substanzen angestellt wurden, um deren Wirkung auf Nagana-Trypanosomen festzustellen. Der wirksamste Stoff, den wir damals fanden, war Malachitgrün. Bald nach dieser Veröffentlichung haben wir das Malachitgrün verlassen und an seine Stelle das Brillantgrün gesetzt (Anilin- und Sodafabrik in Ludwigshafen). Das Brillantgrün ist das Sulfat des Tetraaethyldiparaamidotriphenylcarbinols.

Vor unserer ersten Publication, während wir mit Malachitgrün arbeiteten, erschien die interessante und werthvolle Veröffentlichung von Ehrlich und Shiga² über Erfolge, welche mit Trypanroth erzielt worden waren.³ Das Trypanroth hat eine zweifellose und dauernde Wirkung bei den Trypanosomen des Mal de Caderas. Ehrlich, dem wir auf dem Gebiete der Einwirkung von Farbstoffen auf die Gewebe so viele Entdeckungen verdanken, und sein Schüler hatten hier zuerst den Weg der Behandlung der Trypanosomiasis mit Farbstoffen betreten. Durch diese Untersuchungen war uns gegen

¹ *Deutsche med. Wochenschrift*. 1904. Nr. 47.

² Ehrlich und Shiga, Farbentherapeutische Versuche bei Trypanosomen-erkrankung. *Berliner klin. Wochenschrift*. 1904. Nr. 13 u. 14.

³ E. Franke, Therapeutische Versuche bei Trypanosomen-erkrankung. *Dissertation*. Giessen 1905.

die eine Art von Trypanosomen ein Heilmittel an die Hand gegeben worden. Das Trypanroth war in seiner Wirkung auf Nagana-Trypanosomen nicht so energisch wie gegen Mal de Caderas. Ein weiteres Suchen nach wirksamen Substanzen aus der Reihe der Farbstoffe war nach den Erfolgen des Trypanrothes und des Malachitgrüns jedenfalls angezeigt. Von allen von uns ausgetrobenen Stoffen ist das Brillantgrün in seiner Wirkung am zuverlässigsten. Eine dauernde Heilung haben wir mit ihm allein nicht erzielen können. Das Erreichte schien uns aber interessant genug, um es zu veröffentlichen, namentlich da unsere Erfahrungen und Beobachtungen sich für andere Arbeiter auf demselben Gebiete vielleicht als nützlich erweisen könnten.

Beide Farben, Malachitgrün und Brillantgrün, haben den Fehler, dass sie, in der wirksamen Concentration unter die Haut gebracht, unangenehme Wunden machen; das Brillantgrün allerdings weniger als das Malachitgrün. Von einer intraperitonealen Beibringung des Brillantgrüns, das dann in sehr viel stärkerer Verdünnung sich noch wirksam erweist, haben wir bald abgesehen, weil es schlimme peritoneale Reizungen macht, die meist zu einer Verwachsung der Milz bei unseren Ratten führten. Subcutan wirkt ein Cubiccentimeter einer Lösung von Brillantgrün in Wasser 1:200 (intraperitoneal 1:2000—2500) fast regelmässig so, dass in 24—30 Stunden aus dem Blute einer Ratte, das ganz mit Krankheitserregern überschwemmt ist, die Nagana-Trypanosomen verschwunden sind. Bei mehreren Hundert weissen Ratten, die wir im Laufe unserer Arbeit untersucht haben, war das Resultat meist das Gleiche: nach 24—30 Stunden konnten wir bei Ratten in keinem der mikroskopischen Präparate mehr normale Trypanosomen finden. Ebenso war die Wirkung bei einem Rhesus-Affen, den wir behandelten.

Unser Infektionsstoff (Nagana-Trypanosomen), den wir der Güte des Institutes für Infektionskrankheiten in Berlin verdanken, tödtete weisse Ratten in 5—6 Tagen nach intraperitonealer Infection. Am 4. Tage ist das Blut mit Trypanosomen überschwemmt. Die Präparate zur Untersuchung wurden, nachdem sie lufttrocken waren, mit Alkohol und Aether zu gleichen Theilen fixiert und nach Giemsa gefärbt. Wenn man alle 7—8 Tage einer inficirten Ratte eine Injection von Brillantgrün macht, so kann man sie lange nach der Infection am Leben erhalten. Eine von unseren Versuchsratten blieb 72 Tage lang leben. Der Tod tritt ein, ohne dass Trypanosomen im Blute nachweisbar sind, unter den Erscheinungen der Entkräftung, wie Nissle¹ fand, durch Veränderungen im Zustande des Blutes.

¹ Nissle, Beobachtungen am Blut mit Trypanosomen geimpfter Thiere. *Archiv für Hygiene*. 1905. Bd. LIII.

Bei den an Nagana-Trypanosomen erkrankten Ratten schwillt bekanntlich die Milz sehr stark an. Diese Schwellung geht bei der Behandlung mit Brillantgrün jedesmal bis zur normalen Grösse des Organs zurück.

Findet nach der ersten Injection von Brillantgrün keine weitere Behandlung mehr statt, so treten nach 6—7 Tagen wieder Trypanosomen im Blute auf, und die Ratte stirbt nach weiteren 5—6 Tagen. Impft man in der Zeit, in welcher sich keine Trypanosomen mehr mikroskopisch nachweisen lassen, das Blut einer einmal mit Brillantgrün behandelten Ratte auf eine unbehandelte über, so entwickeln sich bei der letzteren Trypanosomen; aber die Entwicklung geht nicht so schnell vor sich, als wenn man mit gewöhnlichem Infektionsstoff inficirt. Statt nach 2—3 Tagen findet man erst nach 5—6—12 Tagen die Krankheitserreger im Blute.

Versuche hatten ergeben, dass die beste Wirkung mit Brillantgrün erzielt wurde, wenn man Ratten am 4. Tage nach der Infection dreimal mit je 1^{cem} Brillantgrün in einer Lösung von 1:200 subcutan behandelt, und zwar so, dass man am 4., 6. und 9. Tage eine Einspritzung macht. In dieser Anordnung wurde der folgende Versuch angestellt.

Versuch I.

Es wurden 14 Ratten (Nr. 385 bis 398) am 21. I. 1905 mit Nagana inficirt. Am 25. I. fanden sich bei allen reichlich Trypanosomen im Blute. Darauf folgte am 26., 28. und 30. I. die Behandlung mit Brillantgrün. Vom 31. I. ab wurde von diesen Ratten täglich eine Morgens um 9 Uhr und eine Abends um 9 Uhr getödtet, und Blut, Milz und Cerebrospinalflüssigkeit mikroskopisch untersucht. Bei den ersten 12 dieser Ratten fanden sich noch keine Anzeichen von wieder auftretenden Parasiten. Bei Ratte 13 konnten wir im Milzausstrich verschwommene, trypanosomenähnliche, kleine Gebilde unterscheiden. Bei Ratte 14, die erst am 9. Tage nach der Behandlung getödtet wurde, fanden sich vereinzelte Trypanosomen im Blutaussstrich. Von besonderem Interesse aber waren die Milzausstriche von diesem Thiere (Taf. V, Fig. 11), auf die wir später zurückkommen. Die Cerebrospinalflüssigkeit war stets frei.

Von diesen Ratten wurden Ueberimpfungen gemacht, und zwar so, dass einer Ratte 0.5^{cem} reines Blut in das Peritoneum injicirt, einer zweiten ein Stück Milz in eine Hauttasche eingeführt wurde. Es ergab sich aus diesem Versuche, wie nachstehende Tabelle zeigt, dass die Infectionen mittels Blut (mit Ausnahme von Ratte Nr. 401, getödtet am Tage nach der letzten Brillantgrünbehandlung) immer positiv ausfielen. Nur ist die Incubationszeit, je länger das Thier nach der letzten Behandlung noch lebte, eine kürzere, schwankend von 6 bis 1 Tag. Ebenso variirt auch die Krankheitsdauer bis zum Tode zwischen 12 und 4 Tagen.

Bei den Thieren, die mit Milz inficirt wurden, fielen die ersten vier Impfungen negativ aus; die anderen 10 sind positiv und führen um so schneller zum Tode, je längere Zeit das zur Ueberimpfung benützte Thier nach der letzten Brillantgrünbehandlung gelebt hatte.

Versuch I.

Infection mit 0.5 ^{cem} Blut				Infection mit Milz		
Nr.	Infection am	Erstes Erscheinen von Tryp.	Todt	Nr.	Erstes Erscheinen von Tryp.	Todt
399	31. I. 9 ^h a. m.	nach 6 Tagen	nach 12 Tagen	400	negativ	
401	31. I. 9 ^h p. m.	negativ		402	„	
403	1. II. 9 ^h a. m.	nach 6 Tagen	„ 11 „	404	„	
405	1. II. 9 ^h p. m.	„ 6 „	„ 11 „	406	„	
407	2. II. 9 ^h a. m.	„ 4 „	„ 8 „	408	nach 5 Tagen	nach 11 Tagen
409	2. II. 9 ^h p. m.	„ 4 „	„ 7 „	410	„ 7 „	„ 12 „
411	3. II. 9 ^h a. m.	„ 4 „	„ 9 „	412	„ 9 „	„ 13 „
413	3. II. 9 ^h p. m.	„ 3 „	„ 10 „	414	„ 5 „	„ 11 „
415	4. II. 9 ^h a. m.	„ 2 „	„ 8 „	416	„ 5 „	„ 9 „
417	4. II. 9 ^h p. m.	„ 4 „	„ 9 „	418	„ 6 „	„ 10 „
419	5. II. 9 ^h a. m.	„ 4 „	„ 7 „	420	„ 6 „	„ 10 „
421	5. II. 9 ^h p. m.	„ 5 „	„ 10 „	422	„ 8 „	„ 12 „
423	6. II. 9 ^h a. m.	„ 1 Tag	„ 7 „	424	„ 5 „	„ 7 „
425	8. II. 9 ^h a. m.	„ 1 „	„ 4 „	426	„ 2 „	„ 7 „

Aus dem Versuch ergibt sich, dass nach Behandlung mit Brillantgrün ein Zeitpunkt eintreten kann, in dem das Blut des behandelten Thieres nicht mehr im Stande ist, eine Infection bei einem zweiten Thiere hervorzurufen, obgleich das erste Thier nach Ablauf einer gewissen Zeit wieder Trypanosomen im Blute zeigt und daran zu Grunde geht.

Es schliessen sich hieran zwei weitere Versuche (Versuch II und III), in denen es uns mehrfach gelang, Ratten, deren Blut mit Trypanosomen überschwemmt gewesen war, und die dann mit Brillantgrün und daran anschliessend mit Arsenik behandelt wurden, zu einem Zeitpunkte zu tödten, wo ihr Blut selbst in grossen Mengen (2^{cem} reines Blut) keine zum Tode führende Infection bei Ueberimpfung auf frische Ratten hervorrief. Auf eine merkwürdige Begleiterscheinung, das vorübergehende Auftreten schattenhafter Trypanosomen, kommen wir später zurück.

Nach den schönen Erfolgen Laveran's¹ mit Arsenik und Trypanroth mit Arsenik lag es nahe, Brillantgrün mit Arsenik combinirt bei trypanosomeninfectirten Thieren zu versuchen. Wir injicirten Ratten, deren Blut mit Trypanosomen überschwemmt war, am 4., 6. und 9. Tage nach der Infection mit Brillantgrün und gaben dann täglich 0.001^{grm} Arsenik subcutan. Während der Arsenikbehandlung sind keine Trypanosomen nachweisbar.

¹ Laveran, Traitement mixte par l'acide arsénieux et le trypanroth des infections dues au trypanosome gambiense. *Compt. rend. T. CIV.* p. 1081.

Versuch II.

10 Ratten (Nr. 441 bis 450) wurden am 1. IV. 1905 mit Trypanosomen inficirt. Der Blutbefund war am 3. IV. positiv; darauf folgte Behandlung mit Brillantgrün am 4., 6. und 9. IV. und dann täglich bis zum 2. V., also 3 Wochen lang, eine Nachbehandlung mit Arsenik.

Nr. 441 stirbt am 11. IV. Organe normal, Blutausschlag 0 (0 = keine Trypanosomen), Milzausschlag 0, Hirncapillaren 0.

Nr. 442 getödtet 12. IV., weil das Thier sehr schwach war. Organe normal. Blutausschlag 0, Milzausschlag 0. Hirncapillaren vereinzelte Kerne von Trypanosomen.

Nr. 443 getödtet 18. IV. Organe normal. Blutausschlag 0, Milzausschlag 0, Hirncapillaren 0.

Nr. 444 stirbt 18. V. Am 6. V., also 4 Tage nach der letzten Arsenik-injection, fanden sich vereinzelte Trypanosomen im Blut. Lebte 47 Tage.

Nr. 445 stirbt 26. IV. Organe von den anderen Ratten aufgefressen.

Nr. 446 getödtet 26. IV. Organe normal. Blutausschlag 0, Milzausschlag 0, Hirncapillaren 0. Von dieser Ratte werden 2 ^{cem} bzw. 1 ^{cem} reines Blut auf zwei Ratten übergeimpft. Diese sterben am 2. V. mit Trypanosomen.

Nr. 447 getödtet am 29. IV. (also 20 Tage nach der letzten Brillantgrünbehandlung). Organe normal. Ausschläge 0. 2 ^{cem} bzw. 1 ^{cem} reines Blut wird übergeimpft auf 2 Ratten, die dauernd gesund bleiben. Von einer dieser beiden Ratten wurde am 13. V. auf eine dritte Ratte übergeimpft (Nr. 471); diese zeigt am 29. V. schattenhafte Trypanosomen im Blute, bleibt aber ohne Behandlung dauernd gesund und wurde erst am 31. VII. weiter verwendet.

Bei den letzten drei Ratten wurde abgewartet, ob eine Dauerheilung erzielt sei, oder wann nach Aussetzen der Arsenikbehandlung wieder Trypanosomen auftreten würden.

Nr. 448 ist am 15. V. wieder positiv.	} Starben am 22. V.
Nr. 449 ist am 17. V. wieder positiv.	
Nr. 450 ist am 18. V. wieder positiv.	

Bei den drei letzten Ratten traten also am 13., 15., 16. Tage nach der letzten Arsenikinjection wieder Trypanosomen auf.

Nur bei Ratte Nr. 447 hatte sich das Blut als nicht infectiös erwiesen. Günstigere Resultate erzielten wir bei dem folgenden Versuche.

Versuch III.

Es wurden am 7. VII. 1905 weitere 10 Ratten (Nr. 501 bis 510) inficirt; sie hatten alle am 9. VII. Trypanosomen. Darauf folgte die Behandlung mit Brillantgrün am 9., 11. und 14. VII., dann täglich 1 ^{mg} Arsenik bis zum 27. VII.

Nr. 501 stirbt am 18. VII. Organe normal. Ausschläge 0.

Nr. 502 getödtet am 19. VII. Organe normal. Ausschläge 0. Ueberimpfung mit 2 ^{cem} und 1 ^{cem} Blut auf Nr. 511 und 512.

Beide bleiben dauernd frei von Trypanosomen.

Nr. 503	} starben am 22. VII. Organe normal. Ausschlag 0.
Nr. 504	
Nr. 505	

Nr. 506 getödtet am 24. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfungen werden mit 2^{cem} und 1^{cem} Blut auf Ratte Nr. 514 und 515 gemacht, die beide nicht erkranken.

Nr. 507 getödtet am 25. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfung mit 2^{cem} Blut auf Ratte 516, bleibt ohne Erfolg.

Nr. 508 getödtet am 27. VII. Organe normal. Ausstriche 0. Ueberimpfung mit 2^{cem} Blut auf Ratte 517, ohne Erfolg.

Nr. 509 ist am 4. VIII. wieder positiv. Wird getödtet.

Nr. 510 lebt heute 5. XI. Blutausstrich 0.

Das Blut zeigte sich also nach 5, 10, 11 und 12 Tagen nicht infectiös. Vielleicht ist das günstige Resultat dieses Versuches darauf zurückzuführen, dass die Ratten zeitiger in Behandlung genommen wurden. Das Blut war noch nicht mit Trypanosomen überschwemmt, sondern es waren in jedem Gesichtsfelde nur wenige zu sehen. Trypanosomen waren aber bei allen gefunden worden. Bei allen anderen Versuchen haben wir mit der Behandlung gewartet bis eine grosse Menge Trypanosomen sich entwickelt hatte.

Bricht man die Arsenikbehandlung ab, so treten die Trypanosomen gewöhnlich nach 5 bis 7 Tagen auf, und die Krankheit verläuft dann meist eben so schnell wie eine Neuinfection.¹ Bei einigen Ratten verzögerte sich das Wiederauftreten von Trypanosomen länger; bei Ratte 440 erschienen sie erst nach 13 Tagen; Ratte 510 ist ohne Behandlung frei vom 27. VII. bis heute 5. XI. Jetzt 4 Monate nach der Infection ist sie als geheilt anzusehen.

Eine Ratte (Nr. 433) wurde am letzten Tage einer dreimaligen Brillantgrün- und darauf folgender 14 tägiger Arsenikbehandlung getödtet. Das Blut war frei von Trypanosomen. Zwei Ratten wurden mit dem Blute injicirt; die eine erhielt 1, die zweite 0.5^{cem} Blut. Beide Ratten zeigten, die eine am 12., die zweite am 19. Tage, zahlreiche schattenhafte Trypanosomen (Taf. V, Fig. 12) ohne scharfe Conturen. Die Geisselwurzeln waren gut gefärbt, die Kerne nur angedeutet. Bei den Geisselwurzeln und den Kernen fanden sich Theilungen. Eine Weiterentwicklung dieser Trypanosomen fand aber nicht statt; das Blut der Ratten war am nächsten Tage frei und die Thiere blieben dauernd gesund. Die Uebertragung des Blutes hatte am 24. III. stattgefunden. Beide Ratten waren am 15. VI. noch gesund. An diesem Tage wurden sie mit virulentem Blute inficirt und starben in 5 und 9 Tagen. Es war also keine Immunität vorhanden. Ob eine vorübergehende Immunität

¹ Aehnliche Beobachtungen machte Bruce, der ein Pferd 45 Tage mit Arsenik behandelte und dann damit aussetzte. Nach 8 Tagen traten wieder Trypanosomen auf

(Resistenz) in der Zwischenzeit bestanden hatte, können wir nach unseren Versuchen nicht entscheiden. Zur Klarstellung dieser Frage müssten grössere Versuchsreihen zu diesem Zwecke angestellt werden. Die eigenartige, von uns mehrfach beobachtete Erscheinung, dass bei der Ueberimpfung des Blutes einer behandelten Ratte in der Zeit, in welcher das Blut frei von Trypanosomen ist, unter gewissen Umständen keine normalen, sondern nur schattenhafte Trypanosomen auftreten, können wir einstweilen nicht in einer genügenden Weise erklären. Ob es sich um eine Art von kurz andauernder Immunität handelt, während welcher die mit übergeimpften Keime sich zwar zu Trypanosomen entwickeln, eine Weiterentwicklung aber nicht stattfinden kann, oder ob die übergeimpften Keime selbst durch die Behandlung mit Brillantgrün so geschädigt sind, dass sie sich nur zu den schattenhaften Formen ohne Fähigkeit einer weiteren Vermehrung entwickeln können, sind wir heute noch nicht in der Lage zu entscheiden. Die Frage wird noch besonders complicirt durch die obenerwähnte Beobachtung bei der Ratte 447 im Versuche II. Dort wurde mit dem Blute in der trypanosomenfreien Zeit eine Ratte übergeimpft, welche keine Trypanosomen im Blute zeigte. Von dieser wurde eine Ueberimpfung auf eine weitere gemacht, welche vorübergehend die eigenthümlichen Trypanosomen zeigte. Vielleicht ist uns hier das Vorhandensein der Flagellaten in dem Blute der zweiten Ratte, trotz sorgfältigstem Suchen bei der mikroskopischen Untersuchung entgangen.

Ausser einer Nachbehandlung mit Arsenik haben wir ohne jeden Erfolg auch eine solche mit Chinin versucht.

Neben den weissen Ratten haben wir auch einen Rhesus-Affen als Versuchsthier gebraucht. Laveran und Mesnil¹ haben Affen mit Erfolg mit Nagana inficirt; desgleichen Nocard, Kanthock, Durham und Blandford². Die Affen starben alle nach kurzer Frist, nach 13 bis 15 Tagen. Ein zeitweises vollständiges Verschwinden der Trypanosomen, wie wir es bei unserem Affen sahen, wurde von den genannten Autoren nie beobachtet, wenn auch die Menge der Trypanosomen in den letzten Tagen vor dem Tode etwas zurückging.

Unser Affe wurde am 14. I. 1905 inficirt. Am 21. I. fanden wir Trypanosomen in seinem Blute. Am 23. I. wurde er mit Brillantgrün subcutan behandelt (1^{cem} 0.5 proc. Lösung). Am nächsten Tage waren die Trypanosomen verschwunden. Am 26. und 30. I. machten wir weitere Brillantgrüninjectionen. Am 16. II. wurde eine Ratte mit 0.5^{cem} Affen-

¹ Laveran et Mesnil, *Trypanosomes et Trypanosomiasis*. 1904. p. 123.

² Kanthock, Durham u. Blandford, Ueber Nagana oder die Tsetsefliegenkrankheit. *Hygienische Rundschau*. 1898.

blut geimpft. Sie starb nach 6 Tagen an Trypanosomen. Am 20. II. fand sich bei dem Affen ein vereinzelt Trypanosoma im mikroskopischen Präparat. Am 22. II. wurden keine mehr gefunden. Am 23. und 27. II. und am 4. III. wurde wieder je 1^{cem} Brillantgrün, 0.5 proc. Lösung, injicirt, am 11. III. Brillantgrün und 0.001 Arsenik, am 13. und 14. III. nur Arsenik. Am 5. IV. traten wieder Trypanosomen auf. Es wurde an diesem Tage eine Injection von Brillantgrün mit Arsenik gemacht. Keine Trypanosomen bis 14. April. Die nächste Injection von 1^{cem} Brillantgrün in 0.5 proc. Lösung wurde am 16. IV. gemacht und am 29. IV. eine solche von 1^{cem} einer 0.25 proc. Lösung mit dem Erfolge, dass erst am 7. V. wieder Trypanosomen auftraten. Am 10. V. folgte eine Injection von 1^{cem} Brillantgrünlösung 1:2500 und 0.001 Arsenik mit einigen Tropfen Nucleinsäure in 5 proc. Lösung in das Peritoneum. Die Nucleinsäure hatten wir zugesetzt, weil wir in dieser Zeit Beobachtungen über die Aufnahme von Entwicklungsstadien der Trypanosomen in weissen Blutkörperchen machten, auf welche wir später eingehen werden. Die Nucleinsäure hat die Eigenschaft, die Zahl der weissen Blutkörperchen zu erhöhen. Am 18. V. fanden wir Trypanosomen, und nach einer gleichen Behandlung an diesem Tage zeigten sie sich wieder am 27. V. Die Behandlung vom 10. und 18. Mai war also wenig wirksam und anscheinend für den Affen sehr schmerzhaft. Ratten gingen nach dieser Behandlungsart zu Grunde. Es zeigten sich bei ihnen Verwachsungen der Milz mit dem Peritoneum. Am 29. V. erhielt der Affe wieder 1^{cem} Brillantgrün 0.5 Procent subcutan und am 10. VI. eine Injection von einer Lösung 1:2500 in das Peritoneum. Am 30. VI. nach neuem Auftreten von Trypanosomen subcutan 1^{cem} 0.5 proc. Brillantgrünlösung. Am 17. VII. sind zahlreiche Trypanosomen im Blute, die am nächsten Tage ohne Behandlung verschwinden und erst nach 14 Tagen wieder auftauchen. Am 19. Juli wird eine Ratte mit 0.5^{cem} Affenblut geimpft. Sie bleibt dauernd frei von Trypanosomen. Die letzte Untersuchung wurde am 4. November gemacht.

Am 31. Juli treten wieder Trypanosomen auf, worauf am 2. August eine subcutane Injection von Brillantgrün gemacht wird. Eine am 9. August mit 0.5^{cem} Affenblut inficirte Ratte zeigt diesmal schon nach 4 Tagen Trypanosomen im Blut und geht am 21. VIII. daran zu Grunde.

Wenn bei dem Affen die Trypanosomen im Blute wieder auftraten, so veränderte sich sein Wesen deutlich. Er machte einen missmuthigen und müden Eindruck. Diese Erscheinungen schwanden nach der Behandlung wieder. Die Injectionen verursachten bei dem Thier Abscesse, deren Eiter steril war. An den Injectionstellen fielen die Haare aus. Jetzt nach 3 Monaten ist der Affe wieder vollständig behaart. Siehe Nachtrag am Schlusse dieser Arbeit.

Wir benutzten ferner einen Hund als Versuchstier. Am 8. Februar 1905 inficirten wir ihn. Sein Blut war am 13. Februar stark mit Trypanosomen überschwemmt. Das Thier bekam darauf eine Injection von 1.5 ^{ccm} Brillantgrünlösung 1:200 subcutan. Am 15. Februar fanden wir im Blutaussstrich vereinzelte Trypanosomen und freie Kerne, welche von zerfallenen Trypanosomen herrührten. Am 16. Februar folgt eine neue Injection, die ohne jeden Erfolg bleibt; denn die Blutaussstriche vom 17. und 18. Februar zeigen massenhafte Trypanosomen. Hals und Gesicht des Hundes schwellen stark an. Am 21. Februar haben die Trypanosomen noch zugenommen, worauf eine intravenöse Injection von 1 ^{ccm} Brillantgrünlösung 1:800 gemacht wird. Am nächsten Tage ist der Hund todt. Die Section ergibt, dass die beiden ersten Injectionen unresorbirt in dem sehr starken Fettpolster des Hundes liegen. Die Milz ist dunkelroth, stark vergrößert und brüchig. Im Ausstrich von Milzsaft sind keine Trypanosomen zu finden. Im Blute sind Trypanosomen und viele zerfallene Kerne, die haufenweise zusammen liegen (Taf. V, Fig. 8), ebenso freie Geisselwurzeln mit anhaftender Geissel (Taf. V, Fig. 9).

Dieser Misserfolg der Behandlung, der vereinzelt dasteht, scheint uns daher zu kommen, dass der Hund einen ganz abnormen Fettansatz hatte. Die Resorption der subcutanen Injectionen war deshalb eine mangelhafte. Ob die intravenöse Injection seinen Tod herbeigeführt hat, erscheint zweifelhaft. Das Thier hatte eine sehr geringe Widerstandskraft und ist wohl an den Trypanosomen zu Grunde gegangen. Leider konnten wir bisher keine weiteren Versuche mit Hunden anstellen. Immerhin müssen wir bemerken, dass auch hier sich eine Einwirkung des Brillantgrüns in der Abnahme und im Zerfall von Trypanosomen nach der ersten Injection zeigte.

Wir haben Versuche gemacht, ob durch eine vorhergehende Behandlung einer Ratte mit Brillantgrün eine darauf folgende Injection mit Nagana-Trypanosomen beeinflusst wird. Durch eine einmalige Einspritzung des Medicamentes vor der Infection haben wir eine Verlängerung der Incubationszeit bis zu 11 Tagen erreicht, wenn wir schon 6 Stunden nach der Injection des Mittels inficirten.

Am 3. August 1905 wurden 7 Ratten (526—532) mit 1 ^{ccm} 0.5 proc. Brillantgrünlösung vorbehandelt. Nach 6 Stunden wurde die erste inficirt. Am 14. August zeigten sich bei ihr Trypanosomen, sie starb am 23. VIII.; die nächste wurde 24 Stunden nach der Vorbehandlung inficirt und die weiteren fünf mit einem Abstand von je einem Tage. Eine merkliche Einwirkung auf den Verlauf hatte bei diesen letzten 6 Ratten die Vorbehandlung nicht.

Wir sind noch mit weiteren Versuchen beschäftigt, um festzustellen, ob nicht eine längere Schutzwirkung erreicht werden kann.

Durch die Güte des Herrn Geheimrat Ehrlich sind wir in Besitz der Erreger des Mal de Caderas gelangt. Gegen diese Trypanosomenart wirkt das Brillantgrün bei Ratten auch in der Weise, dass eine einmalige Einspritzung sie zunächst zum Verschwinden bringt. Nach einigen Tagen erscheinen sie wieder im Blute. Die unbehandelte Controle starb nach 9, die behandelte Ratte nach 17 Tagen. Genauere Versuche über die Einwirkung der Brillantgrünbehandlung bei Mal de Caderas haben wir bisher noch nicht angestellt.

Die Behandlung mit Brillantgrün bei Ratten, welche mit Nagana-Trypanosomen inficirt waren, gab uns Gelegenheit, in den mikroskopischen Präparaten Formenveränderungen der Trypanosomen zu beobachten, die wir mit dem Untergange und der Neuentwicklung der Flagellaten in Zusammenhang stehend annehmen.

Normaler Weise vermehren sich die Nagana-Trypanosomen in der Ratte bekanntlich durch Längstheilung. Genaue Angaben hierüber finden sich bei Schilling.¹ Zunächst findet gewöhnlich eine Theilung der Geisselwurzel statt. Dieselbe verändert ihre punktförmige Gestalt, wird stäbchen- oder hantelförmig und theilt sich dann in zwei punktförmige Gebilde. Nach der Theilung der Geisselwurzel finden sich zwei Geisseln. Nachdem sich der Kern dann auch getheilt hat, findet eine Längstheilung des ganzen Thieres statt (Taf. V, Fig. 2). Nach den Beobachtungen von Schilling verläuft die Theilung nicht schematisch; die Theilung der Geisselwurzel geht einmal der Theilung des Kernes voraus, ein anderes Mal ist die Reihenfolge umgekehrt. Dass wir meist die erste Reihenfolge sahen, ist wohl als Zufall zu betrachten.

Lässt man eine Ratte unbehandelt, so gehen vor dem Tode des Versuchstieres im Blute Trypanosomen zahlreich zu Grunde. Die spitze Form am hinteren Ende, an welchem die Geisselwurzel sitzt — wir nennen in dieser Arbeit das Ende mit der Geisselwurzel den hinteren Theil — bleibt bei diesen normalen Zerfallserscheinungen deutlich bestehen (Taf. V, Fig. 3). Im vorderen Theile bilden sich helle Flecken (Vacuolen). Das Anfangs hyaline Plasma wird fein gekörnt. Die Kerne erscheinen bröckelig und sind schwerer färbbar. Theilungsformen werden auch in diesem Stadium beobachtet. Einzelne Trypanosomen nehmen amöboide Formen an. Schilling² giebt an, dass die amöboiden Formen bei dem Trypanosoma Brucei fehlen. Wir fanden sie bei unserem Naganastamm vereinzelt bei unbehandelten Ratten in diesem Stadium.

¹ Schilling, Ueber die Tsetsekrankheit oder Nagana. *Arbeiten a. d. Kaiserl. Gesundheitsamte.* 1904. Bd. XXI.

² A. a. O. S. 493.

Nach Bradford und Plimmer¹ sollen nur die amöboïden Formen der Phagocytose anheimfallen. Wir fanden ausser den amöboïden Formen auch normale Trypanosomen in den weissen Blutkörperchen eingeschlossen.

Kurz vor dem Tode finden sich Trypanosomentrümmern im Blut.

Wird einer Ratte, deren Blut mit Trypanosomen überschwemmt ist, was am 4. Tage nach der Infection meist der Fall ist, eine Injection von Brillantgrün gemacht, so sehen wir bei dem Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blute Formen auftreten, welche von denjenigen des normalen Zerfalles abweichen. 4 bis 5 Stunden nach der Einspritzung werden die normalen Theilungserscheinungen immer seltener. Eine Theilung des Kernes findet sich noch bei vielen Trypanosomen, aber die Geisselwurzel bleibt von jetzt ab meist punktförmig. Die Kerne färben sich schlechter als vorher.

9 bis 10 Stunden nach der Behandlung bildet sich bei der grossen Mehrzahl der Trypanosomen am hinteren Ende ein cystenartiges Gebilde, in dessen Wandung die deutlich gefärbte Geisselwurzel mit anhängender Geissel liegt (Taf. V, Fig. 4). Eine derartige Cystenbildung haben wir bei dem normalen Untergange der Trypanosomen auch, aber nur ganz vereinzelt gefunden. Normale Theilungen finden jetzt nicht mehr statt. Wenn auch noch in den Kernen Theilungsformen auftreten, so sahen wir keine bei der Geisselwurzel. Unter dem Einflusse des Brillantgrüns verlieren die Trypanosomen offenbar die Fähigkeit, sich durch normale Längstheilung zu vermehren. Da die Flagellaten später wieder auftreten, so müssen sie gegenüber der Wirkung des Medicamentes, das ihre normalen Formen vernichtet, ein Mittel finden, die Art zu erhalten. Bei diesem Vorgange scheint uns das erwähnte cystenartige Gebilde von Bedeutung zu sein. Wir möchten schon hier betonen, dass es sich bei dieser Ansicht über die Bedeutung der Cyste um eine Vermuthung handelt, die sich allerdings auf einige Beobachtungen stützt. Um über die Bedeutung der Cyste für den Entwicklungsgang der Trypanosomen völlig in's Klare zu kommen, benöthigen wir noch der unterbrochenen Reihe von Befunden bei der Wiederentwicklung der Trypanosomen. Da wir die Cyste in grossen Mengen bei den mit Brillantgrün behandelten Thieren, vereinzelt auch bei dem Untergange von Trypanosomen in dem Blute kurz vor dem Tode des unbehandelten Versuchsthieres, wenn durch die ungeheure Vermehrung der Flagellaten die Lebensbedingungen für

¹ I. R. Bradford and H. G. Plimmer, The Trypanosoma Brucei, the Organism found in Nagana, or Tse-Tse Fly Disease. *Quart. Journ. Microscop. Sci.* 1902. Nr. 179.

das Einzelindividuum ungünstiger geworden sind, gefunden haben, so ist ihr vielleicht eine Bedeutung zur Erhaltung der Art unter ungünstigen Verhältnissen zuzuschreiben.

Die von Bradford und Plimmer¹ beschriebenen Conjugationsformen treten gewöhnlich 5 bis 10 Stunden nach der Behandlung mit Brillantgrün zahlreich auf (Taf. V, Fig. 5). Die beiden Autoren beobachteten, dass gewöhnlich ein normales und ein im Verquellungsstadium befindliches Trypanosoma zur Conjugation zusammentreten. Wir sahen, dass allerdings fast regelmässig das eine der zur Conjugation gehörigen Trypanosomen im Protoplasma des vorderen Endes eine feine alveoläre Structur zeigt. Vermuthlich decken sich die beiderseitigen Beobachtungen. Schilling² hält diese Erscheinung für die letzte Phase der Theilung, bei der die beiden Trypanosomen nur noch an dem einen Ende zusammenhängen. Es würden demnach diese Conjugationsformen am zahlreichsten zu finden sein zu einer Zeit, wo schon die normalen Theilungserscheinungen seltener geworden sind.

Trypanosomen, welche nach der Brillantgrünbehandlung ihre normale Form behalten haben, färben sich ebenso gut als vorher.

16 bis 20 Stunden nach der Einverleibung des Brillantgrüns hört die normale Theilung ganz auf.

Nach ungefähr 15 bis 20 Stunden treten amöboide Formen auf mit grossen Cysten, die oft in der Mitte liegen (Taf. V, Fig. 6). Die Geisselwurzel, welche in der Cystenwand liegt, färbt sich scharf purpurroth, ebenso die Geissel, während der Körper eine diffuse, blass-lilla Färbung annimmt. Die Kerne sind nicht immer erkennbar. Die Chromatinsubstanz lagert sich bei ihnen peripher. In dieser Zeit löst sich oft die Geissel mit ihrer Wurzel deutlich vom Körper ab und findet sich auch ganz frei (Taf. V, Fig. 7).

Bei dem oben erwähnten Hunde fanden sich nach der Behandlung mit Brillantgrün freie Kerne und freie Geisseln mit Wurzel oft haufenweise im Blute (Taf. V, Fig. 8). An den frei herumschwimmenden Geisselwurzeln zeigten sich Theilungserscheinungen (Taf. V, Fig. 9).

Bei Ratten, welche wir in der oben beschriebenen Weise 3 Mal mit Brillantgrün und dann 14 Tage mit Arsenik behandelten, fanden sich in den weissen Blutkörperchen Cysten mit deutlich sichtbarer wandständiger Geisselwurzel eingeschlossen (Taf. V, Fig. 10).

Bradford und Plimmer³ fanden farblose Körper in den Leukocyten entmilzter Katzen. Sie fassen diese Körper als letztes Zerfalls-

¹ A. a. O.

² A. a. O.

³ A. a. O.

stadium der Trypanosomen auf. Das Vorhandensein der Geisselwurzel erwähnen sie nicht.

Die von uns beobachteten Einschlüsse könnten möglicher Weise identisch sein mit den von Leishman¹, Donovan², Blanchard³ Marchand und Ledingham⁴ u. A. untersuchten sogen. Leishman-Donovan'schen Körperchen, die von Leishman und Donovan in Milzausstrichen von an Tropenfieber Gestorbenen entdeckt wurden. Donovan fasst diese Gebilde als Degenerationsformen von Trypanosomen auf, während Leishman glaubt, es könnten Entwicklungsstadien davon sein. Er fand sie als Einschlüsse von Makrophagen. Beide Forscher fanden sie nur in Milzausstrichen. Wir beobachteten diese Formen in Leukocyten (Fig. 10) auch im Blutkreislauf, wo sie schwer färbbar sind und erst dann sichtbar werden, wenn in dem Präparat durch Zufall aus den sie umgebenden rothen Blutkörperchen das Hämoglobin ausgetreten ist, wodurch ein gefärbter Untergrund entsteht, der die hellen Körperchen erkennen lässt.

Von unseren Versuchsprotokollen lassen wir hier einige folgen, aus denen die Aufeinanderfolge der einzelnen Vorgänge bei dem Verschwinden der Trypanosomen aus dem Rattenblute nach Brillantgrünbehandlung ersichtlich ist. Um eine unnöthige Breite der Darstellung zu vermeiden, bedienen wir uns dabei einer möglichst kurzen Fassung und bezeichnen nach dem Vorgange von Schilling die Mengen der vorhandenen Trypanosomen mit Kreuzen nach folgendem Schema:

+	bedeutet 1 bis 10 Trypanosoma im Deckglasausstrich.
++	„ 1 bis 2 in jedem Gesichtsfelde.
+++	„ mehrere in jedem Gesichtsfelde.
++++	„ unzählige in jedem Gesichtsfelde.

Versuch I.

Ratte Nr. 375. Inficirt am 14. I. Am 19. I. mit 1^{ccm} Brillantgrün subcutan injicirt. Von da ab alle 5 Stunden einen Blutausstrich untersucht.

¹ B. W. Leishman, On the possibility of occurrence of Trypanosomiasis in India. *Brit. Med. Journ.* 30. May 1903. p. 1252. — Discussions on the Leishman-Donovan body. *Ebenda.* 17. Sept. 1903.

² Donovan, On the possibility of Trypanosomiasis in India. *Ebenda.* 11. Juli 1903. p. 79.

³ Blanchard, Note critique sur les corpuscules de Leishman-Donovan *Centralblatt für Bakteriologie.* Bd. XXXVI. S. 145.

⁴ F. Marchand u. I. C. C. Ledingham, Ueber Infection mit Leishman'schen Körperchen (Kala-Alzar) und ihr Verhältniss zur Trypanosomenkrankheit. *Diese Zeitschrift.* Bd. XLVII. S. 1.

1. Präparat vor der Behandlung: ++++ Tryp., gut färbbar, viel normale Theilungen, ganz vereinzelt verquollene Formen, die sich diffus färben.

2. Präparat 5 Stunden nach der Behandlung: ++++ Tryp. Normale Theilung seltener, Geisselwurzel nicht mehr strich-, sondern punktförmig. Mehr breite Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin. Hinteres Ende abgerundet, Cysten an der Geisselwurzel. Conjugation.

3. Präparat 10 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilung ganz vereinzelt. Kerne theils scharf gefärbt, theils heller mit peripher gelagertem Chromatin. Geisselwurzeln nur noch punktförmig. Auffallend viel Conjugation.

4. Präparat 15 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Keine Theilung mehr. Geisselwurzeln punktförmig; fast lauter breite Formen mit peripher gelagertem Chromatin und grossen Cysten an der Geisselwurzel. Vereinzelte amöboide Formen.

5. Präparat 20 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Vereinzelte normale Formen mit normaler Theilung; meist breite, diffus gefärbte Formen mit grossen Cysten, die bei den amöboiden Formen in der Mitte gelagert sind (Taf. V, Fig. 6).

6. Präparat 25 Stunden nach der Behandlung: + Tryp. Keine Theilung. Breite, diffus gefärbte Formen. Schatten von Erythrocyten.

7. Präparat 30 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Nackte Kerne von Trypanosomen und Fetzen von Trypanosomenleibern.

8. Präparat 35 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viel Blutplättchen.

Bei diesem Versuche fanden sich noch 20 Stunden nach der Behandlung mit Brillantgrün vereinzelte normale Theilungsformen, während dieselben meist schon nach 14 bis 16 Stunden zu verschwinden pflegen.

Versuch II.

Ratte Nr. 376. Inficirt am 14. I. Am 20. I. überschwemmt mit Trypanosomen. Injection von 1^{cem} Brillantgrün subcutan. Nach 4 Stunden der erste Blutausschlag; von da ab alle 5 Stunden eine Blutentnahme.

1. Präparat vor der Behandlung: ++++ Tryp. Viele normale Theilungen. Kerne gut färbbar, keine breiten Formen.

2. Präparat 4 Stunden nach der Behandlung: ++++ Tryp. Keine normale Theilung. Viel verquollene Formen, die sich diffus färben. Hinteres Ende abgerundet mit einer Cyste an der Geisselwurzel; diese meist punktförmig.

3. Präparat 9 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung. Kerne blass. Vereinzelte scharf gefärbte Trypanosomen. Vereinzelte Conjugation. Meist verquollene breite Formen.

4. Präparat 14 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung. Kerne dunkler mit peripher gelagertem Chromatin. Viele breite Formen mit grossen Cysten an der Geisselwurzel. Vereinzelte amöboide Formen.

5. Präparat 19 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Keine Theilung. Verquollene Formen mit Cysten an der Geisselwurzel.

6. Präparat 24 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Vereinzelte nackte Kerne. Viele Schatten von Erythrocyten.

7. Präparat 29 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Vereinzelte nackte Kerne.

8. Präparat 34 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp.

Versuch III.

Ratte Nr. 386. Inficirt am 6. II. 1905. Am 11. II. überschwemmt mit Trypanosomen. Injection von 1^{ccm} Brillantgrün subcutan. Dann stündlich ein Blutaussstrich.

1. Präparat vor der Behandlung: ++++ Tryp. Starke normale Theilung. Kerne scharf gefärbt. Hinteres Ende der Trypanosomen spitz. Keine breiten Formen.

2. Präparat 1 Stunde nach der Behandlung: ++++ Tryp. Starke Theilung, fast lauter schlanke, hinten spitze Formen. Ganz vereinzelt breite Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin.

3. Präparat 2 Stunden nach der Behandlung: ++++ Tryp. Viele normale Theilungen. Vielfach Theilungsformen am Kern, doch bleibt die Geisselwurzel punktförmig.

4. Präparat 3 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Viele normale Theilungen. Kerne scharf gefärbt. Neben schlanken Formen treten breite auf, deren hinteres Ende abgerundet ist und kleine Cysten an der Geisselwurzel zeigt. Conjugationsformen.

5. Präparat 4 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilungsformen, daneben breite Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin. Cysten an der Geisselwurzel.

6. Präparat 5 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilungsformen. Kerne scharf gefärbt. Breite Formen mit diffuser Färbung neben normalen schlanken Trypanosomen.

7. Präparat 6 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Wie das vorhergehende Präparat.

8. Präparat 7 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Normale Theilung fängt an seltener zu werden. Viele Trypanosomen, in denen der Kern sich noch theilt, die Geisselwurzel aber punktförmig bleibt. Neben schlanken viel breite verquollene Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin und grossen Cysten an der Geisselwurzel.

9. Präparat 8 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Normale Theilung mit stäbchenförmiger Geisselwurzel selten, letztere meist punktförmig. Meist breite Formen mit schaumigem Körper.

10. Präparat 9 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Es zeigen sich wieder mehr Trypanosomen, aber normale Theilung ist ganz selten. Meist breite, verquollene Formen mit peripher gelagertem Kernchromatin.

11. Präparat 10 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Vereinzelte normale Theilung. Kerne schlecht färbbar.

12. Präparat 11 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung mehr. Schlanke und breite Formen.

13. Präparat 12 Stunden nach der Behandlung: +++ Tryp. Keine normale Theilung. Nur noch breite Formen, deren hinteres Ende abgestumpft ist. Cysten deutlich sichtbar.

14. Präparat 14 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Verquollene, schaumige Formen mit grossen Cysten an der Geisselwurzel. Vereinzelte amöboide Formen.

15. Präparat 16 Stunden nach der Behandlung: ++ Tryp. Das Präparat ist nicht scharf gefärbt, da das Hämoglobin ausgetreten ist. Man erkennt darin Fetzen von Trypanosomen und nackte Kerne.

16. Präparat 18 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viele Schatten von Erythrocyten.

17. Präparat 20 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viele Schatten von Erythrocyten.

18. Präparat 22 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Viele Leukocyten. Blutplättchen.

19. Präparat 24 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp. Blut hat wieder normales Aussehen.

20. Präparat 30 Stunden nach der Behandlung: 0 Tryp.

Nach der Behandlung mit Brillantgrün trat, wie oben beschrieben, ein Zustand ein, in welchem es nicht mehr gelang, mit dem Blut der behandelten Ratte eine andere zu inficiren, selbst bei Injectionen von 2^{ccm} Blut. In dem Blute waren also keine Keime mehr, welche zur Neuentwicklung geeignet waren. Die behandelte Ratte selbst blieb aber nicht dauernd frei. Ausserhalb des Blutes mussten sich also derartige Keime — Dauerformen — befinden.

Wir suchten nach solchen Formen in der Milz von Ratten, welche mit Nagana-Trypanosomen inficirt, und deren Blut dann durch Brillantgrünbehandlung längere Zeit parasitenfrei gehalten worden war. Diese Thiere wurden, ehe die Trypanosomen wieder auftraten, getödtet, und Milzausstriche untersucht. Die von uns hierbei gemachten Beobachtungen sind lückenhaft geblieben. Wir glauben aber doch einzelne Stadien der Neuentwicklung gesehen zu haben. In den Milzausstrichen sahen wir grosse freiliegende Cysten mit deutlicher Geisselwurzel und angedeutetem Kern (Taf. V, Fig. 11a). Diese Cysten halten wir zur Zeit für eine Weiterentwicklung der Cysten, welche sich an dem hinteren Ende der Trypanosomen beim Untergange nach Brillantgrünbehandlung finden. Diese Cysten werden, wie oben gesagt, von den Leukocyten aufgenommen und könnten sich auch in der Milz und anderen Organen ablagern. So lange Brillantgrün oder Arsenik im Körper kreist, kommen sie nicht zur Entwicklung. Kleinere Cysten, die genau den Befunden in den Trypanosomen entsprechen würden, haben wir bisher in der Milz nicht gefunden. Die Leukocyten nehmen diese Formen in sich auf, besonders wenn Nucleinsäure dem Thiere einverleibt worden ist (Taf. V, Fig. 10b).

Ferner fanden wir in der Milz Cysten, welche nicht mehr kugelförmig erschienen, sondern eine mehr eiförmige Gestalt angenommen hatten. In ihnen sind Kern und Geisselwurzel gut erkennbar. Der Körper des

Trypanosomas ist anscheinend zusammengerollt schon vorhanden (Taf. V, Fig. 11 b). Diese Cysten erscheinen kleiner als die ersterwähnten; wahrscheinlich hat das Volumen durch Zusammensinken der Wandung abgenommen.

Schliesslich fanden sich freie Trypanosomen ohne Geissel, die kaum halb so gross wie die normalen sind (Taf. V, Fig. 11 c). Ein Vergleich mit (Taf. V, Figg. 1 und 2), welche normale Trypanosomen darstellt, die mit gleicher Vergrösserung und absolut in gleicher Weise mit dem Zeichenapparat gezeichnet worden sind, zeigt deutlich den Grössenunterschied. Wir haben diese kleinen geissellosen Trypanosomen als Jugendform angesprochen, die sich aus der Cyste (Taf. V, Fig. 11 b) aufgerollt hat. Diese Formen wurden gefunden, zu einem Zeitpunkt, der nach unseren Erfahrungen dicht vor dem Wiederauftreten der Trypanosomen im Blute lag. Die von Wasielewski¹ erwähnte Birnenform, die er als eine Jugendform bezeichnet, ist uns nie aufgefallen.

Die Formen der Neuentwicklung in der Milz sind nicht immer mit Sicherheit zu finden, da es anscheinend davon abhängt, dass man genau zur richtigen Zeit die Ratte tödtet. Trotz einer grossen Reihe von Versuchen haben wir diese Beobachtungen nur 2 Mal machen können.

Ausser den besprochenen Vorgängen bei dem Untergange und der Neubildung der Trypanosomen machten wir noch eine Beobachtung, deren Bedeutung uns nicht klar geworden ist, auf die wir aber doch hinweisen möchten. Wenn man Rattenblut, das vorher mit Trypanosomen überschwemmt gewesen war, und das durch eine Einspritzung von Brillantgrün die Flagellaten in Zerfallstadien enthält, mit Ehrlich'schem Neutralroth versetzt und im hängenden Tropfen untersucht, so findet man darin kleine, sich braunroth färbende, kokkenähnliche Gebilde, die meist zu zweien angeordnet, in lebhaft zitternder Bewegung sind. Häufig scheinen sie sich an rothe Blutkörperchen anzuheften. Diese Körperchen haben die Grösse der Geisselwurzel von Nagana-Trypanosomen. In rothe Blutkörperchen eindringen sahen wir dieselben nicht.

Ähnliche Gebilde fanden sich massenhaft in gefärbten Präparaten. Wenn dann zwei solche Körperchen zusammenliegen, so sind sie durch zwei feine Linien mit einander verbunden. Dazwischen liegt eine ungefärbte Vacuole. Ob dies Geisselwurzeln von Trypanosomen sind, die gerade im Theilungsstadium befindlich vom Brillantgrün vernichtet wurden, müssen erst weitere Untersuchungen ergeben. Daran hängende Geissel-

¹ Wasielewski, Beitrag zur Kenntniss der Flagellaten des Rattenblutes. *Diese Zeitschrift*. 1900. Bd. XXXIII. S. 444.

² A. a. O.

reste oder frei herum schwimmende Geisseln im hängenden Tropfen, wie sie Nissle schildert, haben wir nicht gesehen.

Einen ähnlichen Befund scheint Moore¹ gemacht zu haben; leider konnten wir die Originalarbeit nicht einsehen.

Wir fassen die Resultate der vorstehenden Arbeit in den folgenden Sätzen zusammen:

1. Das Brillantgrün bringt die Nagana-Trypanosomen aus dem mit denselben überschwemmten Blute bei Ratten und beim Affen mit Sicherheit zum Verschwinden. Man kann mit Brillantgrünbehandlung das Leben der Ratten und der Affen verlängern. Eine Combination mit Arsenik erhöht die Wirkung und bringt unter Umständen eine Heilung zu Stande.

2. Das Blut einer Ratte oder eines Affen, die nach der Infection mit Brillantgrün behandelt worden sind, ist zu einer gewissen Zeit nicht infectiös.

3. Bei dem Untergange der Trypanosomen im Blute nach Brillantgrünbehandlung finden sich ganz bestimmte Formen mit Cystenbildung. Dieser Cyste glauben wir eine Bedeutung bei der Neuentwicklung der Trypanosomen zuschreiben zu dürfen. Da mit dem Brillantgrün uns ein Mittel an die Hand gegeben ist, die normalen Formen der Trypanosomen zu vernichten, so ist ein genaueres Studium der Untergangsformen ermöglicht. Das Studium der Neuentwicklung der Trypanosomen wird dadurch auch erleichtert.

4. Die Neuentwicklung geht wahrscheinlich in der Milz vor sich, ob auch in anderen Organen, haben wir bisher nicht entscheiden können.

Nachtrag.

Während der Drucklegung der vorstehenden Arbeit wurde der Affe (S. 270) noch weiter beobachtet. Die letzte Behandlung fand am 2. VIII. statt. Seitdem sind in seinem Blute keine Trypanosomen mehr mikroskopisch nachgewiesen worden. Nach Ueberimpfung seines Blutes auf eine Ratte am 9. VIII. entwickelten sich bei dieser Trypanosomen. Dagegen fielen Ueberimpfungen am 28. IX, am 7. und 8. X. negativ aus. Da seit der letzten Behandlung 3 Monate ohne Recidiv verstrichen waren, so glaubten wir den Affen am 31. X. als geheilt betrachten zu dürfen und nahmen an diesem Tage eine neue Infection mit Nagana-Trypanosomen vor, über deren Verlauf wir noch nichts wissen.

¹ E. J. Moore, Some observations pointing to the intracorpuseular stage of development in the Trypanosome. *Lancet.* 1. X.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. V.)

Zu allen Zeichnungen benutzten wir Zeiss Immersion, Apochrom. 2^{mm}, Ocular 18 und den Zeiss'schen Zeichenapparat und Zeichentisch.

Fig. 1. Normale Nagana-Trypanosomen mit hyalinem Plasma und ungetheiltem Kern. Daneben zwei rothe Blutkörperchen.

Fig. 2. Normale Nagana-Trypanosomen in Theilungsstadien. *a* Theilung der Geisselwurzel. *b* Beginnende Kerntheilung und schon entwickelte zweite Geissel. *c* Vollendete Kerntheilung. *d* Beginnende Längsspaltung.

Fig. 3. Normale Zerfallstadien, wie sie 1 bis 2 Tage vor dem Tode des Versuchsthieres und in gestandenem Blute stets zu finden sind. Das Plasma zeigt eine feinkörnige Structur. Kern und Geisselwurzel können in Theilung sein. Ueberall, selbst bei den amöboïden Formen, ist das hintere Ende zugespitzt.

Fig. 4. Trypanosomen ca. 14 Stunden nach der Behandlung mit Brillantgrün. Das hintere abgerundete Ende zeigt eine deutliche Cyste. Bei *a* ist die Geissel noch sichtbar. Bei *b* Kerntheilung ohne Theilung der Geisselwurzel.

Fig. 5. Conjugationsformen nach Behandlung mit Brillantgrün.

Fig. 6. Amöboïde Formen 14 bis 20 Stunden nach Behandlung mit Brillantgrün. Die Cyste lagert sich mehr in die Mitte. *a* Mit noch deutlich sichtbarer Geissel. *b* Geissel nicht mehr zu erkennen. *c* Nur noch die Cyste mit scharf rother Geisselwurzel zu sehen.

Fig. 7. Amöboïde Formen, bei denen sich die Geissel löst, und freie Geissel mit Geisselwurzel.

Fig. 8. Hundeblood nach Behandlung mit Brillantgrün. Zwischen rothen Blutkörperchen viele freie Kerne und freie Geisseln, bei deren Wurzel Theilungsformen sichtbar sind.

Fig. 9. Gleiches Präparat. Frei im Serum schwimmende Geisseln und getheilte Geisselformen.

Fig. 10. Leukocyten, in denen Cysten mit scharf gefärbten Geisselwurzeln eingeschlossen liegen.

Fig. 11. Milzausstrich beim ersten Wiederauftreten von Trypanosomen. *a* Grosse blassblaue Cyste mit scharf gefärbter Geisselwurzel und angedeutetem Kern. *b* Vier kleinere abgeplattete Cysten, in denen man zusammengerollte Trypanosomen mit Kern und Geisselwurzel erkennt. *c* Aufgerollte Trypanosomen, ungefähr halb so gross als normale. Geisseln fehlen. *d* Zwei grosse einkernige weisse Blutkörperchen.

Fig. 12. Schattenhafte Trypanosomen, die nicht vermehrungsfähig waren und keine Dauerinfection hervorriefen.