

Aus dem Hygienischen Institut der Universität in Tokio.
**Zweite Mitteilung¹⁾ über die Aetiologie der
 Tsutsugamushikrankheit
 (Uberschwemmungsfieber von Baelz).**

Von Prof. M. Ogata und Dr. K. Ishiware.

In vorigem Sommer untersuchten wir mit dem Assistenten T. Sekiguchi in der Provinz Niigata von Tsutsugamushikranken Geschwürsmasse, Blut und Krusten von Pusteln und Geschwüren.

4 Kranke zeigten Oedem am Gesicht oder an den Extremitäten. Ihr Harn, welcher sauer reagierte, enthielt reichlich Zylinder und Eiweiß. Lymphdrüsen, Milzanschwellungen sowie Exanthem haben wir bei 19 Kranken beobachtet. Eine Frau, welche einmal vor fünf Jahren und wieder vor drei Jahren an der Tsutsugamushikrankheit gelitten hatte und geheilt wurde, zeigte keine merklichen Krankheitserscheinungen, trotzdem sie vor zehn Tagen drei Milbenstiche an der rechten Achselhöhle bekommen hatte. Bei einem Kranken trat im Verlauf der Krankheit in der linken Parotisgegend ein großer Eiterherd auf; dicker Eiter kam aus dem äußeren Gehörgang und der Öffnung, welche durch Inzision hinter dem Processus mastoideus gemacht wurde. Bei einem andern Kranken, welchen wir im letzten Sommer untersucht hatten, trat eine vom Oberarm bis zum Vorderarm sich verbreitende Anschwellung auf, die nach Eröffnung und Entleerung reichlichen Eiters geheilt zu sein scheint. Diese zwei Kranken zeigen uns ganz ähnliche Erscheinungen, wie wir nach Impfung von Reinkultur der Tsutsugamushisporozoa bei Kaninchen beobachtet und in der ersten Mitteilung (Deutsche medizinische Wochenschrift 1906, No. 45 und 46) schon beschrieben haben. Die Geschwüre, die wir untersucht haben, waren alle unter 1 cm groß. Der eine Kranke besaß 8, ein zweiter 4, der dritte und vierte je 2 Geschwüre, und die übrigen hatten nur ein Geschwür. Die Lokalität des Geschwürs war bei zwei Kranken am Hodensack, bei den übrigen an verschiedenen Stellen. Sehr eigentümlich ist das Geschwürsekret, wie wir schon früher bemerkt haben. Es ist sehr zähe, klebrig, fadenziehend: ja so zähe, daß es von einem Instrument auf ein anderes sehr schwer übertragbar ist.

Mikroskopische Untersuchung der Geschwürsmasse und des Blutes.

Zur Untersuchung der Tsutsugamushisporozoa scheint der hängende Tropfen sehr geeignet zu sein, da man seine natürliche

Form, die Größe, die Beschaffenheit sowie die Eigenbewegung berücksichtigen kann. Wenn man den hängenden Tropfen aus der Geschwürsmasse, welche mit sterilisierter Gaze und Alkohol gereinigt worden ist, herstellt und ihn dann mikroskopisch untersucht, so findet man, besonders wenn er aus frischen Pusteln nach Wegnahme der Kruste angefertigt war, in vielen Fällen keine Bakterien, auch keine Entwicklungsformen von Bakterien in späterer Zeit. Wir besitzen viele hängende Tropfen, in welchen nach Ablauf von sechs Wochen keine Bakterien gewachsen waren, obgleich darin Tsutsugamushisporozoen reichlich entwickelt vorkommen. Andererseits gibt es natürlich viele, aus alten Geschwüren hergestellte hängende Tropfen, worin verschiedene Bakterien gewachsen sind. Die meisten hängenden Tropfen, welche wir aus dem Blut der Kranken hergestellt haben, bleiben bis jetzt (nach sechs Wochen) bakterienfrei. In den aus Geschwürsmasse hergestellten hängenden Tropfen sieht man, wie wir schon beschrieben haben, sehr reichlich spindel- oder keulenförmige, stark glänzende, lebhaft bewegliche Sporozoiten, sowie verschieden große, vielgestaltige, mäßig stark lichtbrechende, bewegliche Gebilde, welche Ookineten zu sein scheinen. Ferner sieht man massenhaft verschieden große (von einigen μ bis über 20 μ oder noch darüber), verschiedengestaltige, lebhaft bewegliche, amöboide Gebilde mit oder ohne deutliche Körnung. Auch sieht man große (über 50 μ) amöboide Gebilde, welche aus grobkörnigen Granula bestehen und einen oder mehrere Kerne und nichtkontraktile Vakuolen (helle Blasen) besitzen. Weiter hier und da mäßig große, rundliche, aus dichtem Protoplasma bestehende, wie Makrogametocyten aussehende Gebilde und andere, noch etwas kleinere, rundliche, helle, blasige Zellen mit groben Granula und Pigment, welche Mikrogametocyten zu sein scheinen. Andererseits sieht man verschieden große Cysten, in deren Innern reichlich Tochtercysten = Oocysten vorkommen, oder andere Gebilde, welche Ookineten zu sein scheinen.

Für die Beobachtung der Formen der Beschaffenheit und der Entwicklung der Tsutsugamushisporozoa im hängenden Tropfen ist es sehr zu empfehlen, außer der physiologischen Kochsalzlösung die in meiner ersten Mitteilung angegebene Heunährlösung hinzuzufügen. In diesem Präparate beobachtet man bei unserer Sommer-temperatur (20–30° C) die Entwicklung und Vermehrung der Tsutsugamushisporozoa sehr gut. Doch sieht man in den hängenden Tropfen der Geschwürsmasse oder des Blutes auch ohne Hinzufügung der Nährlösung im gewissen Grade die Entwicklung der Sporozoen. Sehr interessant ist es, daß man bei nicht infizierten und mit Nährlösung versehenen hängenden Tropfen aus den Sporozoiten durch Platzen der Schale kleine, amöboide Gebilde, d. h. Schizogonien heraustreten sieht. Auch gibt es neu ausgetretene Schizogonien, welche neben der geplatzen, leeren Sporozoitenschale liegen. Diese ausgetretenen Schizogonien vermehren sich durch Teilung, resp. Knospung. Auch sieht man spindelförmige, verschieden große, meist homogen aussehende Gebilde mit hyaliner Membran, in welcher eine amöboide Masse oder Zellen enthalten sind, welche Ookineten zu sein scheinen. Solche spindelförmigen Ookineten können von über 20 μ lang sein. Die aus Sporozoiten frei gewordenen Schizogonien sind meist rund oder oval und von einer hellen Membran, resp. Kapsel umgeben. Im Innern sieht man kernartige Gebilde. Die Schizogonien machen auch zarte Bewegungen und bilden oft Ketten aus mehreren Zellen, sodaß sie wie Hefe aussehen. Ihre Größe betrug 4–8,5 μ . Bei den Schizogonien kann man die Knospungsbildung und Vermehrung direkt beobachten. Man sieht außer kernartigen Gebilden noch sehr feine Körnchen, welche darin eine lebhaft tanzende Bewegung machen und oft heraustreten. Diese ausgetretenen Körnchen entwickeln sich zu amöboiden Zellen. Andererseits entwickeln sich große, amöboide Gebilde aus der Schizogonie selbst, und diese amöboiden Zellen können über 100 μ groß werden, indem sich darin mehrere Kerne und Blasen, resp. Vakuolen bilden. Aus diesen großen Zellen scheinen sich beide Gametocyten zu bilden. In den gefärbten Präparaten der Geschwürsmasse oder des Blutes (nach Giemsa; erst Fixierung in Alkohol-Aether oder Sublimatalkohol mit Zusatz von Essigsäure und in 70% Alkohol) sind die meisten Sporozoiten ungefärbt, selten gibt es solche, deren Inhalt gefärbt ist. Die eine derbe, feste, gezackte Kapsel besitzende, hefeähnliche Schizogonie, sowie die runden, kugligen, in Ketten verbundenen Bläschen färben sich blau. Die Schizogonienhaufen, welche von blauen Membranen umschlossen sind, färben sich rot. Man sieht auch solche Schizogonien, welche blaugefärbte amöboide Gebilde im Innern besitzen, neben rotgefärbten, die von gemeinschaftlicher Membran umschlossen sind. Ferner sieht man in den Präparaten von Geschwüren gefärbte Oocysten, Ookineten, sowie die Cysten von Ookineten etc. In den gefärbten Präparaten des Blutes sieht man fast alle Gebilde, die man in Geschwürsmassen sieht. Außerdem sieht man im Blute Sporozoiten, sowie amöboide Gebilde, resp. in den roten Blutkörperchen Schizogonien.

¹⁾ Deutsche medizinische Wochenschrift 1906, No. 45 und 46.

Ueber die Entwicklung der Sporozoa *Tsutsugamushi* nach Ogata.

Die *Tsutsugamushisporozoa* zeigt in Form, Größe, Beschaffenheit, Färbungsverhalten, sowie in der Cyste mannigfaltige mikroskopische Bilder in dem Geschwür, dem Blute, den inneren Organen und in der Kultur. 1. Spindel- oder keulenförmiger Sporozoit wie Fig. 1 entwickelt sich bis zu gewisser Größe, dann folgt in den meisten Fällen das Platzen der Schale, und es treten kleine Teile aus dem Inhalt, resp. Schizogonien aus (Fig. 3 und 4). Andererseits gibt es aber reichliche Schizogonienentwicklung innerhalb der Sporozoitenschale (Fig. 2). 2. Die aus der Sporozoitenschale freigeschaltene Schizogonie ist anfangs kleiner als die roten Blutkörperchen, mit kleinem Kern und Membran (Fig. 4sz). Sie fängt bald an, in der Umgebung kleine, runde Kügelchen (Knospen) zu bilden,

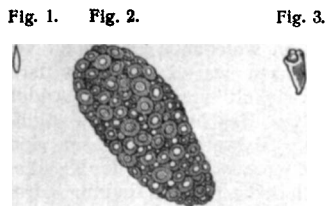


Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 7.

Fig. 8.

Fig. 9.

Fig. 10.

Fig. 11.

Fig. 12.

Fig. 13.

Fig. 14.

Fig. 15.

Fig. 16.

Fig. 17.

Fig. 18.

Fig. 19.

Fig. 20.

Fig. 21.

Fig. 22.

Fig. 23.

Fig. 24.

Fig. 25.

Fig. 26.

Fig. 27.

Fig. 28.

Fig. 29.

Fig. 30.

Fig. 31.

Fig. 32.

Fig. 33.

Fig. 34.

Fig. 35.

Fig. 36.

Fig. 37.

Fig. 38.

Fig. 39.

Fig. 40.

Fig. 41.

Fig. 42.

Fig. 43.

Fig. 44.

Fig. 45.

Fig. 46.

Fig. 47.

Fig. 48.

Fig. 49.

Fig. 50.

Fig. 51.

Fig. 52.

Fig. 53.

Fig. 54.

Fig. 55.

Fig. 56.

Fig. 57.

Fig. 58.

Fig. 59.

Fig. 60.

Fig. 61.

Fig. 62.

Fig. 63.

Fig. 64.

Fig. 65.

Fig. 66.

Fig. 67.

Fig. 68.

Fig. 69.

Fig. 70.

Fig. 71.

Fig. 72.

Fig. 73.

Fig. 74.

Fig. 75.

Fig. 76.

Fig. 77.

Fig. 78.

Fig. 79.

Fig. 80.

Fig. 81.

Fig. 82.

Fig. 83.

Fig. 84.

Fig. 85.

Fig. 86.

Fig. 87.

Fig. 88.

Fig. 89.

Fig. 90.

Fig. 91.

Fig. 92.

Fig. 93.

Fig. 94.

Fig. 95.

Fig. 96.

Fig. 97.

Fig. 98.

Fig. 99.

Fig. 100.

Fig. 101.

Fig. 102.

Fig. 103.

Fig. 104.

Fig. 105.

Fig. 106.

Fig. 107.

Fig. 108.

Fig. 109.

Fig. 110.

Fig. 111.

Fig. 112.

Fig. 113.

Fig. 114.

Fig. 115.

Fig. 116.

Fig. 117.

Fig. 118.

Fig. 119.

Fig. 120.

Fig. 121.

Fig. 122.

Fig. 123.

Fig. 124.

Fig. 125.

Fig. 126.

Fig. 127.

Fig. 128.

Fig. 129.

Fig. 130.

Fig. 131.

Fig. 132.

Fig. 133.

Fig. 134.

Fig. 135.

Fig. 136.

Fig. 137.

Fig. 138.

Fig. 139.

Fig. 140.

Fig. 141.

Fig. 142.

Fig. 143.

Fig. 144.

Fig. 145.

Fig. 146.

Fig. 147.

Fig. 148.

Fig. 149.

Fig. 150.

Fig. 151.

Fig. 152.

Fig. 153.

Fig. 154.

Fig. 155.

Fig. 156.

Fig. 157.

Fig. 158.

Fig. 159.

Fig. 160.

Fig. 161.

Fig. 162.

Fig. 163.

Fig. 164.

Fig. 165.

Fig. 166.

Fig. 167.

Fig. 168.

Fig. 169.

Fig. 170.

Fig. 171.

Fig. 172.

Fig. 173.

Fig. 174.

Fig. 175.

Fig. 176.

Fig. 177.

Fig. 178.

Fig. 179.

Fig. 180.

Fig. 181.

Fig. 182.

Fig. 183.

Fig. 184.

Fig. 185.

Fig. 186.

Fig. 187.

Fig. 188.

Fig. 189.

Fig. 190.

Fig. 191.

Fig. 192.

Fig. 193.

Fig. 194.

Fig. 195.

Fig. 196.

Fig. 197.

Fig. 198.

Fig. 199.

Fig. 200.

Fig. 201.

Fig. 202.

Fig. 203.

Fig. 204.

Fig. 205.

Fig. 206.

Fig. 207.

Fig. 208.

Fig. 209.

Fig. 210.

Fig. 211.

Fig. 212.

Fig. 213.

Fig. 214.

Fig. 215.

Fig. 216.

Fig. 217.

Fig. 218.

Fig. 219.

Fig. 220.

Fig. 221.

Fig. 222.

Fig. 223.

Fig. 224.

Fig. 225.

Fig. 226.

Fig. 227.

Fig. 228.

Fig. 229.

Fig. 230.

Fig. 231.

Fig. 232.

Fig. 233.

Fig. 234.

Fig. 235.

Fig. 236.

Fig. 237.

Fig. 238.

Fig. 239.

Fig. 240.

Fig. 241.

Fig. 242.

Fig. 243.

Fig. 244.

Fig. 245.

Fig. 246.

Fig. 247.

Fig. 248.

Fig. 249.

Fig. 250.

Fig. 251.

Fig. 252.

Fig. 253.

Fig. 254.

Fig. 255.

Fig. 256.

Fig. 257.

Fig. 258.

Fig. 259.

Fig. 260.

Fig. 261.

Fig. 262.

Fig. 263.

Fig. 264.

Fig. 265.

Fig. 266.

Fig. 267.

Fig. 268.

Fig. 269.

Fig. 270.

Fig. 271.

Fig. 272.

Fig. 273.

Fig. 274.

Fig. 275.

Fig. 276.

Fig. 277.

Fig. 278.

Fig. 279.

Fig. 280.

Fig. 281.

Fig. 282.

Fig. 283.

Fig. 284.

Fig. 285.

Fig. 286.

Fig. 287.

Fig. 288.

Fig. 289.

Fig. 290.

Fig. 291.

Fig. 292.

Fig. 293.

Fig. 294.

Fig. 295.

Fig. 296.

Fig. 297.

Fig. 298.

Fig. 299.

Fig. 300.

Fig. 301.

Fig. 302.

Fig. 303.

Fig. 304.

Fig. 305.

Fig. 306.

Fig. 307.

Fig. 308.

Fig. 309.

Fig. 310.

Fig. 311.

Fig. 312.

Fig. 313.

Fig. 314.

Fig. 315.

Fig. 316.

Fig. 317.

Fig. 318.

Fig. 319.

Fig. 320.

Fig. 321.

Fig. 322.

Fig. 323.

Fig. 324.

Fig. 325.

Fig. 326.

Fig. 327.

Fig. 328.

Fig. 329.

Fig. 330.

Fig. 331.

Fig. 332.

Fig. 333.

welchen die Sporozoa zu Knospen scheinen, und runde Cysten, in welchen glänzende Körnchen oder kristallähnliche Gebilde etc. vorkommen. Ferner habe ich in den Lymphdrüsen große Cysten, aus welchen stechapelförmige und nadelförmige Büschel ausstrahlen, die durch Romanowsky violett gefärbt werden, gefunden. In den Nieren finden sich im Sammelkanal weinbeerenförmig angehäufte Schizogonien, welche durch Hämotoxylin-Eosin tiefviolett gefärbt sind.

Tierversuche.

Wir haben die Geschwürsmasse von 7 Tsutsugamushikranken direkt je einem Kaninchen (4 jungen und 3 erwachsenen) subkutan eingepflegt, und es bildeten sich bei allen Kaninchen auf der Impfstelle Knoten. Die den Impfstellen naheliegenden Lymphdrüsen waren mehr oder minder angeschwollen. Von den Versuchstieren starben die vier jungen 14–30 Tage nach der Impfung. Dagegen blieben die drei erwachsenen 1½ Monate noch am Leben. Bei der Sektion jener vier Kaninchen fanden wir bei allen in den Knoten der Impfstellen und in den angeschwollenen Lymphdrüsen verschiedene Entwicklungsformen der Tsutsugamushisporozoa. Wir haben aus den Knoten der Impfstellen oder aus jenen Lymphdrüsen mehreren anderen Kaninchen und zwei Ziegen das Material mit Erfolg eingepflegt. Ebenso haben wir daraus Reinkultur von Sporozoa erhalten. Ferner haben wir auch von vielen Kranken aus dem Geschwür oder aus dem Blute Reinkulturen von Tsutsugamushisporozoa nach der beschriebenen Methode erhalten. Seit dem vorigen Jahre haben wir etwa 100 Kaninchen mit Reinkultur der Tsutsugamushisporozoa oder mit Geschwürsmasse geimpft und mit wenigen Ausnahmen positive Resultate bekommen: Das Serum der geheilten Versuchstiere zeigte gewisse schützende und heilende Wirkungen gegen die Impfung der Tsutsugamushisporozoa. Ferner haben wir außer Kaninchen 16 Mäuse, 14 Meerschweinchen, 2 Affen, 2 Ziegen, 1 Schaf und 2 Tauben mit der Reinkultur der Tsutsugamushisporozoa, der Geschwürsmasse der Kranken, sowie der käsigen Masse des Versuchskaninchens geimpft, wobei wir mit Ausnahme der Tauben meist positive Resultate erhielten. Auf eine genauere Beschreibung der Versuchstiere wollen wir hier nicht eingehen. Im Geschwür, im Blute und in den inneren Organen der erkrankten Versuchstiere findet man alle Formen der Tsutsugamushisporozoa.

Schluß.

Wenn wir die obige Auseinandersetzung kurz zusammenfassen, so haben wir durch weitere Untersuchungen bei Tsutsugamushikranken direkte Uebertragbarkeit der Geschwürsmasse auf Kaninchen und von diesen auf Ziegen gefunden. Ferner haben wir nicht nur die Beweglichkeit von Schizogonie, mäßig große, amöboide Zellen und Ookineten, sondern auch die Bildung und Entwicklung der Schizogonie aus Sporozoiten, der amöboiden Zellen und der Gameten aus Schizogonie, der Oocysten, Ookineten, sowie Sporblasten und Sporozoiten unter dem Mikroskop beobachtet. Wir haben auch aus den Milben jenes Infektionsherdes in der Nährlösung morphologisch zu der Tsutsugamushisporozoa identische Protozoen rein kultiviert. So haben wir durch weitere Untersuchungen im großen und ganzen meine früheren Befunde über die Tsutsugamushisporozoa nicht nur bestätigt gefunden, sondern wir glauben auch in ihre Hauptentwicklungsstadien eine gewisse Klarheit gebracht zu haben.

Erklärung der Abbildungen.

Vergrößerung: Ocular 2 $\frac{1}{16}$ Immersion Zeiss.

Fig. 1–13 mit Ausnahme von 2 und 11 sind aus hängenden Tropfen von Geschwüren der Kranken, Fig. 14–19 aus gefärbten Präparaten, Fig. 20 aus hängenden Tropfen der Reinkultur der Tsutsugamushisporozoa gezeichnet.

- Fig. 1. Sporozoit.
- Fig. 2. Schizogonie in gemeinsamer Hülle aus der Niere von Kedanikranken.
- Fig. 3. Ausschlupfen der Schizogonie aus Sporozoiten.
- Fig. 4. Aus Sporozoitenschale austretende Schizogonie S z, K ist Kapselrest der Sporozoiten.
- Fig. 5. Teilung und Vermehrung der Schizogonie.
- Fig. 6. Bildung der amöboiden Gebilde a und A aus Schizogonie, A mit Kern und Granula, a neugebildete amöboide Gebilde aus Schizogonie, a, aus Körnchen der Schizogonie gebildete, kleine amöboide Gebilde.
- Fig. 7. 2 Mikrogametocyten.
- Fig. 8. Makrogametcyt.
- Fig. 9. Befruchteter Makrogamet.
- Fig. 10. Befruchteter Makrogamet mit Cystenbildung.
- Fig. 11. Oocyste aus Geschwürsmasse.
- Fig. 12. Bildung von Ookinet aus befruchtetem Makrogamet.
- Fig. 13. Freier Ookinet.
- Fig. 14. Ookinet, Vorstadium der Cystenbildung aus gefärbtem Blutpräparat.
- Fig. 15. Ookinetcyste aus gefärbtem Blutpräparat.
- Fig. 16. Austritt der Ookinet aus der Cyste, aus gefärbtem Blutpräparat.
- Fig. 17. Kleiner, aus Cyste austretender, zweierlei Färbung nach Giemsa (rot und blau) zeigender Ookinet mit Sporblasten aus gefärbtem Blutpräparat.
- Fig. 18. Großer Ookinet mit Sporblasten s b aus gefärbtem Blutpräparat.
- Fig. 19. Großer, zweierlei Färbung nach Giemsa zeigender Ookinet mit vielen Sporblasten und Pigmenten aus Milz der Tsutsugamushikranken.
- Fig. 20. Großer Ookinet aus Reinkultur der Tsutsugamushisporozoa mit reichlichen reifen Sporblasten in Cyste und Sporozoiten und dicht daneben auch freie Sporozoiten.