Ueber den Weg der Infektion bei Trypanosomen- und Spirochätenerkrankungen.¹⁾

Von Prof. Dr. A. Schuberg, Reg.-Rat, und Dr. W. Böing, Wissenschaftlichem Hilfsarbeiter im Kaiserl. Gesundheitsamt, Berlin-Dahlem.

M. H. ! Obwohl die Literatur über Trypanosomen und Trypanosomenkrankungen fast unüberschaubar und die Menge der auf diesem Gebiete bekannt gewordenen Tatsachen ungeheuer groß ist, hat doch eine Frage bis jetzt nur wenig oder gar keine Beachtung gefunden, nämlich die Frage, welchen Weg die in den Wirbeltierorganismus eingedrungenen Parasiten einschlagen, um diesen zu überschwemmen und ihr oft so verheerendes Werk zu beginnen.

Nach der fast allgemein herrschenden Anschauung sind die Trypanosomen in erster Linie und vorwiegend Blutparasiten. Für manche Arten wurde allerdings auch schon ausgesprochen, daß sie wenigstens zeitweise mehr als Gewebeparasiten anzusehen seien.

Wir wissen, daß in einer Reihe von Fällen die natürliche Infektion dadurch erfolgt, daß die Trypanosomen von blutsaugenden Insekten mit dem diesen zur Nahrung dienenden Blute aufgenommen werden und bei erneuter Nahrungsaufnahme der Insekten in das Wirbeltier gelangen. Ob sie in dem Insekt eine Entwicklung durchmachen, ist für die uns beschäftigende Frage von keiner Bedeutung und kann daher hier unberücksichtigt bleiben. Wir wissen ferner, daß manche Trypanosomen nicht nur im Versuch durch die normale oder wenig verletzte Haut oder Schleimhaut ihren neuen Wirt zu befallen imstande sind, sondern daß diese Art der Uebertragung auch unter natürlichen Verhältnissen möglich ist, so bei der Dourine, wo sie die Regel darstellt, und bei der Schlafkrankheit, wo sie wenigstens in manchen Fällen vorzukommen scheint. Aber welchen Weg die Trypanosomen von dem Augenblick des Eindringens an einschlagen, wie sie sich im Organismus verbreiten, ist unseres Wissens bis jetzt nicht bekannt. Für Spirochäten hat diese Frage hinsichtlich der perkutanen Infektion auf meine Veranlassung und in meinem Laboratorium Herr Dr. Schellack untersucht, worauf nur hingewiesen sei.²⁾

Die vorliegenden Untersuchungen schlossen sich zunächst an die Versuche von Schellack an. Es zeigte sich indessen bald, daß die perkutane Infektion, auch bei Skarifikation oder Abreiben der Haut mit Sandpapier, nicht günstig ist. Es lag nun nahe, einmal die Stiche einheimischer Stechfliegen zu untersuchen, durch die, wie von Schuberg und Kuhn gezeigt wurde, bei sofortigem Weitersaugen eine Uebertragung möglich ist. Da man aber auf ein bestimmtes Hautstück stets nur eine verhältnismäßig kleine Anzahl von Fliegen gleichzeitig ansetzen kann, ist die unbedingt notwendige Untersuchung auf Schnitten durch die Haut recht schwierig und vor allem sehr mühsam.

Wir kamen daher auf den Gedanken, die Haut durch Stiche feinsten Insektennadeln zu durchbohren, die sich auf einem eng begrenzten Hautbezirk leicht in größerer Menge dicht nebeneinander anbringen ließen, was natürlich das Auffinden der Stiche in den Schnitten ganz bedeutend erleichtert. Auf solche Stichstellen wurde trypanosomenhaltiges Blut aufgeträufelt und — wir gehen hier auf die genaueren Versuchsbedingungen nicht ein — einige Zeit belassen. Nur das sei erwähnt, daß die Nadeln möglichst wenig tief eingesteckt wurden. Diese Versuchsanordnung erwies sich als erfolgreich. Die Stichstellen waren in den Schnitten durch die Haut aufzufinden, und auch das Verhalten der eingedrungenen Trypanosomen konnte ermittelt werden, worauf noch zurückzukommen sein wird.

Da aber die auf diese Weise in die Haut eindringenden Trypanosomen doch verhältnismäßig wenig zahlreich sind, schien uns noch ein anderes Verfahren des Versuches bedürftig und wert zu sein, das nach unserer Ansicht den Verhältnissen der natürlichen Infektion durch Insektentische in vieler Hinsicht nahekommt. Da die Insekten mit ihrem Stechrüssel nur in das Corium eindringen und wohl kaum ins Unterhautbindegewebe gelangen dürften, so wurde versucht, mit der Spritze intrakutane Injektionen auszuführen, die sich möglichst, wie bei den Injektionen nach Schleich, unmittelbar unter die Epidermis, oder wenig-

stens der Hauptsache nach ins Corium und nicht ins Unterhautbindegewebe ergießen. Bei der Dünnhaut der Haut der Ratten und Mäuse, die zu den Versuchen verwendet wurden, war dies natürlich nicht ganz leicht. Immerhin gelang es, die möglichst feine Kanüle stets so einzuführen, daß sie durch die Haut hindurch deutlich zu erkennen war und so oberflächlich wie möglich entleert wurde. Die Untersuchung auf Schnitten zeigte, daß es auf diese Weise in sehr vielen Fällen gelingt, das trypanosomenhaltige Blut, das von stark infizierten Tieren entnommen, mit 5% iger Lösung von Natr. citric. zur Hälfte verdünnt und unmittelbar darauf verwendet wurde, ins Corium einzuführen. Hier, und ebenso im Unterhautbindegewebe, wenn dies mit angestochen wurde, bildeten sich deutliche Blasen, die äußerlich noch bis zu mehreren Stunden erkennbar blieben. Die geschilderte Versuchsanordnung stimmt mit der natürlichen Infektion durch Fliegenstiche insofern überein, als die Parasiten wie bei dieser ins Corium gelangen, bietet aber den Unterschied und Vorteil, daß die übertragene Parasitenmenge viel größer ist als unter natürlichen Verhältnissen, sodaß sich ihr weiteres Verhalten leichter untersuchen läßt.

Bei den ersten Versuchen wurden die Injektionsblasen am Bauche der Tiere gesetzt; später jedoch wurde ausschließlich am Oberschenkel injiziert, und zwar deshalb, weil es sich als wünschenswert und notwendig erwies, die benachbarten Lymphknoten zu untersuchen. Die Untersuchung erfolgte auf Schnitten, die nach der von Schuberg angegebenen Modifikation der Giemsa'schen Methode gefärbt wurden.

Bisher dienten Trypanosoma Lewisi und Brucei zu den Versuchen, die aber noch auf weitere Parasitenarten ausgedehnt werden sollen.

Versuche mit Trypanosoma Lewisi. Schon die Versuche mit Stichen von Insektennadeln ergaben, daß die durch sie eingedrungenen Trypanosomen aus dem Stichkanal weg und ziemlich weit ins Corium hineinwandern; man findet in Schnittpräparaten die Parasiten nach ein bis zwei Stunden in den Lücken zwischen den Bindegewebsbündeln schon bis zu mehreren Gesichtsfeldern von der Stichstelle entfernt.

Noch belehrender aber sind Versuche mit der oben geschilderten intrakutanen Blaseninfektion. Bei einer Ratte, die eine halbe Stunde nach der Infektion getötet wurde, waren die Trypanosomen fast schon sämtlich aus der Blase verschwunden, um die sich zum Teil zahlreiche Leukozyten angesammelt hatten, ohne daß jedoch phagozytierte Parasiten zu finden waren. Die Trypanosomen haben sich weiterhin ins Corium zerstreut. Das gleiche Bild ergab ein Versuch mit einer Stunde. Nach drei Stunden findet man die Trypanosomen im Corium bis unmittelbar unter die Epidermis vorgedrungen. Versuche von vier Stunden zeigen dasselbe und lassen überdies deutlich Vermehrungsstadien erkennen. In den Leistendrüsen waren noch keine Parasiten zu finden, und zwar sowohl bei Infektion am Bauch wie am Oberschenkel. Nach 24 Stunden waren im Corium noch zahlreiche Trypanosomen vorhanden, die teilweise zur Vermehrung sich ansickten. In der Leistenrinne und ebenso im Schwanzblut und im Herzblut fehlten die Parasiten; es muß jedoch bemerkt werden, daß in diesem Falle die Blase am Bauch gesetzt worden war. Nach 2 mal 24 Stunden enthielt die Haut noch immer zahlreiche Trypanosomen, und nun wurden solche — die Blasen waren beiderseits an den Oberschenkeln angebracht worden —, auch in den Leistendrüsen angetroffen, während sie bemerkenswerterweise im Schwanzblut und in der Leibeshöhlenflüssigkeit fehlten. Auch die Axillardrüsen und die Mesenterialdrüsen waren frei.

Dieser Befund spricht dafür, daß die Trypanosomen aus der Haut zunächst in die benachbarte Lymphdrüse gelangen, jedenfalls früher, als sie in die Blutbahn eintreten.

Bei zwei Versuchen von 3 mal 24 Stunden waren weder in der Haut, noch in den Leistendrüsen Parasiten zu erkennen. Auch die Blasen waren davon frei, in einem Falle fanden sich im Schwanzblute spärliche Trypanosomen. Es erscheint uns nicht ausgeschlossen, daß es sich hierbei um einen Zufall handelt, doch müssen weitere Versuche zur Aufklärung angestellt werden.

Daß durch die geschilderte Infektionsart eine normale Infektion zustande kommen kann, wurde natürlich besonders festgestellt.

In einem Falle erschienen die Trypanosomen nach 10 Tagen im Blute, nach derselben Zeit, wie es in einem früher angestellten Versuche bei Uebertragung durch Läuse der Fall war. In einem zweiten Versuche wurden schon nach 5 Tagen Parasiten im Blute angetroffen, die am 16. Tage wieder verschwunden waren. In der am 17. Tage nach der Infektion getöteten Ratte fanden sich keine Trypanosomen; auch die Bauchhaut, an der die Infektion erfolgt war, war frei davon.

Versuche mit Trypanosoma Brucei. Bei den mit Nagana angestellten Versuchen von 1 mal bis 4 mal 24 Stunden wurden die Trypanosomen im Corium stets in sehr großer Menge beobachtet; mitunter waren noch welche in der Blutblase vorhanden, die Mehrzahl wurde jedoch außerhalb dieser, zwischen den Bindegewebsbündeln, in den Lymphspalten, angetroffen. Im Corium waren sie bis unmittelbar

¹⁾ Vortrag, gehalten von A. Schuberg auf der VII. Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, zu Berlin, am 2. April 1913.

²⁾ Arb. a. d. K. G. A. 1912, Bd. 40.

unter die Epidermis gewandert. Bei den Versuchen von 1 mal 24 Stunden war das aus dem Schwanz entnommene Blut immer frei von Parasiten; trotzdem aber fanden sich regelmäßig Trypanosomen in den Leisten-
drüsen, wenn auch zum Teil noch in geringerer Anzahl. Dabei war, wenn nur auf einer Körperseite injiziert worden war, nur die zugehörige Inguinaldrüse etwas vergrößert und parasitenhaltig; in diesem Falle zeigte aber auch die Axillardrüse der gleichen Seite eine Vergrößerung, während die Inguinal- und die Axillardrüse der entgegengesetzten Seite und die Mesenterialdrüsen nicht vergrößert waren.

Bei Versuchen von 48 und 50 Stunden enthielt das Schwanzblut entweder noch gar keine oder nur sehr wenige Trypanosomen. In der Haut waren sie, wie stets, reichlich vorhanden, und auch die Leisten-
drüsen waren von zum Teil außerordentlich großen Mengen erfüllt. Diese Fälle sind insofern sehr lehrreich, als man auf den Schnitten durch die Inguinaldrüsen in den Blutgefäßen keine oder höchstens ganz spärliche Parasiten findet, während die sie umgebenden Drüsenpartien dicht von ihnen erfüllt sein können.

Bei den Tieren, die nach 3 mal 24 Stunden getötet wurden, waren die Trypanosomen teils nach 2 mal 24 Stunden, teils erst am Tage, an dem die Ratten getötet wurden, im Blute aufgetreten. Die Haut ließ bis zum Epithel hin große Mengen von ihnen erkennen, und ebenso die Inguinaldrüsen wie die Axillardrüsen, wenn die Blasen auf beiden Seiten des Körpers gesetzt waren. Wurde nur auf einer Seite injiziert, so waren die Trypanosomen sowohl in der Inguinal- wie in der Axillardrüse dieser Seite in reichlicher Menge vorhanden, die auch beide vergrößert waren. In den Drüsen der entgegengesetzten Seite fanden sie sich dagegen nur innerhalb der Blutgefäße. Von einem solchen Falle wurde die Leisten-
drüse der injizierten Seite zusammen mit dem sie überlagernden Hautstück geschnitten. Es zeigte sich, daß auch das die Drüse überlagernde Hautstück große Mengen von Parasiten enthielt und daß diese von den unmittelbar unter der Epidermis liegenden Teilen des Coriums sich, teilweise ganze Züge bildend, bis zur Drüse hin verfolgen ließen. Ein einer solchen Ratte am Rücken entnommenes Hautstück enthielt dagegen keine Trypanosomen.

Aus diesen Befunden darf, wie vorweg genommen sei, wohl geschlossen werden, daß die Parasiten von der Infektionsstelle aus im Corium und vielleicht auch im Unterhautbindegewebe weiter- und in die nächste Lymphdrüse einwandern.

Die Versuche mit 4 mal 24 Stunden, auf die nicht mehr genauer eingegangen werden soll, bringen im wesentlichen Bestätigungen der 3 mal 24 Stundenversuche.

Die Zahl der Untersuchungen über Trypanosomen ist so groß, daß es wunderbar wäre, wenn alle unsere Beobachtungen den früheren Untersuchern ganz entgangen wären. Immerhin aber sind einige Ergebnisse neu und, wie wir glauben, nicht unwichtig. Und soweit sie nicht völlig neu sind, tragen sie doch zur Aufklärung einiger strittiger Fragen bei und lassen manche schon früher beobachteten Tatsachen in einem neuen Lichte erscheinen.

Daß unter dem pathologisch-anatomischen Befund der Trypanosomenkrankheiten die Vergrößerung der Lymphknoten eines der am häufigsten auftretenden Merkmale ist, ist so allgemein bekannt, daß hierauf kaum hingewiesen zu werden braucht. Bekannt ist auch, daß diese Vergrößerungen häufig sehr früh auftreten; spielen sie doch sogar bei der Diagnose, z. B. der Schlafkrankheit, eine große Rolle. Das Gleiche gilt vom Vorkommen der Trypanosomen in den Lymphknoten, das ja ebenfalls zu diagnostischen Zwecken benützt wird. Es ist ferner schon lange bekannt, daß in den bei vielen Trypanosomenkrankheiten auftretenden und zum Teil so charakteristischen ödematösen Schwellungen der Haut Trypanosomen gefunden werden, nicht selten auch dann, wenn das Blut keine Spur von ihnen erkennen läßt.

Schon verschiedene Autoren, wir nennen nur beispielsweise Halberstädter, York, Wolbach und Binger, haben Hautschnitte abgebildet, in denen die Trypanosomen, wie in unseren Präparaten, im Corium bis zur Epidermis hin verteilt sind. Aber diese Befunde stammen von Tieren, die schon längere Zeit, teilweise sogar schon sehr lange erkrankt waren. Gerade die Oedeme der Haut, in denen sich viele Trypanosomen finden, gelten in nicht wenigen Fällen als besondere Kennzeichen späterer Krankheitsperioden.

Im Gegensatz zu diesen zum Teil vielfach bestätigten Tatsachen beziehen sich unsere Feststellungen auf die ersten Tage, ja auf die ersten Stunden der Infektion, unmittelbar nach der Einverleibung der Parasiten in den Wirbeltierorganismus, und zwar nach einer Art der Einverleibung, die der natürlichen Infektion sehr nahe kommt, jedenfalls viel näher

als die meist üblichen Impfungen, als die subkutane oder gar als die intraperitoneale Infektion.

Besonders bemerkenswert erscheint uns die Feststellung, daß die Trypanosomen aus dem einverleibten Blute, wie die Versuche mit Lewisi-Trypanosomen zeigen — mit Nagana wurden solche Versuche bisher noch nicht angestellt —, schon nach einer halben Stunde und überhaupt in den ersten Stunden nach der Infektion auswandern. Da nicht wesentlich verändertes, artgleiches Blut eingespritzt wurde, ist diese Tatsache sehr auffällig. Sie scheint uns zu beweisen, daß die Parasiten, wenn wir uns so ausdrücken dürfen, den Aufenthalt in den Lymphspalten des Bindegewebes bevorzugen. Und daß sie hier tatsächlich gut gedeihen, zeigt die ebenfalls bei Trypanosoma Lewisi gemachte Beobachtung, daß sie sich hier bald zur Vermehrung anschicken. Daß eine Vermehrung erfolgen muß, wird ferner durch die sehr große Menge von Parasiten bewiesen, die man in der Haut findet, noch bevor sie in das Blut, und auch bevor sie in die Lymphknoten gelangt sind.

Daß die Trypanosomen von der Infektionsstelle aus zunächst in die benachbarten Lymphknoten gelangen, war schon von einigen früheren Autoren angegeben worden, so von Plimmer und Bradford für Nagana und von Mott für Dourine. Aber diese Angaben waren nicht genügend sichergestellt, und besonders die von Plimmer und Bradford wurde und wird auch jetzt noch von Laveran und Mesnil bestritten. Nach diesen beiden hervorragenden Kennern der Trypanosomenkrankheiten sind zwar die der Lymphstelle benachbarten Lymphknoten vergrößert; die Hypertrophie stehe aber nicht zu einer reicheren Vermehrung der Parasiten in Beziehung, die hier sogar seltener seien. Demgegenüber beweisen unsere Versuche mit Sicherheit, daß die betreffenden Lymphknoten nicht nur vergrößert, sondern daß sie auch von Trypanosomen geradezu überschwemmt sind; die Trypanosomen sind schon nach 24 Stunden vorhanden, nach 2, 3 und 4 Tagen aber in außerordentlich großen Mengen, und zwar zu einer Zeit, wo sie im Blute entweder noch ganz fehlen oder höchstens in geringen Mengen vorhanden sind. Diese Tatsache beweist, daß die Parasiten in den Lymphdrüsen sich weiter vermehrt haben, zumal sie hier häufig nesterweise zusammenliegend angetroffen werden. Die uns bis jetzt vorliegenden Tatsachen sprechen ferner dafür, daß die Trypanosomen zunächst von der Infektionsstelle aus im Corium, vielleicht auch im Unterhautbindegewebe weiterwandern, um die benachbarte Lymphdrüse zu erreichen. Sehr auffällig ist, daß man sie nicht nur zwischen der Haut und der Drüse, sondern auch nach innen von dieser, besonders in der Nähe von deren Hilus, in großen Mengen in dem die Drüsen umhüllenden Fettgewebe nachweisen kann. Natürlich sind sie hier offenbar in den das Fett durchziehenden Lymphbahnen enthalten.

Auch weiterhin wandern die Trypanosomen, noch bevor sie in nennenswerter Weise ins Blut gelangen, in den Lymphbahnen oder halten sich wenigstens in diesen auf. Bemerkenswert ist, daß nach unseren Beobachtungen bei Infektion am Oberschenkel nach der Inguinaldrüse stets zunächst die Axillardrüse der gleichen Seite reichliche Trypanosomen erkennen läßt und daß erst später die Drüsen der anderen Seite und die Mesenterialdrüsen folgen; und zwar enthalten diese die Parasiten anscheinend oft zuerst nur in den sie durchziehenden Blutgefäßen.

Zusammenfassung. Die mit dem Blut in den Körper des Versuchstieres intrakutan eingeführten Trypanosomen gelangen sehr rasch aus dem Blut in die Lymphspalten des Coriums, in diesem weiter und durch das Unterhautbindegewebe in die benachbarte Lymphdrüse, vermehren sich dabei außerordentlich stark auch in der Drüse noch, sind ferner in Drüsen der gleichen Körperseite in großer Menge nachweisbar, noch bevor sie im peripherischen Blut überhaupt oder in nennenswerter Weise aufgefunden werden können. Daraus ergibt sich aber die Folgerung, daß die untersuchten — und wahrscheinlich wohl alle — Trypanosomen mindestens zuerst und vielleicht wohl überhaupt nicht nur als Parasiten des Blutes, sondern in nicht geringerem Grade und sogar in erster Linie als Parasiten des

Lymphgefäßsystems anzusehen sind. Daß mit dieser Auffassung, die auch gelegentlich schon von anderen Autoren ausgesprochen worden ist, viele Tatsachen im Verlauf der Trypanosomeninfektionen nicht nur nicht im Widerspruch stehen, sondern geradezu erst ihre richtige Erklärung finden, kann hier nicht mehr weiter ausgeführt werden. Ebenso müssen wir uns versagen, auf weitere Folgerungen, die in verschiedener Richtung gezogen werden können, hier noch näher einzugehen.

Von den an Spirochäten in gleicher Hinsicht und bei ähnlichen Versuchsbedingungen angestellten Untersuchungen sei nur angeführt, daß es auch bei ihnen nachzuweisen gelang, daß sie sehr bald nach der Injektion aus dem eingeführten Blut in das umgebende Bindegewebe der Haut auswandern. Dies wurde sowohl für Recurrens- wie für Hühnerspirochäten festgestellt.

Nachschrift. — Auf der gleichen Tagung der Freien Vereinigung für Mikrobiologie, auf welcher der vorstehende Vortrag gehalten wurde, berichtete Uhlenhuth „Ueber die Infektiosität von Blut und anderen Körpersäften Syphilitischer für das Kaninchen“. In diesem Vortrag nahm Uhlenhuth auch Bezug auf Untersuchungen, die er gemeinsam mit Emmerich anstellte und die unter dem Titel „Ueber das Verhalten des Kaninchenhodens bei experimenteller Trypanosomen- und Spirochäteninfektion“ in Nr. 14 dieser Wochenschrift kürzlich veröffentlicht wurden.¹⁾ Das Ergebnis dieser Untersuchungen war, daß bei direkter Impfung von Trypanosomen der Dourine und Schlafkrankheit in den Hoden von Kaninchen eine Anreicherung festzustellen ist; bei einem Naganastamm war sie nicht augenfällig. Auch bei Impfung in die Blutbahn konnte bisweilen eine stärkere Vermehrung der Trypanosomen im Hoden als in der Blutbahn und anderen Organen festgestellt werden. Die Anreicherung war in vielen Fällen so ausgesprochen, daß die Untersuchung des Hodenpunktats der Kaninchen eine frühere Diagnose gestattet als die Untersuchung des Blutes der gleichzeitig und mit derselben Menge geimpften Mäuse.

In der Diskussion zu meinem Vortrage bemerkte Uhlenhuth, daß die Ergebnisse der Untersuchungen am Kaninchenhoden durch die Beobachtungen von Böing und mir zum Teil ihre Erklärung fänden, da ja der Hoden zahlreiche Lymphbahnen enthalte. Ich selbst konnte dem nur zustimmen. Immerhin spricht mancherlei dafür, daß wenigstens bei Dourine der Hoden, auch abgesehen hiervon, vielleicht doch eine besonders bevorzugte Stelle für die Infektion ist, was ja wohl auch Uhlenhuths Meinung entsprechen dürfte.

Schuberg.