

X

Ein Beitrag    
zur Züchtung von Piro-
plasmen auf künstlichen
Nährböden    

VON

Bruno Deseler.



Berlin
1911

✓

1955, 71

Aus

Aus dem Hygienischen Institut der Kgl. Tierärztl. Hochschule zu Berlin.
Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. P. Frosch.)
(Abteilungsvorsteher: Dr. P. Knuth.)

Ein Beitrag zur Züchtung von Piroplasmen
in künstlichen Nährböden.

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Würde eines

Doctor Medicinae Veterinariae

der

Königlichen Tierärztlichen Hochschule zu Berlin.

Vorgelegt von

Bruno Deseler,

approb. Tierarzt und Unterveterinär,

aus Offenhausen.

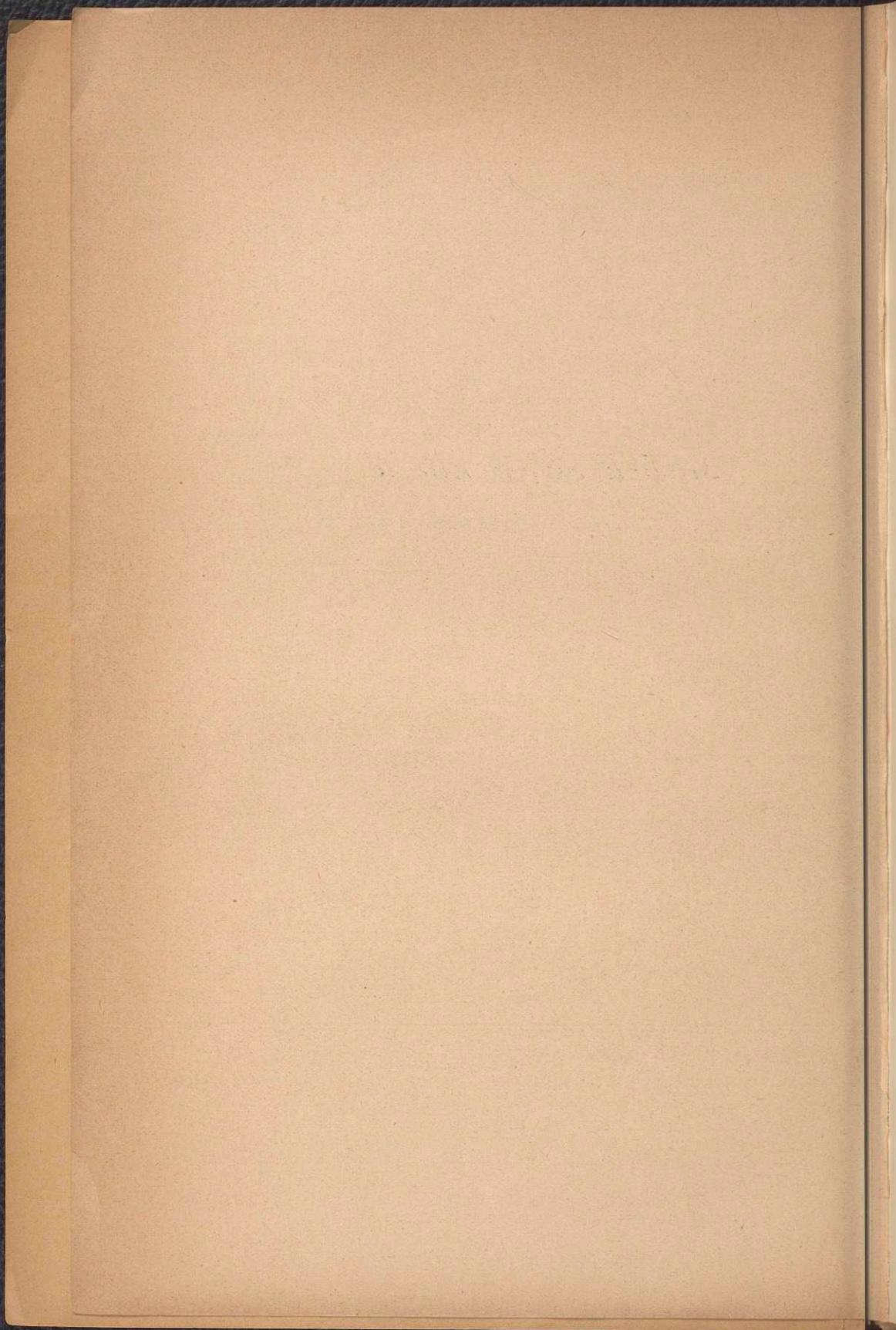
Berlin 1911.

Gedruckt mit Genehmigung der Königl. Tierärztlichen Hochschule
zu Berlin.

Referent: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. med. P. Frosch.

Meinen lieben Eltern

in Dankbarkeit und Verehrung gewidmet.



Einleitung.

In einer kürzlich erschienenen Arbeit „Über die Entwicklung eines Rinderpiroplasmas und -trypanosomas im künstlichen Nährboden“ weist Martini (10) zum Schlusse darauf hin, daß „die Kulturversuche in Novy-Mc Neal, Rogers, Miyajima und Nicollescher Weise eifrigst fortgesetzt werden müssen, bis endlich für alle pathogenen Trypanosomen ein einfaches und sicheres Kulturverfahren gefunden ist“. Durch diese Methode allein vermochte nämlich Martini den Nachweis zu führen, daß sich im Blute der von ihm in Manila untersuchten Kälber außer Piroplasmen noch Trypanosomen befanden, die sowohl der genauesten mikroskopischen Untersuchung im hängenden Tropfen, wie im gefärbten Präparat entgangen, als auch durch Übertragungsversuche auf die kleinen Versuchstiere des Laboratoriums und andere, dort heimische Rinder nicht nachweisbar waren.

Besonders interessant ist hierbei die Tatsache, daß die einige Tage in der Blutkultur sichtbaren Piroplasmen sich in die bereits von R. Koch (3) und Kleine (2) beschriebenen Morgensternformen umwandelten und bald

darauf zugrunde gingen, ohne daß ihre Übertragung auf für Piroplasmen hoch empfängliche Rinder jemals gelang, während letztere stets durch die in der Bouillonkultur gewachsenen Trypanosomen infiziert werden konnten.

Martini konnte hierdurch zugleich den Nachweis führen, daß die Trypanosomen in den Kulturröhrchen sich nicht aus den gleichzeitig vorhandenen Piroplasmen entwickelt hatten, wie dies Miyajima (1) 2 Jahre vorher in Japan durch seine Versuche als sehr wahrscheinlich hingestellt hatte.

Bei der großen Bedeutung für die tropische Veterinärmedizin, die der seit 10 Jahren wiederholt versuchten Züchtung von Piroplasmen unzweifelhaft zukommt, schien es mir erwünscht, eine Nachprüfung der bisher hierüber gemachten Feststellungen vorzunehmen.

Meine Arbeit ist in der Abteilung für Tropenhygiene des hygienischen Instituts der Königlichen Tierärztlichen Hochschule zu Berlin unter der Leitung des Hrn. Abteilungsvorstehers Dr. Knuth angefertigt worden.

Literatur.

Von den Forschern, die sich mit der Züchtung von Piroplasmen beschäftigt haben, ist der französische Tierarzt Lignières (11) der erste gewesen.

Bereits im Jahre 1900 erschien eine Arbeit: *La Tristeza ou la malaria bovine dans la République Argentine*, in der Lignières (11) die Züchtung von *Piroplasma bigeminum* im künstlichen Nährboden beschreibt. Verfasser benutzte dazu einmal defibriertes parasitenhaltiges Blut, das andere Mal hämoglobinhaltiges Serum kranker Tiere. In beiden Kulturmedien glaubte er ein Wachstum der Parasiten beobachten zu können, doch sah er stets nur runde, nie birnförmige Gebilde. Eine Nachprüfung dieser Resultate durch Kossel, Schütz, Weber und Miessner (26) ergab jedoch, daß es sich bei den Versuchen nicht um ein Wachstum, sondern nur um eine Konservierung der Parasiten handelte, und daß die angeblich aufgetretenen Sporen Zerfallsprodukte der Parasiten darstellten.

Gelegentlich dieser Nachprüfung wurde außerdem festgestellt, daß sich die Parasiten in der Konservierungsflüssigkeit bei einer Temperatur von 8° viel länger infektiös erhalten, als bei der gewöhnlichen Züchtungstemperatur von 37°.

Im Jahre 1904 veröffentlichten Dschunkowsky und Luhs (7) ihre Arbeit: „Die Piroplasmen der Rinder“, in der die Verfasser zunächst das klinische Bild bei Piroplasmose nebst Sektionsbefund gestorbener Tiere

beschrieben. Sodann teilten sie die Piroplasmen in bazillen-, ring- und punktförmige ein und schilderten das Aussehen der Parasiten nach der Giemsa-Färbung. Als Nährsubstrat für ihre Kulturen benutzten sie Blutserum kranker Rinder, das freies Hämoglobin enthielt. In diesen Kulturen schienen „die vielartig gestalteten Parasiten“ aus lockerem Chromatin zu bestehen. Sie färbten sich langsamer und intensiv rot, mit einem Stich ins Violette, wobei sie von einem blaßroten Saum umgeben waren. Die Form des Chromatinkornes ist keine bestimmte; es ist bald rund und klein mit scharfen Konturen, bald größer, vieleckig mit undeutlichem Saum. Durch fortwährendes Umkultivieren der Parasiten zeigen sie nach 10 bis 20 Tagen eine starke Vermehrung.

Im folgenden Jahre, 1905, züchtete Rogers (20) *Piroplasma donovani* (Leishmania), den Erreger der tropischen Splenomegalie oder des Kala Azars. Er versetzte das durch einen Einstich in die Milz entnommene Blut eines Kranken mit einer 5 bis 10 Prozent Natriumzitratlösung, um die Koagulation zu verhindern. Bereits am 1. Tage erschienen zahlreiche, geißeltragende Formen, die einem *Trypanosoma* ähnlich sahen, denen aber die undulierende Membran fehlte, wie Christophers (21) und Chaterjée (22) nachgewiesen haben. Letztere Forscher zeigten auch, daß ein Zentrosom immer vor dem Kern am vorderen Ende des Körpers liegt, von welchem ein langer Geißelfortsatz ausgeht.

In demselben Jahre erhielt Ch. Nicolle (23) den Erreger der Orientbeule, der ebenfalls in die Gruppe *Leishmania* gehört, in einer Kultur. Der Nährboden bestand aus Agar 14.0, Meersalz 6.0 und Wasser 900.0. Das Gemisch wurde in Probierröhrchen gegossen und sterilisiert. Darauf setzte man $\frac{1}{3}$ Kaninchenblut hinzu und bewahrte die Röhrchen 12 Stunden lang in geneigter Stellung auf. Dann wurden sie für 5 Tage in den Thermostaten bei 37° gebracht und vor dem Aussäen einige Tage bei Zimmertemperatur gehalten. Die Kultur des Parasiten, sowie er selbst, erinnerten sehr an *Piroplasma donovani*, nur war der Endfaden des Parasiten der Orientbeule etwas länger.

In dem Jahre darauf teilte R. Koch (3) in den „Beiträgen zur Entwicklungsgeschichte der Piroplasmen“ seine interessanten Funde bezüglich der Entwicklungsformen von Piroplasmen in Zecken mit. Zu beachten ist dabei, daß diese Übergangsformen nur in weiblichen Zecken vorkommen, trotzdem Männchen und Weibchen Blut saugen. Während die Männchen aber nur so viel Blut aufnehmen, wie sie zum Aufbau und Wachstum ihres Körpers gebrauchen, saugen die Weibchen mehr Blut, wenn die Eier zur Reife gelangen sollen. Die Weibchen sind dann prall mit Blut gefüllt, und nur in diesem Zustand der weiblichen Zecken entwickeln sich die Piroplasmen weiter. Wenn man die Zecken in diesem

Stadium von dem Wirtstier abnimmt und ihren Inhalt sofort untersucht, findet man die Piroplasmen unverändert. Bereits nach 12 bis 20 Stunden verändern sich aber die Parasiten in folgender Weise. Zuerst verlassen die Parasiten die roten Blutkörperchen und häufen sich an. In diesem Haufen findet man einige Exemplare mit Fortsätzen. Letztere nehmen dann zu, und die Strahlen sitzen alle an einem Ende. Der Leib dehnt sich, wird keulenartig und ein Ende wird spitz ausgezogen. An dem dick gebliebenen Ende befindet sich ein Chromatinkorn und die Strahlen. Unter dem großen Chromatinkorn befindet sich ein kleineres, weniger intensiv gefärbtes Korn. Manchmal sind Parasiten da, die zwei Chromatinkörner und zwei Strahlenkränze besitzen; sie sind jedenfalls aus zwei Parasiten hervorgegangen. Sodann nehmen die Strahlen allmählich ab und der Körper wird wieder kompakter. Die Strahlen erscheinen zuerst starr, führen aber bei längerer genauerer Beobachtung amöboide Bewegungen aus.

Durch diese ganz neue Entdeckung R. Kochs wurde F. Kleine (2) von neuem angeregt, seine Forschungen über die Entwicklungsformen der Hundepiroplasmen wieder aufzunehmen. Nachdem der Verfasser sehr viele Nährmedien angewendet hatte, um die Entwicklungsart der Piroplasmen mittels der künstlichen Züchtung näher zu erforschen, die Erfolge jedoch stets negativ geblieben waren, vereinfachte er das Nährsubstrat immer mehr und benutzte schließlich einfache physiologische Kochsalzlösung. Er versetzte 0.5^{ccm} derselben mit der gleichen Menge defibrinierten Blutes, das einem stark infizierten Hunde kurz vor dem Tode entnommen worden war. Dieses Gemisch bewahrte er bei 27° C auf. Nach ungefähr 18 Stunden goß er die klare Flüssigkeit, welche über den zu Boden gesunkenen roten Blutkörperchen stand, ab und untersuchte den Bodensatz. Er fand darin Gebilde, wie sie bereits R. Koch beschrieben hat. Bei der Giemsa-Färbung zeigte sich oben an der Keule ein Chromatinkorn und an der Spitze ein zweites, nur etwas kleiner. Waren viele Parasiten vorhanden, so legten sie sich gruppenweise zusammen, die Spitze nach innen, die stumpfen Enden mit den Strahlen nach außen. Auch vermochte er alle anderen Beobachtungen R. Kochs in bezug auf die Verschmelzung zweier Parasiten zu bestätigen. Am 2. Tage erschienen die bei 27° C gehaltenen Parasiten größer als am 1. Das Chromatinkorn im Innern der Keule erschien jetzt dunkler, als das am oberen Ende der Keule. Am 2. und 3. Tage verloren die Parasiten allmählich ihre Strahlen und rundeten sich ab. Von hier ab sah Verfasser nur noch Degenerationsformen.

Je mehr Zeit verging, in desto größerer Anzahl wanderten die Piroplasmen aus den roten Blutkörperchen aus. Eine Vermehrung der Piro-

plasmen in diesen Kulturen konnte nicht nachgewiesen werden. Bei Überimpfung aus den Kulturen in nicht infiziertes Blut, das zur Hälfte mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt war, blieb dieses steril.

Diesen Auffassungen R. Kochs und Kleines widerspricht Hartmann (4) in seiner Arbeit „Neuere Forschungen über pathogene Protozoen“. Er hält die eigentümlichen Morgensternformen, welche beide obengenannten Forscher beschrieben haben, nicht für Entwicklungsformen, sondern für Degenerationsformen, welche durch den Wechsel der äußeren osmotischen Verhältnisse entstanden sind. Dagegen hält er die Kugelformen und auch die Keulenformen, die R. Koch gefunden hat, für Entwicklungsformen.

Bereits im Jahre 1904 war eine Arbeit Schaudinns (15) über „Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte“ erschienen, in der er erwähnt, daß Stabsarzt Dr. Weber im Jahre 1900 im Blut einer an Texasfieber erkrankten Kuh neben den eigentlichen Piroplasmen auch solche von Trypanosomenform gefunden habe. Schaudinn war nun der Ansicht, daß diese Trypanosomenformen in den Entwicklungskreislauf der Piroplasmen gehören sollten.

Diese Ansicht Schaudinns deckt sich vollkommen mit der Miyajimas (1), die er in seiner Arbeit „On the Cultivation of a bovine Piroplasma“ vertritt. Nachdem letzterer vergeblich versucht hat, Entwicklungsformen in *Rhipicephalus australis* zu finden, hat er versucht, den Parasiten zu züchten. Er versetzte zu diesem Zweck gewöhnliche Nährbouillon mit $\frac{1}{5}$ oder $\frac{1}{10}$ Raumteil defibrinierten, parasitenhaltigen Blutes, die er bei 20 bis 30° C aufbewahrte. Nach 3 bis 4 Tagen sah er in der Blutbouillon große Flagellaten, die 5 mal so lang als breit waren, eine undulierende Membran und eine lange Geißel besaßen. Er sagt, daß man nach der Lage des Kerns und des Blepharoblasten diesen Parasiten von einem Trypanosoma in einer Kultur nicht unterscheiden kann. Den Höhepunkt erreichte die Züchtung zwischen dem 10. und 14. Tage. Bei 25 bis 30° bestand die Kultur 45 Tage, bei 10 bis 20° 3 Monate. Die Übertragung auf andere Blutbouillon gelang sehr gut.

Aber die Vermutung Schaudinns wie Miyajimas, daß diese Trypanosomenformen eine Entwicklungsstufe der Piroplasmen darstellen, dürfte wohl durch die Entdeckung R. Kochs über die Entwicklungsformen der Piroplasmen in Zecken inzwischen widerlegt sein. Ebenso spricht eine Beobachtung Martinis (10), die er in seiner Arbeit „Über die Entwicklung eines Rinderpiroplasmas- und -trypanosomas im künstlichen Nährboden“ veröffentlicht, gegen diese Annahme. Verfasser stellte seine Nährböden in folgender Weise her: er versetzte je 10^{cem} Bouillon mit 1 prozent. „Normalnatronlauge“ bzw. mit 1 prozent. „Normalsalzsäure“. Zu diesem Gemisch fügte er je 2^{cem} Blut von Rindern, die unter den Erscheinungen

der Piroplasmose erkrankt waren. Während in dem kreisenden Blute dieser Tiere nur eine Infektion von Piroplasmen nachzuweisen war, erschienen in den Kulturen nach kurzer Zeit massenhaft Trypanosomen. Das Vorkommen dieser ganz voneinander abweichenden Formen führt Verfasser darauf zurück, daß bei den zur Untersuchung gelangten Tieren eine Mischinfektion von Piroplasmen und Trypanosomen vorgelegen hat. Die Piroplasmen sterben in den Kulturen bei einer Temperatur von 29 bis 31° C innerhalb 5 bis 10 Tagen ab. Aus den in seiner Arbeit angeführten Versuchen geht hervor, daß eine Umwandlung von Piroplasmen in Trypanosomen und umgekehrt nicht stattfindet.

Dagegen scheint Crawley (25) in seiner Arbeit „Studies on blood and blood parasites“ der Ansicht zu sein, daß sich Trypanosomen aus Formen entwickeln können, die in ihrem Bau absolut keine Ähnlichkeit mit diesen zeigen. Verfasser legte Blutkulturen von Rindern an, bei denen er eine Infektion mit Piroplasmen und Trypanosomen mit aller Sicherheit ausschließen zu können glaubt, da durch jahrelange Untersuchungen niemals irgendwelche Blutparasiten bei diesen Tieren nachgewiesen werden konnten. In seinen Kulturen erschienen aber bereits am 2. Tage massenhaft Trypanosomen, die die größte Ähnlichkeit mit den von Miyajima gezüchteten hatten, und denen Verfasser den Namen *Trypanosoma americanum* gegeben hat. Bevor jedoch diese ausgebildeten Trypanosomen auftraten, bemerkte Crawley runde und ovale Gebilde, die von den Trypanosomen ganz verschieden und auch im kreisenden Blute nicht bemerkt worden waren.

Verfasser glaubt deshalb, daß sich die Trypanosomen nicht als solche in dem Blute der Rinder befinden, sondern daß sie sich erst aus anderen, bisher unbekanntem Gebilden entwickeln und somit in bestimmten Teilen Nordamerikas einen ganz gewöhnlichen Bestandteil des Blutes gesunder Tiere bilden. Daß aber die Trypanosomen einen Entwicklungsgrad der Piroplasmen darstellen sollen, wie es Miyajima annimmt, weist auch Crawley zurück.

Ob die oben entwickelte Hypothese Crawleys richtig ist, oder ob doch vielleicht schon vereinzelt Trypanosomen in dem Blute enthalten gewesen sind, mag vorläufig noch dahingestellt bleiben; jedenfalls geht aus der demnächst im Druck erscheinenden Arbeit von O. Peter „Morphologische und experimentelle Studien über ein bei Rindern in Uruguay gefundenes *Trypanosoma*“ hervor, wie schwer es oft ist, vereinzelt Trypanosomen im kreisenden Blute nachzuweisen. Auch der Umstand, daß außer dem einen von Frank und Frosch beschriebenen Fall von Trypanosomen beim Rinde in Deutschland bisher noch kein weiterer Fall entdeckt worden ist, darf wohl als Beweis dafür angesehen werden, daß

dieselben recht spärlich im Blute vorkommen. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß das Aufsuchen dieser wenigen Trypanosomen durch die von Martini in Manila und von Crawley in Nordamerika angewandte Züchtungsmethode wesentlich erleichtert werden könnte.¹

Nuttall (6) veröffentlichte im Jahre 1908 eine Arbeit „The Development of *Piroplasma canis* in Culture“, in der er eine Reihe von Versuchen anstellte, um Hundepiroplasmen im künstlichen Nährboden zu züchten. Zunächst benutzte Verfasser das Blutserum infizierter Tiere, das er durch Zentrifugieren des Herzblutes eines kurz vorher gestorbenen Hundes erhielt. Nach 2 Stunden zeigten sich in der klaren Flüssigkeit viele runde Parasiten und wenig bewegliche birnförmige. Nach 17 Stunden wurden wenige runde Parasiten, aber keine beweglichen mehr gefunden. Ebenso war es in dem Serum, das von koaguliertem Blute genommen war. Ähnliche Resultate erhielt er, indem er defibriniertes Herzblut in verschlossenen Gläsern bei verschiedener Temperatur aufbewahrte. In Blutagar, der aus gleichen Teilen Kaninchenblut und flüssigem Agar bei 55° C hergestellt und dem etwas defibriniertes, parasitenhaltiges Hundeblood zugesetzt war, konnten zu verschiedenen Zeiten nur ein paar degenerierte Parasiten nachgewiesen werden.

In defibriniertem Hundeblood, das mit wenig 2 prozentiger Natriumzitratlösung versetzt worden war und das in verschlossenen Röhren bei verschiedenen Temperaturen aufbewahrt wurde, rundeten sich sämtliche Parasiten ab. In einem dieser Röhren wurden ein paar Formen mit schön begrenzten, strahlenartigen Fortsätzen gefunden.

Wurde dem Hundeblood eine 4 prozentige Natriumzitratlösung zugefügt, so rundeten sich ebenfalls sämtliche Parasiten ab. Strahlenartige Fortsätze wurden nicht gefunden.

Ähnliche Resultate wurden erzielt, wenn die Parasiten in „normale Salzlösung“, die eine 4 prozentige Natriumzitratlösung enthielt, gebracht wurden. In einer 25 prozentigen Kaliumoxalatlösung und in einer dünnen sauren Kaliumoxalatlösung waren die Erfolge die gleichen, wie in der 2 prozentigen Natriumzitratlösung.

In dem Nährboden, wie ihn Miyajima benutzte (defibriniertes Blut und Nährbouillon in dem Verhältnis von 1:5 bis 1:10), rundeten sich die Parasiten schnell ab. Formen, wie sie Miyajima beschrieben hat, und solche mit strahligen Fortsätzen, wurden nicht bemerkt.

¹ Anmerkung: Inzwischen hat sich diese Methode auch in Deutschland bewährt.

Vgl. hierzu: Knuth u. Rauchbaa, Nachweis von Trypanosomen beim Rinde im Kreise Oberwesterwald mittels Züchtung in Blutbouillon. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift*. 1910. Nr. 27. — Ferner: Dieselben, Zum Vorkommen von Trypanosomen bei Rindern in Deutschland. *Ebenda*. 1910. Nr. 31.

In folgenden drei Versuchen benutzte Nuttall (6) 0.5^{cem} defibriniertes parasitenhaltiges Hundeblood, denen er ebenso viel 0.6 oder 0.8 prozentige Kochsalzlösung hinzufügte oder 0.5^{cem} einer Lösung von folgender Zusammenstellung:

Natriumchlorid	0.95	Prozent
Kaliumchlorid	0.025	„
Calciumchlorid	0.02	„
Natr. hydr. carbonat. . .	0.15	„
Dextrose	0.1	„
Aqua dest.	100.0	^{cem} .

Diese Nährböden wurden bei Temperaturen zwischen 24 und 26 bis 32° C aufbewahrt. Bei der Untersuchung zu den verschiedensten Zeiten wurden in manchen Röhrrchen strahlenartige Formen entdeckt, in andern von gleicher Zusammenstellung wiederum nicht. Die Gründe zu diesen Differenzen sind dem Verfasser unbekannt geblieben. Am besten eignete sich die 0.6 prozentige Kochsalzlösung. In den meisten Fällen waren die Strahlenformen am 2. Tage am zahlreichsten. Oft hatten die Parasiten den roten Blutkörperchen das Hämoglobin entzogen, so daß sie frei zu liegen schienen. Verfasser empfiehlt, möglichst wenig Flüssigkeit zu verwenden, und die Röhrrchen nach der Impfung möglichst unberührt zu lassen.

Im folgenden Jahre gelang es Marzinowsky (9), *Piroplasma equi* im künstlichen Nährboden zu züchten. Er wählte für seine Kulturen eine 10 prozentige wässrige Lösung chemisch reinen Natriumzitrats. Dieses wurde zu je 1½ bis 2^{cem} in Probierröhrrchen gegossen, sterilisiert, und von dem Veterinärarzt Dr. A. W. Belitzer mit je 10^{cem} Blut infiziert.

Nach 2 bis 3 Tagen bemerkte man eine größere Anzahl von Parasiten, und es erschienen dieselben Entwicklungsformen, wie sie R. Koch und F. Kleine gesehen haben. Die Gestaltsveränderungen finden im großen und ganzen so statt, wie sie von obengenannten Forschern beschrieben worden sind. An den folgenden Tagen nahm die Anzahl der Sternformen immer mehr ab, dagegen traten kleine protoplasmatische Gebilde auf, die an die Sporen der Malariaparasiten erinnerten. Wie sich diese Formen aus den sternartigen entwickelten, entzog sich der Beobachtung des Verfassers. Vom 7. Tage an wurden gewöhnlich nur diese Formen angetroffen. Dann traten noch kleinere Parasiten auf, die paarweise lagen, und auch große keulenförmige.

Marzinowsky hat auch *Piroplasma parvum* in mit Natriumzitat versetztem Blute gezüchtet, konnte aber keine besonderen Entwicklungsformen beobachten.

Auch den Malariaparasiten versuchte er in demselben Nährsubstrat zu züchten, doch beobachtete er keine Sporulation, sondern direkte Teilung des erwachsenen Parasiten in zwei gleiche Hälften.

In demselben Jahre erschien noch eine Arbeit von Nuttall und Graham-Smith (5), in der die Verfasser die Züchtung von *Theileria parva* in demselben Nährboden versuchten, wie ihn Miyajima (1907) benutzt hatte. Sie führten sorgfältig zwei Versuche aus, konnten aber die Resultate von Miyajima nicht bestätigen, da niemals irgend eine Entwicklung von *Piroplasma parvum* beobachtet worden ist. Auch Nuttall und Graham-Smith sind der Meinung, daß die in der Kultur Miyajimas aufgetretenen Trypanosomen wahrscheinlich schon in geringer Anzahl in dem Blut vorhanden waren und infolgedessen im kreisenden Blute nicht bemerkt worden sind.

Eigene Versuche.

Der im nachfolgenden benutzte *Piroplasma canis*-Stamm wurde mir durch Vermittlung des Hrn. Geheimen Obermedizinalrates Prof. Dr. Ehrlich in liebenswürdigster Weise von Hrn. Prof. Dr. Mesnil zur Verfügung gestellt.¹

Das mir von Hrn. Prof. Dr. Mesnil übersandte parasitenhaltige Blut verimpfte ich an junge, nur wenige Wochen alte Hunde. Leider stellte sich im Laufe der Zeit heraus, daß auch dieser Stamm wenig virulent war und alle Versuche, die Virulenz zu steigern, nur von geringem Erfolge begleitet waren.

Den genannten Herren, die mir bei der Beschaffung des Materials behilflich waren, möchte ich an dieser Stelle nochmals meinen besten Dank aussprechen.

Ich gehe nunmehr zu meinen eigenen Versuchen der Züchtung von *Piroplasma* im Reagensglase über. Das dazu verwendete Blut wurde Hunden aus der Vena jugularis entnommen, zu einer Zeit, in der sich die meisten Parasiten zeigten. Nachdem einige Vorversuche wegen der bakteriellen Verunreinigungen mißglückt waren, brachte ich es bald dahin, daß die Röhrechen vollständig steril blieben.

Versuch I. (Nährboden von Miyajima.)

Als erstes Kulturmedium benutzte ich das von Miyajima angegebene, indem ich 10^{ccm} Nährbouillon mit 1 bis 2^{ccm} parasitenhaltigen defibrinierten

¹ Anmerkung: Ein mir von Hrn. Prof. Dr. Schilling überlassener *Piroplasma canis*-Stamm war leider nicht mehr virulent genug, um von ihm Kulturen anlegen zu können.

Blutes versetzte. Dieses Gemisch wurde in Reagensgläsern, die mit einem Wattestopfen verschlossen waren, im Brutschrank bei einer Temperatur von 25 bis 26° C aufbewahrt. Bei der Untersuchung in Ausstrichpräparaten, die nach Giemsa gefärbt worden waren, beobachtete ich nach 16 und 20 Stunden runde und birnförmige Parasiten. Die runden Parasiten lagen meist außerhalb der roten Blutkörperchen und einige zeigten ganz deutlich 2 Kerne, von denen der eine dunkler gefärbt war als der andere. Einige Parasiten zeigten schon deutlich einen beginnenden Zerfall, daran kenntlich, daß der Zelleib unregelmäßig eingerissen erschien. Nach 48 Stunden waren die Beobachtungen ungefähr dieselben, nur sah ich in einem roten Blutkörperchen einen birnenförmigen Parasiten, der an dem spitzen Ende in einen langen fadenartigen Fortsatz ausgezogen war. Bei ein paar Parasiten hatte es den Anschein, als ob sie im Begriff wären, sich zu teilen; das Plasma erschien deutlich eingeschnürt (vgl. Taf. III, Fig. 4). Nach 68 $\frac{1}{2}$ Stunden hatte die Zahl der Parasiten bedeutend abgenommen; ich sah nur noch wenige runde Parasiten, deren Kern und Zelleib sehr dunkel gefärbt und undeutlich voneinander abgesetzt waren. Nach dieser Zeit konnten überhaupt keine Parasiten mehr erkannt werden. Irgend welche Formen, die eine Phase der Weiterentwicklung hätten darstellen können, waren nicht zu finden.

Versuch II. (Nährboden von Marzinowsky.)

Nach dem Vorgehen von Marzinowsky, der in seinem Nährboden eine Vermehrung von *Piroplasma equi* beobachtet hat, wählte ich als zweiten Kulturboden eine Mischung von 10^{ccm} parasitenhaltigen Hundeblutes und ca. 2^{ccm} einer 10 prozentigen chemisch reinen Natriumzitratlösung. Die Röhrchen wurden in derselben Weise gehalten, wie in Versuch I angegeben. Nach 16 und 18 Stunden konnte ich nur wenige Parasiten in den gefärbten Ausstrichen nachweisen. Es waren runde und birnenförmige Parasiten zu sehen, die einzeln und zu zweien auf den roten Blutkörperchen lagen; ebensoviel Parasiten lagen auch außerhalb der Blutscheiben. Nach 48 $\frac{1}{2}$ Stunden bot sich mir dasselbe Bild. Am 3. Tage, nach 68 $\frac{1}{2}$ Stunden waren nur noch runde Parasiten sichtbar, von denen auch wieder die meisten zwei deutliche Kerne zeigten, die ebenfalls ein verschiedenes Rot zeigten. Zuweilen traf ich auch hier wieder Parasiten, die an einer Stelle eingeschnürt erschienen. An den folgenden Tagen konnten nur noch ganz vereinzelt, runde Parasiten gefunden werden, deren Kern nur sehr undeutlich zu erkennen war. Formen mit strahlenartigen Fortsätzen, wie sie Marzinowsky in seinen Kulturen nachgewiesen hat, konnte ich niemals beobachten.

Versuch III. (Nährboden von Nuttall.)

Diesmal benutzte ich einen Nährboden, der aus 5^{ccm} einer 2 prozent. Natriumzitratlösung und 1^{ccm} defibrinierten, parasitenhaltigen Hundeblutes bestand. Bei der Untersuchung nach 16 Stunden sah ich runde und birnförmige Parasiten, die zum größten Teil in den roten Blutkörperchen lagen. Einige runde Parasiten lagen frei zwischen den roten Blutkörperchen, von denen mehrere zwei deutliche Kerne hatten. Außer den runden und birnförmigen Parasiten beobachtete ich auch solche, die eine Zwischenform an-

genommen hatten, und die ich als wurstförmig bezeichnen möchte. Abgesehen von der Gestalt unterschieden sie sich nicht von den übrigen Parasiten. Manche birnförmige Parasiten waren an ihrem spitzen Ende noch miteinander verbunden und offenbar in Teilung begriffen.

Nach 20 Stunden waren die Verhältnisse noch dieselben, auch die Zahl der Parasiten war annähernd die gleiche. Nach 44 Stunden waren dagegen nur bedeutend weniger Parasiten zu sehen, die sich im übrigen sämtlich abgerundet hatten. Bei weiteren Untersuchungen nach 68 Stunden konnte ich ein immer weiteres Zurückgehen der Parasiten an Zahl konstatieren bis bei 91 Stunden nur noch ganz vereinzelt Parasiten angetroffen wurden. In manchen Fällen ließ sich deutlich sehen, daß die Parasiten zerfallen waren. Der Zelleib war unregelmäßig eingerissen, der Kern zuweilen auch ganz aus dem Parasiten herausgetreten. In anderen Fällen war der Zelleib derartig zerfallen, daß nur noch blaue Pünktchen zu sehen waren, in deren Mitte der rote Kern lag. Formen mit strahlenartigen Fortsätzen, wie sie Nuttall in einem Fall bei gleicher Zusammensetzung des Nährbodens gesehen hat, konnte ich nicht nachweisen.

Versuch IV. (Nährboden von Nuttall.)

In den folgenden vier Versuchen benutzte ich eine 0.6 prozentige physiologische Kochsalzlösung, die mit gleichen Teilen defibrinierten, parasitenhaltigen Blutes gemischt war. Die Röhrchen bewahrte ich im Brutschrank bei 26 bis 27° C auf. Die Flüssigkeit, die sich über den zu Boden gesunkenen Blutkörperchen befand, goß ich nicht ab, um einerseits ein Aufrühren der roten Blutkörperchen zu vermeiden und um andererseits die Zahl der ohnehin schon spärlichen Parasiten nicht noch weiter zu vermindern.

Bei der Untersuchung nach 16 Stunden fand ich neben den gewöhnlichen Formen wieder solche, die an einer Seite eingeschnürt waren, und daneben auch einige wurstförmige Parasiten. Bei mehreren Parasiten waren deutliche, scharf begrenzte Strahlen vorhanden, deren Zahl allerdings nicht sehr groß war. Manche keulenförmige Parasiten hatten an dem dicken Ende auch nur einen Strahl. Bei vielen birnartigen Formen war das spitze Ende zu einem langen Stachel ausgezogen, der manchmal auch in der Richtung der Umgrenzung des betreffenden Blutkörperchens umgelegt war (Taf. III, Fig. 6 bis 9).

Nach 44 Stunden bot sich noch dasselbe Bild in bezug auf die gewöhnlichen Formen, doch hatten die Strahlenformen bereits abgenommen und es fiel mir auf, daß sie dunkler gefärbt waren als am ersten Tage. Zwei Parasiten fand ich, anscheinend miteinander verschmolzen, von denen jeder an beiden Enden einen stachelartigen Fortsatz zeigte (Taf. III, Fig. 11). Am 3. Tage, nach 68 Stunden, war die Zahl der Strahlenformen noch weiter zurückgegangen, doch waren die Strahlen noch deutlich zu erkennen. In einem der Ausstriche fand ich einen ungewöhnlichen großen birnförmigen Parasiten, dessen spitzes Ende in einen sehr langen, geißelartigen, blau gefärbten Fortsatz ausgezogen war (Taf. III, Fig. 13). Am folgenden Tage, nach 91 Stunden, waren sämtliche Strahlen verschwunden und konnten später auch nicht wieder beobachtet werden. Die roten Blutkörperchen waren bis zum Schluß der Untersuchungen gut erhalten.

Versuch V. (Nährboden von Nuttall.)

Der Nährboden blieb derselbe nämlich 0.6 prozentige Kochsalzlösung. Bereits nach 8 Stunden beobachtete ich neben den bereits beschriebenen Formen solche mit feinen Strahlen. Diesmal sah ich zum ersten Male auch Parasiten mit Strahlen, die frei lagen, d. h. außerhalb der roten Blutkörperchen, ähnlich wie sie in Taf. III, Fig. 27 bis 29 wiedergegeben sind. Nach 29 Stunden kamen neben ganz vereinzelt birnförmigen Parasiten meist nur solche von runder Form vor, die auch dunkler gefärbt waren, als am 1. Tage. Außer einem Parasiten, dessen spitzes Ende einen Fortsatz zeigte, ähnlich wie in Taf. III, Fig. 9, konnten keine Strahlen bemerkt werden. Schon nach 46 Stunden ließen sich viele Parasiten kaum noch als solche erkennen. Sie lagen oft außerhalb und waren sehr dunkel gefärbt, so daß sich der Kern vom Zelleib nur sehr undeutlich abhob. Manche waren auch schon direkt im Zerfall begriffen, der Zelleib war unregelmäßig eingerissen, der Kern zuweilen aus dem Zellplasma ausgetreten. Strahlen wurden in diesen und den Ausstrichen der folgenden Tage nicht mehr beobachtet. Rote Blutkörperchen gut erhalten.

Versuch VI. (Nährboden von Nuttall.)

Der Nährboden bleibt derselbe. Nach 9 Stunden wurden birnförmige Parasiten mit strahlenartig ausgezogenem spitzen Ende beobachtet. Es sind diesmal im ganzen weniger Parasiten vorhanden, infolgedessen auch nur wenige mit Strahlen, doch kommen einige solche Formen vor. Nach 20 Stunden haben die Strahlenformen noch mehr abgenommen; sie sind nur klein und oft undeutlich begrenzt. Nach 23 Stunden liegen die meisten Parasiten außerhalb der roten Blutkörperchen und haben sich abgerundet. Strahlen wurden nicht mehr gesehen. Die Untersuchung nach 46 und 70 Stunden wies ebenfalls keine Strahlen mehr auf, dagegen wurden wieder viele Parasiten gesehen, die im Zerfall begriffen waren. Die roten Blutkörperchen waren bis zuletzt gut erhalten.

Versuch VII. (Nährboden von Nuttall.)

Der Nährboden besteht wieder aus 0.6 prozentiger Kochsalzlösung. Nach 20 Stunden konnten noch keine besonderen Formen gesehen werden, doch zeigten sich nach 28 Stunden neben meist runden Formen auch solche, die frei im Plasma lagen und deutliche Strahlen besaßen. Auch nach 48 Stunden konnten noch einige freie Parasiten mit Strahlen nachgewiesen werden, die allerdings nur sehr klein waren. Nach 70 Stunden waren nur noch ganz vereinzelt Parasiten aufzufinden; die Konturen waren undeutlich. Bei einigen Parasiten war wieder deutlich der Zerfall zu sehen. In diesen Ausstrichen fiel mir eine Erscheinung besonders auf, die ich auch schon in früheren Präparaten bemerkt habe. Auf einigen roten Blutkörperchen sah man lauter feine blaue Pünktchen, in deren Mitte ein oder ein paar rote Punkte zu sehen waren, die manchmal auch fehlen konnten. Ich halte dies für die Überreste zerfallener Parasiten. Strahlen waren nicht mehr zu beobachten. Die Blutkörperchen waren bis zuletzt gut erhalten.

Zur leichteren Übersicht habe ich die Resultate der Versuche IV bis VII in folgenden Tabellen zusammengestellt.

Versuch IV.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
16	Viele deutliche, scharf begrenzte Strahlen.
44	Weniger, aber gut begrenzte Strahlen.
68	Noch weniger Strahlen.
91	Keine Strahlen mehr.

Versuch V.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
8	Parasiten frei im Plasma mit Strahlen.
29	Ein Parasit mit Strahlen.
46	Keine Strahlen mehr.
70	Keine Strahlen mehr.

Versuch VI.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
8	Parasiten mit Strahlen.
20	Weniger Parasiten mit kleinen und undeutlichen Strahlen.
23	Keine Strahlen mehr.
46	Keine Strahlen mehr.

Versuch VII.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
20	Keine Strahlen.
28	Freie Parasiten mit Strahlen.
48	Parasiten mit kleinen Strahlen.
70	Keine Strahlen mehr.

Versuch VIII. (Nährboden von Nuttall und Kleine.)

Weitere vier Versuche stellte ich mit 0·8 prozentiger Kochsalzlösung an, zu der ebenfalls gleiche Teile defibrinierten, mit Parasiten infizierten Hundeblutes hinzugefügt waren. Auch diese Röhrchen wurden im Brutschrank bei 26 bis 27° C aufbewahrt.

Die Untersuchung nach 17 Stunden ließ außer sehr schönen Parasiten von bekannter Gestalt keine besonderen Formen erkennen, doch fand ich nach 19 Stunden zwei mit deutlichen Strahlen. Nach 23 Stunden sah ich

mehrere runde und auch einige birnförmige Parasiten außerhalb der roten Blutkörperchen; manche Formen besaßen auch Strahlen. Einige birnförmige Parasiten, die innerhalb der roten Blutkörperchen lagen, hatten an dem dicken und dünnen Ende je einen Fortsatz, die so gestellt waren, daß sie einen stumpfen Winkel miteinander bildeten (vgl. Taf. III, Fig. 5). Nach 43 Stunden hatte die Zahl der Parasiten bereits abgenommen, vereinzelte Formen hatten noch Strahlen. Der Zerfall der Parasiten nahm jetzt wieder den beschriebenen Verlauf; nach 67 Stunden waren nur noch wenige Parasiten, solche mit Strahlen überhaupt nicht mehr zu sehen. Nach weiteren 24 Stunden waren keine Parasiten als solche mehr zu erkennen, sondern nur noch deren Zerfallsprodukte. Blutkörperchen gut erhalten.

Versuch IX. (Nährboden von Nuttall und Kleine.)

Nährboden wie in Versuch VIII. Nach 8 Stunden zeigten sich neben runden und birnförmigen Parasiten verhältnismäßig viele Piroplasmen mit strahligen Ausläufern, und zwar befanden sich dieselben sowohl innerhalb wie außerhalb der roten Blutkörperchen. Dieselben Beobachtungen konnte ich nach 20 Stunden auch noch machen. Nach 29 Stunden überwogen dagegen die runden Formen, die außerdem auch bedeutend dunkler gefärbt waren, als früher. Einige Parasiten waren noch vorhanden, die deutliche Strahlen zeigten, während diese bei anderen Formen sich nur als Zacken markierten. Nach 46 Stunden konnte ich nur einen birnförmigen Parasiten mit zwei Strahlen finden, die seitlich an dem spitzen und keulenförmigen Ende angesetzt waren. Die meisten runden Formen lagen außerhalb und waren dunkel gefärbt. Nach 54 Stunden wurden keine Strahlen mehr beobachtet, doch konnte man wieder den Zerfall der Parasiten verfolgen. Die roten Blutkörperchen waren gut erhalten.

Versuch X. (Nährboden von Nuttall und Kleine.)

Nährboden bleibt derselbe. Nach 9 Stunden konnte ich eine ganze Anzahl Parasiten innerhalb der roten Blutkörperchen beobachten, die zwar immer nur einen oder zwei, aber doch ganz deutliche Strahlen besaßen. Außerhalb der Blutkörperchen sah ich derartige Formen nicht. Nach 20 Stunden waren bereits sämtliche Strahlenformen verschwunden, und ich konnte nur runde Parasiten, die meist außerhalb der roten Blutkörperchen lagen, beobachten. Nach 23 Stunden war die Zahl der Parasiten schon beträchtlich zurückgegangen; die Konturen derselben waren nicht mehr so scharf begrenzt wie früher. Schon nach 46 Stunden lagen die runden Formen nur noch ganz vereinzelt auf den roten Blutscheiben. Viele Parasiten befanden sich außerhalb und waren im Zerfall begriffen; sie erschienen aufgefaserter, und bei manchen war der Kern herausgetreten. Strahlen konnten in beiden Fällen nicht mehr beobachtet werden. Die roten Blutkörperchen waren noch sehr gut erhalten.

Versuch XI. (Nährboden von Nuttall und Kleine.)

Nährboden wie in den vorigen Versuchen. Nach 20 Stunden kommen neben vielen runden Formen nur verhältnismäßig wenige birnförmige Parasiten vor, von denen einige Strahlen besitzen. Nach 28 Stunden sah ich

nur noch abgerundete Parasiten, die z. T. noch die normale Färbung angenommen hatten, während andere sehr dunkel und undeutlich aussahen. Bei manchen Parasiten war auch wieder der beschriebene Zerfall zu bemerken. Einige Formen mit kleinen spärlichen Strahlen sah ich außerhalb der roten Blutkörperchen.

Am folgenden Tage, nach 46 Stunden waren nur noch mit Mühe einige Parasiten zu finden. Sie lagen fast alle außerhalb der roten Blutkörperchen und waren dunkel gefärbt, so daß man den Kern vom Zelleib nur schwer unterscheiden konnte. Reste zerfallener Parasiten waren auch zu sehen. Strahlen wurden nicht mehr beobachtet. Auch hier waren die roten Blutkörperchen bis zuletzt gut erhalten.

In den folgenden vier Tabellen sind die Erfolge der letzten Versuche zusammengestellt.

Versuch VIII.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
19	Zwei Parasiten mit Strahlen.
23	Wenige Parasiten mit Strahlen.
43	Wenige Parasiten mit Strahlen.
67	Keine Strahlen mehr.

Versuch IX.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
8	Parasiten mit Strahlen.
20	Parasiten mit Strahlen.
29	Weniger Parasiten mit Strahlen.
46	Ein Parasit mit Strahlen.
54	Keine Strahlen mehr.

Versuch X.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
9	Parasiten mit einem oder zwei Strahlen.
20	Keine Strahlen mehr.
23	Keine Strahlen mehr.
46	Keine Strahlen mehr.

Versuch XI.

Untersucht nach Stunden	E r g e b n i s
20	Wenige Parasiten mit Strahlen.
28	Parasiten mit kümmerlichen Strahlen.
46	Keine Strahlen.

Wie ich früher schon erwähnte, sind Zweifel darüber laut geworden, ob die eigentümlichen Morgensternformen, die R. Koch und F. Kleine in den Zecken bzw. im Reagensglase gesehen haben, Entwicklungsformen oder Degenerationsformen der Piroplasmen darstellen. Zweifel hierüber sind wohl berechtigt, weil derartige Formen in dem betreffenden Wirtstier noch nie nachgewiesen worden sind. Würde es nun gelingen, im lebenden Hunde solche Strahlenformen nachzuweisen, so würde dies für die Auffassung von R. Koch und F. Kleine sprechen.

Da nach Rabinowitsch und Kempner (24) Rattentrypanosomen bei Verimpfung in die Bauchhöhle Entwicklungsformen zeigen, die im kreisenden Blut nicht vorkommen, glaubte ich auch in ähnlicher Weise das Verhalten der Piroplasmen prüfen zu müssen. Das Resultat dieses Versuches ist in nachstehendem niedergelegt.

Versuch XII.

Einem Hunde, der Piroplasmen in seinem Blute beherbergte, wurden aus der Vena jugularis ca. 15^{ccm} Blut entnommen und durch Ausschütteln mit Glasperlen defibriniert. 10^{ccm} dieses Blutes wurden einem anderen Hunde in die Bauchhöhle gespritzt, während die übrigen 5^{ccm} aseptisch in einem Reagensglase bei einer Temperatur von 27° C aufbewahrt wurden. Am folgenden Tage, 16 Stunden nach der Impfung wurde der zweite Hund getötet und aus dem etwas vermehrten Bauchhöhlenexsudat mehrere Ausstriche gemacht, die nach Giemsa gefärbt wurden.

In sämtlichen Ausstrichen waren außerordentlich wenig Parasiten zu finden. Ich glaube dies darauf zurückführen zu können, daß erstens schon viele Parasiten resorbiert waren und zweitens, daß auch in dem Ausgangsmaterial nur wenige Parasiten vorhanden waren. Jedenfalls fand ich nach längerem Suchen einige Parasiten, unter denen sich auch tatsächlich solche mit Strahlen befanden! Wie aus den Zeichnungen hervorgeht, hat der eine Parasit (Taf. III, Fig. 33) die deutliche Keulenform, aus deren dickem Ende drei Strahlen hervorragen. Der andere Parasit (Taf. III, Fig. 34) dagegen zeigt eine typische Sternform.

Aus dem Blut, das ich im Reagensglase aufbewahrt hatte, wurden nach 24 Stunden mehrere Ausstriche gemacht und ebenfalls nach Giemsa gefärbt. Ich konnte nur einige runde und birnförmige Parasiten sehen, deren Konturen unscharf waren. Strahlenformen oder andere Gebilde habe ich nicht gefunden. Die roten Blutkörperchen waren bereits stark geschrumpft.

In einem Ausstrich, der einen Tag später gemacht wurde, konnte ich keine Parasiten mehr nachweisen. Viele Blutkörperchen schienen zerfallen zu sein, die andern stark geschrumpft.

Leider war ich nicht imstande, diese Versuche zu wiederholen, da es mir, wie schon gesagt, an genügend virulentem Material fehlte.

Schlußwort.

Von den Nährböden, die ich benutzte, dürften die ersten drei nach meinen Beobachtungen wenig geeignet sein, um Hundepiroplasmen zu züchten oder deren Entwicklungsformen zu studieren. Während es Marzinowsky und auch Nuttall gelungen ist, in 10 prozentiger bzw. 2 prozentiger Natriumzitratlösung Piroplasmen zu züchten oder deren Entwicklungsformen zu beobachten, konnte ich dies bei meinen Versuchen nicht bestätigen. Dagegen halte ich mit Kleine und Nuttall 0.6 oder 0.8 prozentige Kochsalzlösung eher für geeignet, um die Entwicklung der Piroplasmen zu verfolgen.

Obwohl ich im großen und ganzen ähnliche Formen gesehen habe, wie sie Kleine und Nuttall beschrieben haben, so zeigen meine Beobachtungen doch immerhin gewisse Abweichungen von denen obengenannter Forscher.

Zunächst habe ich bei den Strahlenformen niemals solche ausgeprägten Exemplare der Strahlen gesehen, deren Länge den Durchmesser eines roten Blutkörperchens übertrifft, oder ihm auch nur gleichkommt. Die Strahlen, die ich an intrazellulären Parasiten gesehen habe, erreichten mit einer oder zwei Ausnahmen höchstens den Rand der roten Blutkörperchen. Dasselbe gilt in bezug auf die Länge der Strahlen auch für die frei liegenden Parasiten.

Ferner fand ich, wie aus den Tabellen zu entnehmen ist, daß die Strahlenformen bereits am 1. Tage, ungefähr nach 8 Stunden auftraten, dann aber am 2., oder spätestens am 3. Tage verschwunden waren. Auch habe ich beobachtet, daß bald nach dem Verschwinden der Strahlen oder auch noch während der Zeit, in der diese vorhanden waren, die runden Parasiten allmählich zerfielen. Dies ist von Kleine und Nuttall vielleicht auch beobachtet, aber meines Wissens nicht erwähnt worden.

Im Anfang meiner Versuche habe ich des öfteren versucht, die Parasiten im hängenden Tropfen zu beobachten. Bald mußte ich aber diese Methode des spärlichen Materials willen wieder aufgeben, da ich niemals mit Sicherheit feststellen konnte, ob die Gebilde, welche ich sah, wirklich Parasiten waren oder nicht.

Eine Vermehrung der Parasiten bei meinen Versuchen glaube ich mit Sicherheit ausschließen zu dürfen; ich habe im Gegenteil beobachtet, daß sie an Zahl von Tag zu Tag mehr abnahmen.

Zum Schluß sei es mir noch gestattet, Hrn. Geh. Medizinalrat Prof. Dr. Frosch und insbesondere Hrn. Abteilungsvorsteher Dr. Knuth meinen innigsten Dank auszusprechen für das Interesse, das diese Herren meiner Arbeit entgegengebracht und dafür, daß sie mir jederzeit mit Rat und Tat beigestanden haben.

Literatur-Verzeichnis.

1. Miyajima, On the Cultivation of a bovine Piroplasma. *Philippine-Journal of Sc.*, A. II, Nr. 2, med. Sc., 1907. Ref. von Mesnil. *Bulletin de l'Institut Pasteur*. 1907. p. 667.
2. Kleine, Kultivierungsversuch der Hundepiroplasmen. *Zeitschrift f. Hygiene und Infektionskrankheiten*. 1906. Bd. LIV. S. 10.
3. R. Koch, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Piroplasmen. *Ebenda*. 1906. Bd. LIV. S. 1.
4. Hartmann, Neuere Forschungen über pathogene Protozoen. *Centralblatt für Bakteriologie*. Bd. XLII. Beiheft S. 72.
5. Nuttall u. Graham-Smith, Theileria parva: Attempts at Cultivation. *Parasitology*. Sept. 1909. S. 208.
6. Nuttall, The Development of Piroplasma canis in Culture. *Parasitology*. 1908. Vol. I. S. 243.
7. Dschunkowsky u. Luhs, Die Piroplasmen der Rinder. *Centralblatt für Bakteriologie u. Parasitenkunde*. 1904. Bd. XXXV.
8. A. Theiler, Die Piroplasmen in Südafrika. *Fortschritte der Veterinär-Hygiene*. 1903. S. 133. Heft 4.
9. Marzinowsky, Über die Züchtung von Piroplasma equi. *Zeitschrift für Hygiene und Infektionskrankheiten*. 1909. Bd. LXII. S. 417.
10. E. Martini, Über die Entwicklung eines Rinderpiroplasmas und -trypanomas im künstlichen Nährboden. *Ebenda*. Bd. LXIV. Heft 3. S. 385.
11. Lignières, La Tristeza ou la malaria bovine dans la République Argentine. *Bulletin de la Société centrale de médecine vétérinaire*. 1900. Buenos Aires.
12. Braun u. Lühe, *Leitfaden zur Untersuchung der tierischen Parasiten des Menschen und der Haustiere*.
13. Novy u. Mc Neal, On the cultivation of Trypanosoma Brucei. *Journal of Infectious Diseases*. Januar 1904.
14. Nuttall u. Graham-Smith, Canine Piroplasmosis. *Journal of Hygiene*. I. 1904. *Ebenda*. II. 1905.
15. Schaudinn, Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochäte. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte*. 1904. Bd. XX.
16. Galli Valerio, Die Piroplasmose des Hundes. *Centralblatt für Bakteriologie*. 1904. Bd. XXXIV.
17. Dschunkowsky u. Luhs, Protozoenkrankheiten des Blutes der Haustiere in Transkaukasien. *IX. internationaler tierärztlicher Kongreß im Haag*. Sept. 1909.

18. Dieselben, Entwicklungsformen von Piroplasmen in Zecken. *Ebenda.*
19. Nuttall, Note an the mode of multiplication of Piropl. bovis as observed in the living Parasite. *Parasitology.* Dezember 1909. S. 341.
20. Rogers, *Journal of Tropical Medicine.* 15. Juli 1904. p. 225. — *Lancet.* 3. Juni 1905.
21. Christophers, *Scientific Memoirs of the Government of India.* Nr. 15. — *Lancet.* 27. August 1904. p. 614.
22. Chatterjée, *Lancet.* 3. Dez. 1904. S. 1564. — *Ebenda.* 7. Jan. 1905. p. 16.
23. Nicolle, *C. R. Acad. Sciences.* 13. April 1908. T. C. XX. p. 842.
24. Rabinowitsch u. Kempner, Beitrag zur Kenntnis der Blutparasiten speziell der Rattentrypanosomen. *Zeitschrift für Hygiene u. Infektionskrankheiten.* 1899. Bd. XXX.
25. Crawley, Studies on blood and blood parasites. — *U. S. Department of agriculture. Bureau of animal Industry. — Bulletin 119.* Oktober 1909. p. 25—31.
26. Kossel, Schütz, Weber u. Miessner, Über die Hämoglobinurie der Rinder in Deutschland. *Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte.* Bd. XX. S. 31.

Erklärung der Abbildungen.

(Taf. III.)

Die Zeichnungen sind mit dem Zeiss'schen Zeichenapparat unter Benutzung des Bernhard'schen Zeichentisches in 1500 facher Vergrößerung angefertigt.

Fig. 1 u. 2. Birnförmiger und runder Parasit aus einer Kultur.

Fig. 3. Parasit mit zwei Kernen.

Fig. 4. Parasit in Teilung begriffen.

Fig. 5. Birnförmiger Parasit mit zwei Strahlen.

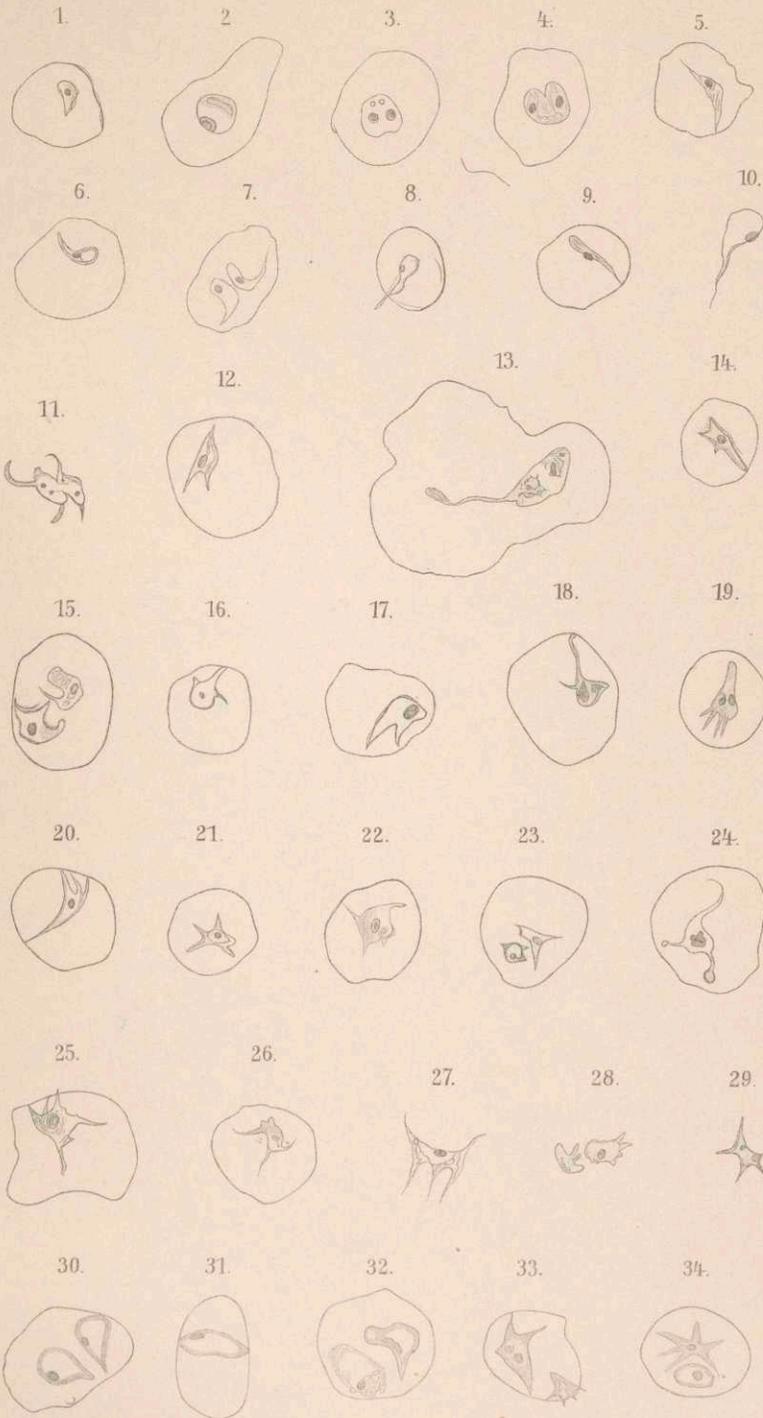
Fig. 6—9. Birnförmige Parasiten, deren dünnes Ende in eine Spitze ausgezogen ist.

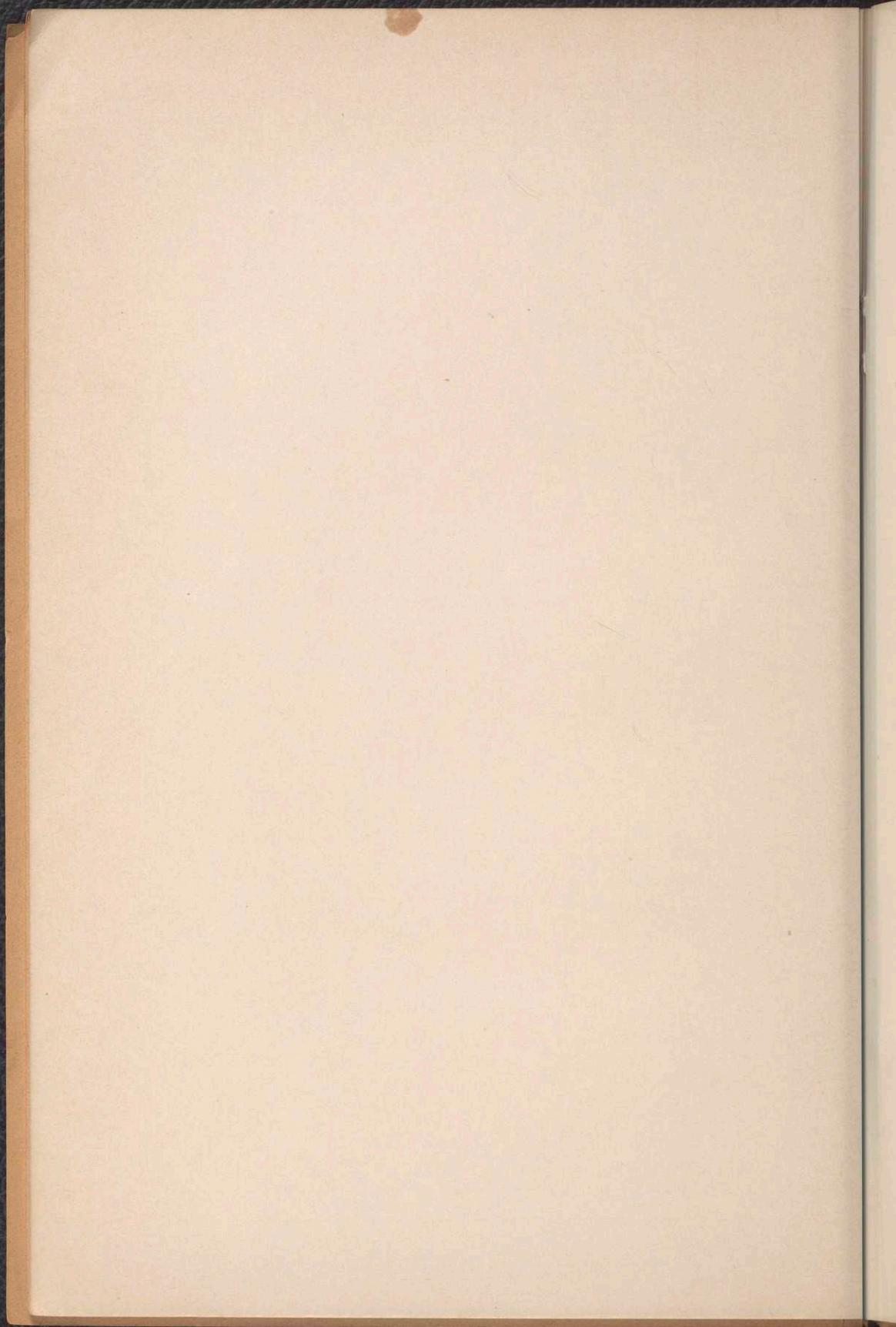
Fig. 10 u. 13. Freie Parasiten mit geißelartigem Protoplasmafortsatz.

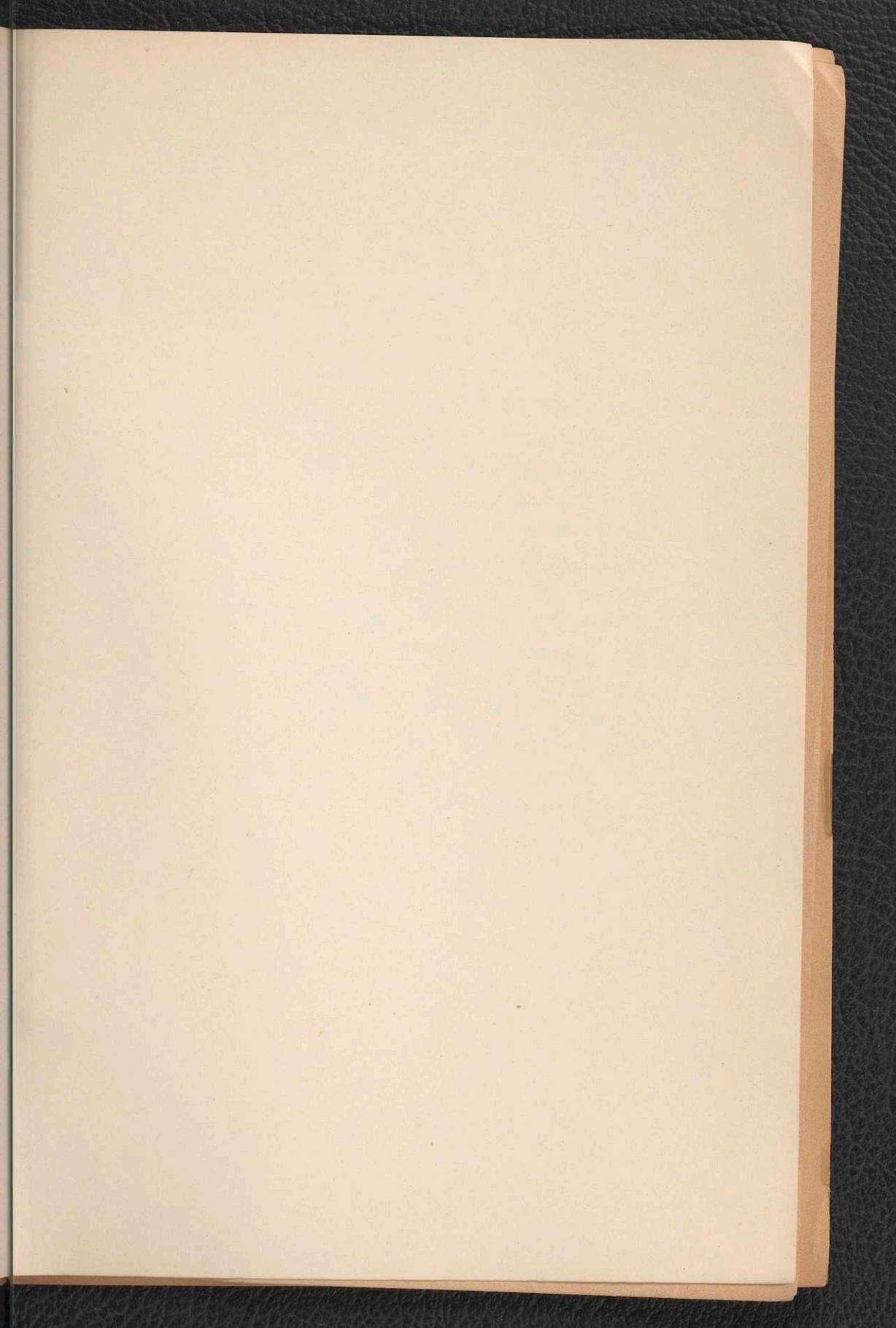
Fig. 11 u. 12, 14—26. Parasiten mit Strahlen in den roten Blutkörperchen.

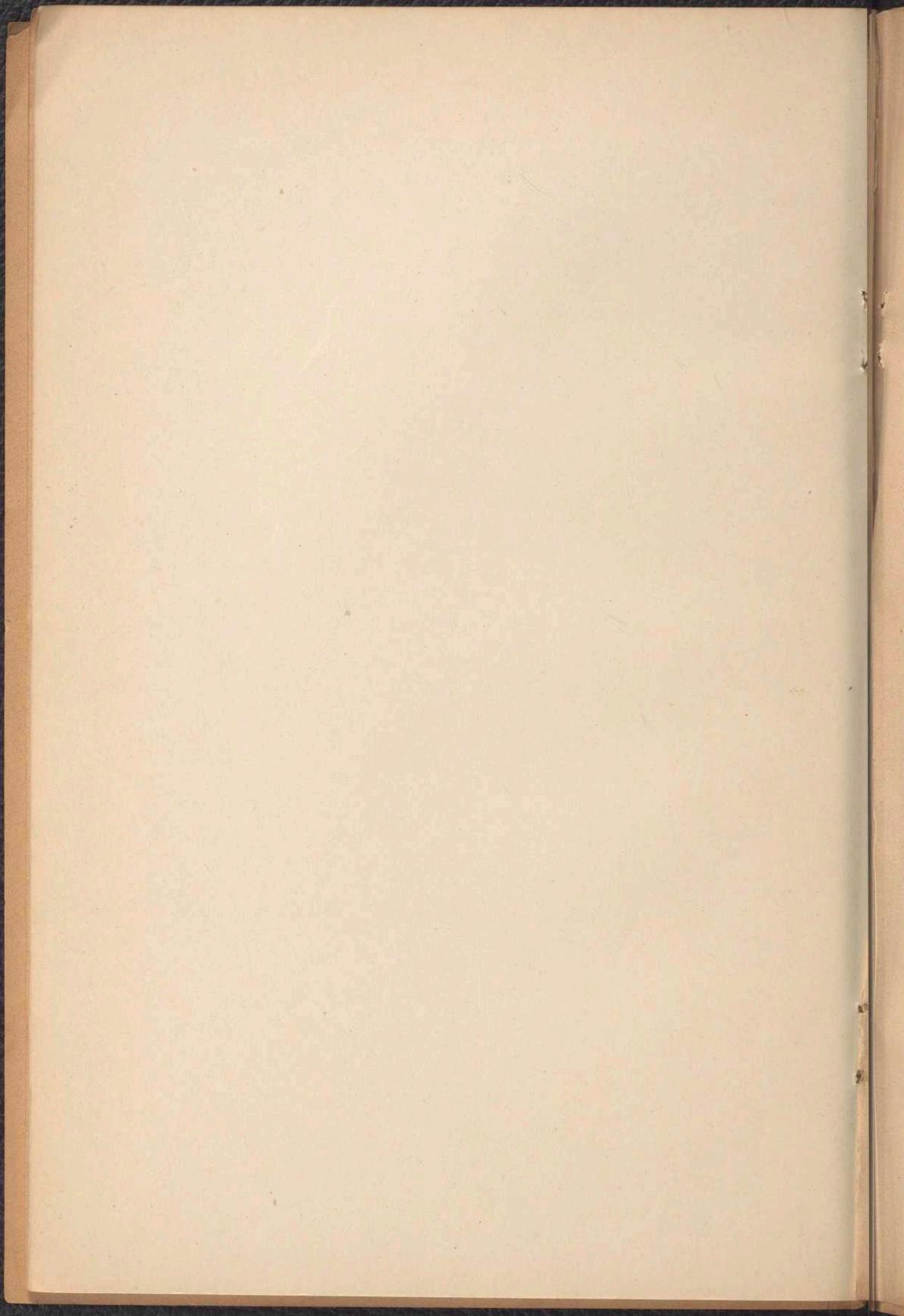
Fig. 27—29. Freie Parasiten mit Strahlen.

Fig. 30—34. Formen aus der Bauchhöhlenflüssigkeit.



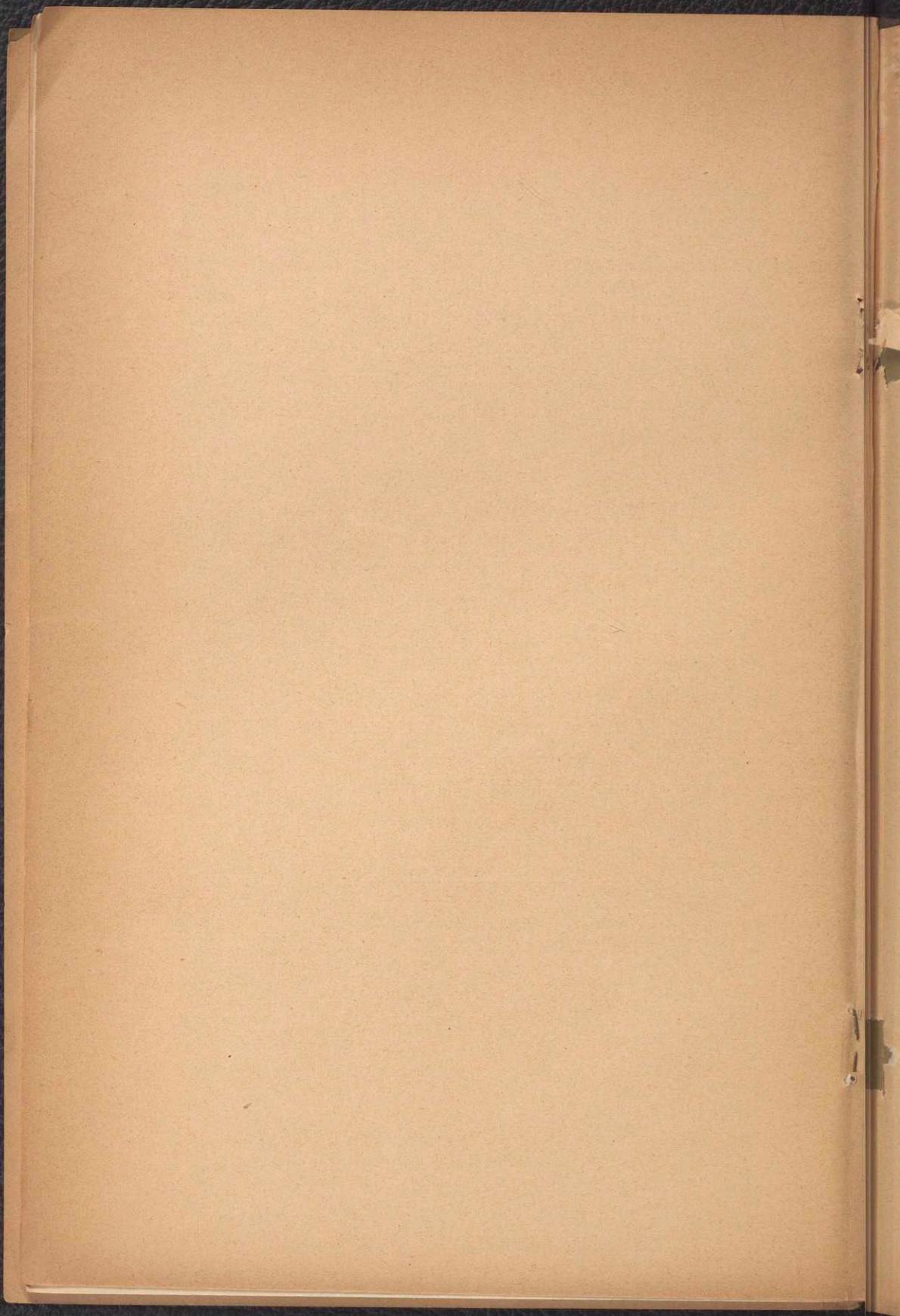


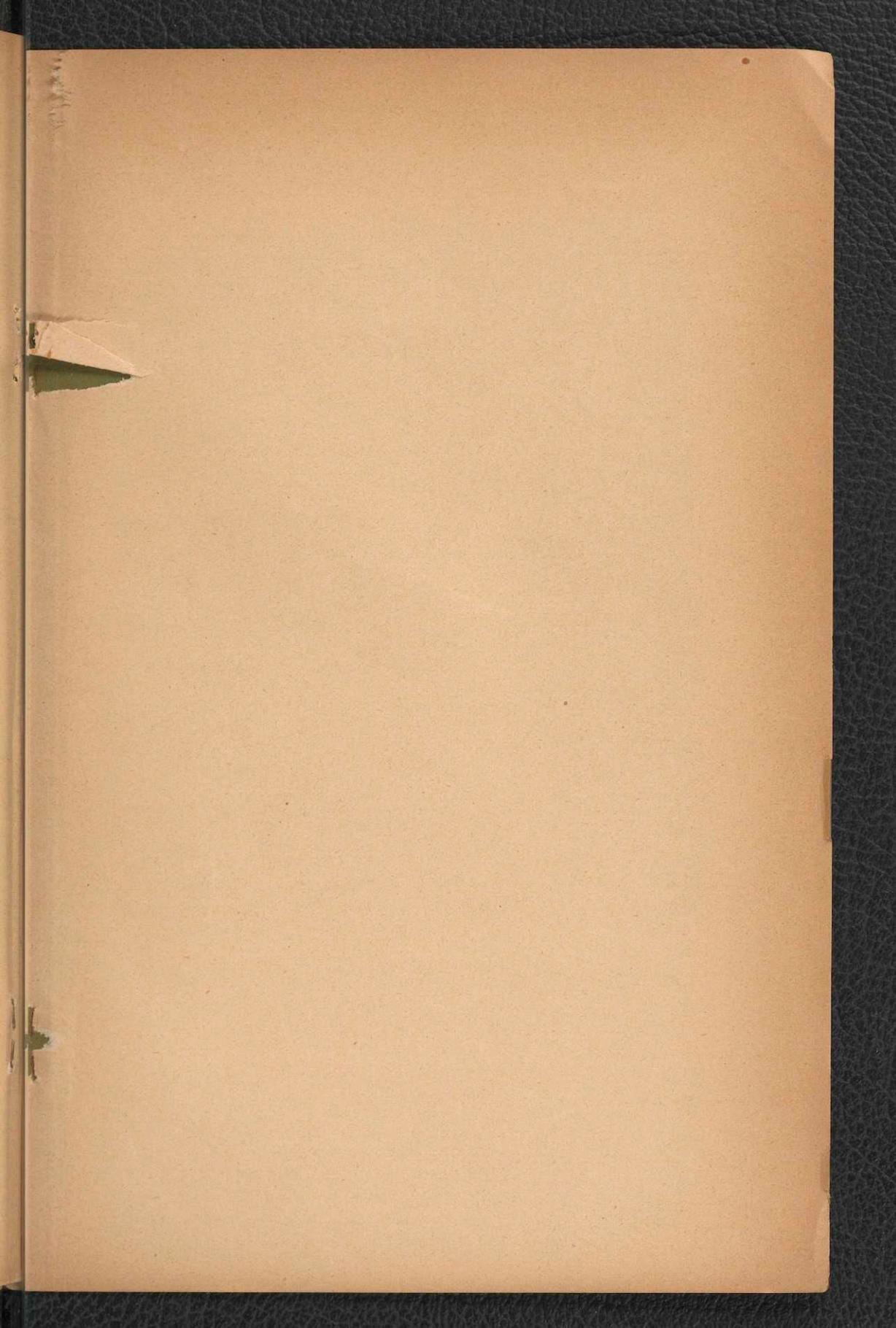


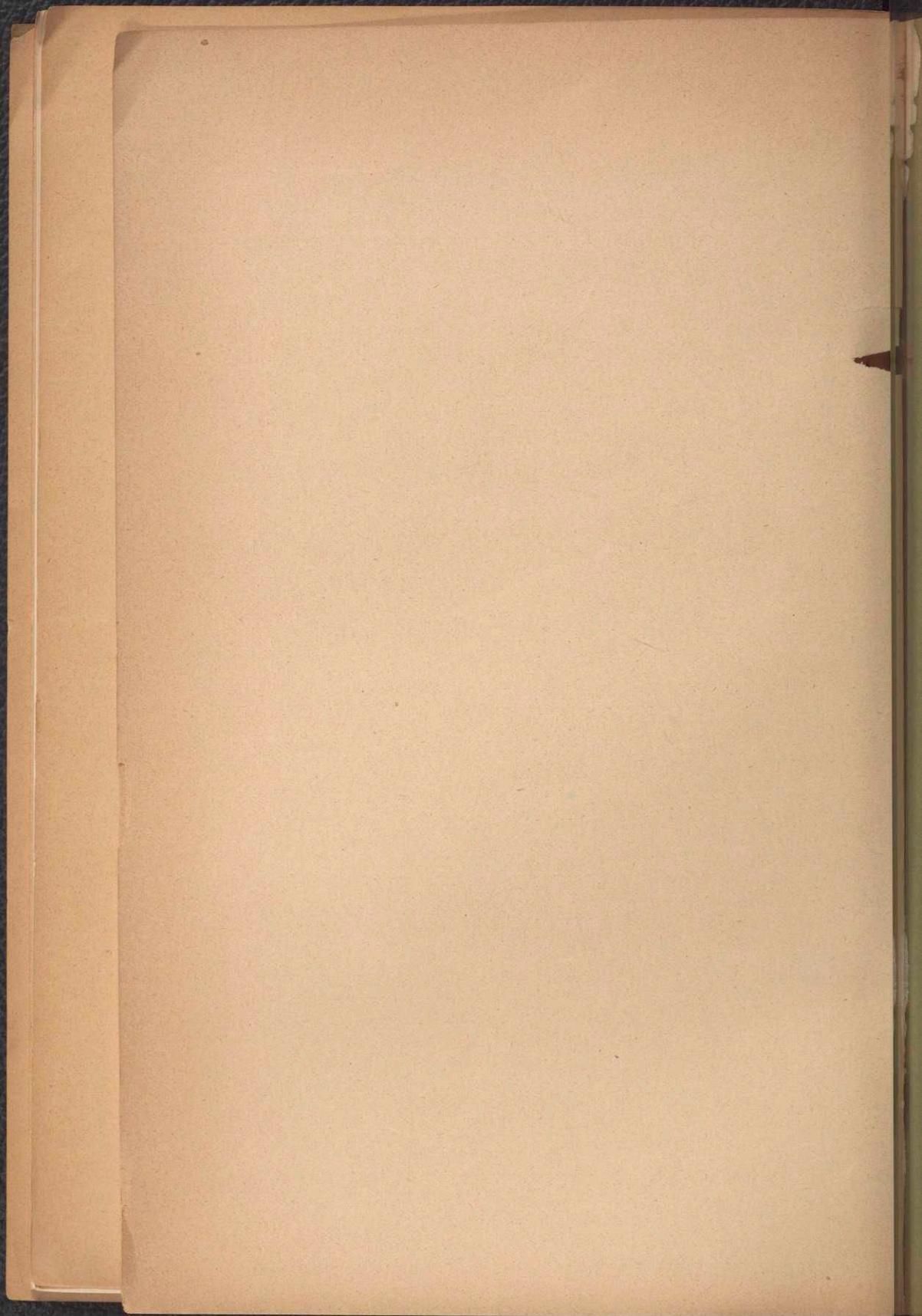


Lebenslauf.

Ich, Bruno Julius Deseler, Sohn des Oberstabsveterinärs a. D. Paul Deseler, wurde am 16. November 1884 zu Offenhausen in Württemberg geboren und evangelisch erzogen. Ich besuchte die Vorschule zu Eberswalde, das Lyceum II. in Hannover und das Realgymnasium zu Goslar a. H., wo ich am 19. Februar 1906 das Maturitäts-Examen bestand. Vom 1. Oktober 1906 bis zum 30. September 1907 diente ich beim 4. Garde-Feld-Artillerie-Regiment als Einjährig-Freiwilliger Veterinäraspirant. Ich besuchte vom 15. Oktober 1907 bis zum 15. März 1911 die Königliche Tierärztliche Hochschule zu Berlin, bestand daselbst am 27. März 1909 die naturwissenschaftliche Prüfung und am 5. August 1911 die tierärztliche Fachprüfung. Am 10. August 1911 wurde ich zum Unterveterinär ernannt.









846000000578226

