

50X1-HUM

Page Denied

Next 118 Page(s) In Document Denied

**Sonderabdruck aus der
„Berliner u. Münchener Tierärztlichen Wochenschrift“**

Jg. 1953, Nr. 3, S. 37

(Verlag Paul Parey, Berlin SW 68, Lindenstr. 44-47)

*Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München
Kon. Leiter: Prof. Dr. M. Rolle*

**Zur Entstehung
des Tetanus aus dem Darmkanal**

Von M. ROLLE und J. KALICH

Bisher wurde Tetanus nur als Wundinfektion betrachtet. Man nimmt an, daß *Bac. tetani* oder dessen Sporen in eine Wunde gelangen müssen, um durch das gebildete Toxin eine Intoxikation hervorzurufen. Falls bei klinisch feststellbarem Tetanus keine Verletzung zu sehen ist, nimmt man an, daß trotzdem eine nur mikroskopisch sichtbare Wunde vorhanden ist, weil andere Eintrittspforten nicht bekannt sind. Es wird sogar von verborgenen Tetanusinfektionen gesprochen, bei denen die Sporen, ohne zu keimen, längere Zeit sich im Gewebe aufhalten können. Weiterhin besteht die Ansicht, daß *Bac. tetani* fast regelmäßig im Darmkanal gesunder Tiere und Menschen vorkommt.

Bei der Erforschung der Koliseptikämie haben wir wiederholt beobachtet, daß neben dem *Bact. coli* auch andere zufällig im Darmkanal vorhandene Keime ins Blut übergehen und auf diese Weise zu einer doppelten oder mehrfachen Septikämie führen oder Organkrankheiten hervorrufen können.

Wir haben uns als Aufgabe gestellt zu prüfen, ob auch *Bac. tetani*, falls er im Darmkanal vorhanden ist, mit dem *Bact. coli* ins Blut wandert. Bevor wir angingen, diese Frage zu klären, haben wir geprüft, ob sich *Bac. tetani* bei gesunden Versuchstieren überhaupt im Darmkanal aufhalten kann. Zu diesem Zwecke haben wir eine gut gewachsene, 24 Stunden alte Tetanus-Reinkultur an gesunde weiße Mäuse verfüttert. Es wurde 1 ccm dieser Leberbouillonkultur auf Weißbrot geträufelt verabreicht und die Ausscheidung der Bazillen im Kot durch tägliche mikroskopische und kulturelle Untersuchungen desselben ver-

- 2 -

folgt. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tabelle I zusammengefaßt.

Tabelle I
Ausscheidung von *Bac. tetani* mit dem Kot bei weißen Mäusen

Nr. des Versuchstieres	<i>Bac. tetani</i> nachgewiesen:
1.	Bis 8 Tage nach der Verfütterung
2.	„ 10 „ „ „ „
3.	„ 11 „ „ „ „
4.	„ 8 „ „ „ „
5.	„ 13 „ „ „ „
6.	„ 10 „ „ „ „
7.	„ 12 „ „ „ „

Aus diesem Versuch geht hervor, daß *Bac. tetani* aus dem Darmkanal gesunder Tiere in verhältnismäßig kurzer Zeit ausgeschieden wird (von 8—13 Tagen). In keinem Falle wurde eine Erkrankung der Versuchstiere an Tetanus nach Verfütterung von Tetanus-Reinkulturen nachgewiesen. Wir nehmen an, daß bei diesen Versuchstieren das *Bact. coli* im gewissen Sinne als Vitalantibiotikum gewirkt und dadurch die Ausscheidung der verfütterten Tetanusbazillen beschleunigt hat. Diese Annahme stützt sich auf unsere Beobachtungen, daß bei Tieren, die nicht entartete Kolikulturen beherbergen, die verfütterten, nicht in den Darmkanal gehörenden Keime schnell aus diesem ausgeschieden werden. Den *Bac. tetani* finden wir viel öfters im Darmkanal bei Tieren mit entartetem *Bact. coli* als bei Tieren mit normaler, gesunder Koliflora.

Im nächsten Versuch haben wir geprüft, ob bei der Entstehung der Koliseptikämie die verabreichten und noch im Darmkanal vorhandenen Tetanusbazillen ins Blut wandern und Tetanus hervorrufen können. Die Koliseptikämie haben wir bei Versuchstieren durch Verfütterung toxischer Kolikulturen hervorgerufen. Die Toxizität des *Bact. coli* haben wir durch Behandlung der Kolikultur mit dest. Wasser erreicht. Eine Schmagarkultur wurde mit 1—2 ccm dest. Wasser abgeschwemmt. Die Abschwemmung mehrerer Röhrchen wurde in ein Zentrifugierglas gebracht und zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wurde abgossen, wieder dest. Wasser zugesetzt und zentrifugiert; das überstehende Wasser nochmals abgossen und der Bodensatz mit dest. Wasser aufgeschwemmt (1:5), 0,2% Phenol zugesetzt und 24 Stunden in den Brutschrank unter offenem

Umschütteln gestellt. In der Zeit werden die Bakterienleiber dicker, aufgetrieben und granuliert. Diese Formen entwickeln sich gewöhnlich auf Nährboden nicht mehr. Die Aufschwemmung toter Koli Keime wurde in einer Dichte, die der Trübung einer Mischung von 9,7 ccm 1%igem Bariumchlorid und 0,3 ccm einer 1%igen Schwefelsäure entsprach, eingestellt und auf Toxizität an weißen Mäusen geprüft. Das Toxin tötete nach Verfütterung von 1 ccm auf Weißbrot die Mäuse in 5--7 Tagen. An 15 Mäuse wurde 1 ccm Tetanus-Leberbouillonkultur und acht Stunden nachher 1 ccm der erwähnten Koliabschwemmung verfüttert. Alle Mäuse erkrankten und starben nach 1--4 Tagen nach der Verfütterung an Tetanus- und Koliseptikämie. Nach dem Tode wurden die Organe der Tiere mikroskopisch und kulturell untersucht. Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle II zusammengefaßt.

Zur Kontrolle wurden Mäuse mit 0,5 ccm 24stündiger Tetanus-Leberbouillon-Kultur sc. infiziert. Sie starben nach zwei bis vier Tagen an Tetanus. In allen Organen konnte Bac. tetani nachgewiesen werden.

Ebenfalls zur Kontrolle wurden lebende, nicht mit dest. Wasser vorbehandelte Koli Keime in gleicher Dichte wie

Tabelle II

Erkrankung der Mäuse nach Verfütterung von Tetanus-Bazillen und toxischem Koli

Nr. des Versuchstieres	Gestorben nach Tagen	Mikroskopischer Befund	Kultureller Befund
1	2	Bac. tetani und gramnegative Stäbchen	Aus allen Organen Bac. tetani und Bac. coli
2	1	"	"
3	3	"	"
4	1	"	"
5	2	"	"
6	4	"	"
7	1	"	"
8	3	"	"
9	2	"	"
10	2	"	"
11	1	"	"
12	2	"	"
13	3	"	"
14	1	"	"
15	3	"	"

oben erwähnt per os und sc. ohne jegliche Einwirkung verabreicht.

- 4 -

Aus diesem Versuch geht hervor, daß Tetanusbazillen nach Entstehung einer Koliseptikämie fast in der gleichen Zeit und sogar noch schneller als nach subkutaner Infektion ins Blut gelangen, sich in den Organen ansiedeln und in sehr kurzer Zeit soviel Gift bilden, daß die Tiere an Tetanus sterben. Auch nach Verfütterung des toxischen Koli allein tritt der Tod durch Koliseptikämie einige Tage später ein. Also weist dieser Versuch darauf hin, daß nach einer Infektion aus dem Darmkanal die Inkubationszeit sehr kurz sein kann, da sie bei einem Drittel der Fälle nur einen Tag betragen hat. Dieser Versuch wurde wiederholt mit dem Ziel, die Inkubationszeit durch sc. Verabreichung des toxischen Koli zu verkürzen. Subkutan verabreichtes Toxin tötete die Mäuse schon nach vier Tagen. Wurde die Abschwemmung des toxischen Koli an Mäuse nach Verfütterung von Tetanuskultur sc. gespritzt, so starben diese schon nach 22 Stunden bis drei Tagen an Tetanus und Koliseptikämie. Von 14 Mäusen starben sieben schon nach 24 Stunden. Bei allen an Tetanus gestorbenen Mäusen wurden in allen Organen mikroskopisch und kulturell *Bac. tetani* und *Bact. coli* nachgewiesen. Auch dieser Versuch zeigt, daß Tetanus schon nach sehr kurzer Zeit ausgebildet werden kann, wenn der Bazillus aus dem Darmkanal in großen Mengen in die Organe hineingelangt.

Um zu prüfen, ob die Inkubationszeit nach Verabreichung von toxischem Koli von der Toxizität des *Bact. coli* abhängig ist, wurde ein Versuch mit einer schwach toxischen Koliabschwemmung vorgenommen. Hier haben wir eine Abschwemmung des toxischen *Bact. coli* so eingestellt, daß nach Verfütterung von 1 ccm die Mäuse erst nach 8—10 Tagen an Koliseptikämie starben. Der Versuch wurde wie der frühere angesetzt: an 12 Mäuse wurde 1 ccm Tetanuskultur verfüttert und acht Stunden nachher wurde die Abschwemmung der toxischen Koli keime auf Weißbrot geträufelt verabreicht. Alle Mäuse starben in 7—15 Tagen nach der Verfütterung an Tetanus; etwa 50 % zwischen 7—9 Tagen. Auch bei diesen Versuchstieren wurden nach dem Tode in allen Organen mikroskopisch und kulturell Tetanusbazillen und Koli keime ermittelt. Nur wurden in dieser Versuchsreihe, nach den mikroskopischen Ausstrichen zu urteilen, viel weniger Tetanusbazillen und Koli keime ermittelt als bei Tieren, die nach einer sehr kurzen Zeit starben. 0,5 ccm Tetanuskultur sc. verimpft tötete die Mäuse schon nach zwei Tagen.

Da sich bekanntlich die Tetanusbazillen in toten, geschädigten Geweben am liebsten ansiedeln und dort Toxine bilden, haben wir einen Versuch angesetzt, in dem an sie-

- 5 -

ben Mäuse ähnlich wie im vorigen Versuche junge Tetanus-kulturen und acht Stunden darauf schwach toxische Koli mit Weißbrot verfüttert wurden. Fünf Tage nach der Verfütterung wurde die Hautfalte am Rücken der Tiere mit einer sterilen Pinzette gequetscht und darauf geachtet, daß keine Trennung der Haut stattfand. Auch diese Tiere starben 6—8 Tage nach der Verfütterung an Tetanus und die Tetanusbazillen wie das *Bact. coli* wurden in allen Organen nachgewiesen. Hier war es auffällig, daß das gequetschte Gewebe am stärksten mit *Bac. tetani* besiedelt war. Die vier Mäuse der Kontrolle ohne Hautquetschung, denen Tetanusbazillen und toxischer Koli wie oben verabreicht wurde, starben erst nach 13—17 Tagen an Tetanus. Die angesetzte Quetschung beschleunigte also durch Anreicherung der Tetanusbazillen den Krankheitsverlauf um 5—9 Tage.

Diese Versuche zeigen, daß der *Bac. tetani* auch aus dem Darmkanal ins Blut und in die inneren Organe gelangen und Tetanus hervorrufen kann. Dies geschieht erst dann, wenn eine Kolliseptikämie entstanden ist. Im geschädigten Gewebe vermehren sich die Tetanusbazillen schneller, auch die Toxinbildung ist stärker. Wenn ein geschädigtes Gewebe im Körper vorhanden ist, können die Bazillen nicht nur von außen, sondern auch von innen hineinwandern. Wenn eine junge Tetanuskultur an gesunde Tiere verfüttert wird, werden die Bazillen, ohne eine Krankheit hervorzurufen, scheinbar durch die vitalantibiotische Kraft des *Bact. coli* schnell ausgeschieden.

Auf Grund dieser Versuche liegt die Vermutung nahe, daß auch bei anderen Tieren, insbesondere bei dem tetanusempfindlichen Pferd, Tetanus aus dem Darmkanal entstehen kann, vor allem bei Pferden, die durch entartetes Koli Tetanusbazillen längere Zeit im Darm beherbergen, oder in tetanusgefährdeten Gebieten, wo die Pferde Gelegenheit haben, Tetanussporen stets mit dem Futter aufzunehmen. Wenn so ein Pferd auch vorübergehend an Kolliseptikämie erkrankt, haben die Tetanusbazillen Gelegenheit, ins Blut überzugehen und in dieser Weise Tetanus hervorzurufen. Weiterhin zeigen diese Versuche, daß, wenn in geschlossenem, geschädigtem Gewebe Tetanusbazillen gefunden werden, diese nicht von außen hineingelagt zu sein brauchen. Sie können ebenso gut vom Darm aus durch die Blutbahn dahin gebracht werden. Daraus geht weiterhin hervor, daß in Verdachtsfällen von Tetanus die Temperatur der Tiere stets gemessen werden muß, da bei Kolliseptikämie Fieber vorhanden ist. Ebenfalls könnten die Kontuntersuchungen auf *Bac. tetani* bei an Tetanus er-

kranken Tieren, die entarteten Koli beherbergen, einen Hinweis auf die Eintrittspforte des Bac. tetani geben. In Fällen, wo die Inkubationszeit nach einer Verletzung zu kurz oder zu lang ist (Vernagelung), müßten auch die inneren Organe nach dem Tode des Pferdes auf Tetanusbazillen untersucht werden. Wenn Tetanusbazillen in Organen nach wiederholter Erkrankung ermittelt würden, könnten wir an eine Infektion aus dem Darmkanal denken.

Die Tetanus-Bazillämie bei Menschen und Tieren ist bisher sehr wenig bearbeitet, weil die Ansicht besteht, daß Tetanusbazillen nur am Ort ihres primären Einbruchs liegen bleiben, hier zur Vermehrung kommen, aber keinerlei Tendenz aufweisen sollen, in das Innere der Organe einzudringen. Die in den Organen und im Blut nach dem Tode ermittelten Tetanusbazillen bei Menschen wurden als agonale oder postmortale Überschwemmung angesehen. Graetz mit seinem Mitarbeiter MAVA (1937) haben als erste ausdrücklich betont, daß die alte herkömmliche Lehre von rein lokalem Charakter der Tetanus-Infektion als erschütterter gelten müsse. Sie stützten sich auf die erhobenen Befunde an Menschen und experimentellen Studien an Meerschweinchen. Trotzdem schreibt LISONA 1952: „Ob der Erreger dort (im Blut und Organen) aber infolge der höheren Sauerstoffspannung des Gewebes auch Gift bilden und damit auch pathogen sein kann, erscheint zweifelhaft.“ Unsere Versuche zeigen, daß dieser Zweifel unbegründet ist und daß der Tetanusbazillus aus dem Darmkanal ins Blut und in das Innere der Organe einwandern und Gift bilden kann.

Zusammenfassung

1. Wenn während des Aufenthaltes des Bac. tetani im Darmkanal eine Koliseptikämie entsteht, wandern die Tetanusbazillen ins Blut über und rufen bei den Versuchstieren in kurzer Zeit typischen Tetanus hervor.
2. Im geschädigten Gewebe kann sich der Bac. tetani vom Blut aus ansiedeln, sich dort schnell vermehren und Tetanus hervorrufen.
3. Bei an Tetanus gestorbenen Tieren wird stets in den Organen und im Blut Bac. tetani nachgewiesen.
4. Bac. tetani wird aus dem Darmkanal der gesunden Mäuse nach 8—13 Tagen ausgeschieden.

Literaturverzeichnis

1. Linder: Handbuch der Inneren Medizin, 4. Auflage, Springer-Verlag, 1952, 246, I. Bd., II. Teil. — 2. Mayer, J. B.: Ein Beitrag zur Pathogenese der Tetanusinfektion. Zbl. Bakt. Orig. 139, 137 (1911).
- 3. Pfriemger, W.: Über den Nachweis von Tetanusbazillen im Herzblut und in der Milz. Zbl. Bakt. Orig. 111, 375 (1938).
- 4. Rullé, M.: Die Bedeutung des Bac. coli für die Krankheitsentstehung und Gewanderhaltung. DTW. 1952, 89—95.

Druck: Felgentreff & Co., Berlin SW 29

Sonderdruck aus »GESUNDES LAND - GESUNDES LEBEN«
 Herausgegeben von Professor DR. K. SALLER Richard Pflaum Verlag, München

DIE BIOLOGISCHE BEDEUTUNG DER DARMSYMBIONTEN

Von Prof. Dr. M. Rolle

Das Leben einer Art ist vom Leben der anderen Arten abhängig. Jedes Einzelwesen ist ein Mitglied der großen Gemeinschaft. Das Leben ist erst dann gesund, wenn in dieser Gemeinschaft Harmonie, bzw. Gleichgewicht herrscht. Gleichgewicht deshalb, weil eine Art oft der übermäßigen Entwicklung der anderen Art eine Grenze zieht, bzw. sie in der Entwicklung hemmt. In einem bestimmtem Verhältnis zueinander könnten beide Arten nebeneinander leben. Die höchste Form der Lebensgemeinschaft ist die Symbiose, wo ein Lebewesen das Leben des anderen unterstützt, ja ihm sogar unentbehrlich ist. Als Gegensatz zur Symbiose ist die Antibiose und der Antagonismus zu verstehen. Neben diesen Lebensformen liegt der Parasitismus, bei dem eine Art auf Kosten der anderen zu leben versucht. Aus dem Parasitismus kann nie eine Symbiose entstehen. Der Parasit versucht den Wirt für die eigenen Zwecke möglichst auszunützen, andererseits versucht der Wirt sich von dem Parasiten zu befreien. Wenn zwischen den beiden Partnern ein Gleichgewicht entsteht, dann ist dies nur als Kompromiß auf gewisse Zeit zu verstehen, d. h. dieses Gleichgewicht ist nur eine Kampfpause.

Nun entsteht die Frage, ob Gesundheit des Lebens unabhängig von der Gesundheit des Landes, bzw. der Umwelt existieren kann. Unter Gesundheit verstehen wir doch die Harmonie der Lebensvorgänge. Wenn das Leben in der Umwelt des Individuums unharmonisch verläuft, ist es unmöglich einen gesunden Ablauf in seinen Lebensvorgängen zu erwarten. In einer vergifteten und des Gleichgewichtes beraubten Umwelt ist kein gesundes Leben möglich. Es kann ebenfalls die Frage gestellt werden, ob ein ungesundes Leben auch die Umwelt ungesund machen kann? Beide sind von einander abhängig. Ein gesundes Land kann nicht ohne ein gesundes Leben existieren, denn beide sind untrennbar.

Meine Aufgabe ist es heute, die Bedeutung des Zusammenlebens der Menschen und Tiere mit den Bakterien im Darmkanal zu besprechen.

Im Dickdarm von gesunden Menschen und Tieren — mit Ausnahme von Meerschweinchen — ist das *Bact. coli* der Hauptbewohner. Neben ihm finden wir im Dickdarm etwa 5% grampositiver Keime, in erster Linie Eiweißzersetzer. Das Duodenum und z. T. auch das Jejunum sind keimfrei, obwohl der Darminhalt des Dünndarmes ebenso gute Entwicklungsmöglichkeiten für das *Bact. coli* bietet wie der Inhalt des Dickdarmes. Nur unter bestimmten Umständen siedeln sich Koli-keime auch in den oberen Abschnitten des Dünndarmes an. In diesen Fällen beobachten wir stets Krankheitserscheinungen des betreffenden Menschen oder Tieres. Ebenfalls treten Krankheiten auf, wenn das *Bact. coli* aus dem Dickdarm vertrieben wird

oder von da verschwindet. Aus diesen Tatsachen sehen wir, daß das Bact. coli für den Körper unentbehrlich ist, solange es sich im Dickdarm aufhält. Sehr zutreffend sagt Reiner Müller: „Die Kolibakterien sind außerhalb des Dickdarmes nicht am Platze“. Wenn die Natur aber das Bact. coli in den Dickdarm eingepflanzt hat, dann ist dies nicht nur ein Zufall ohne jegliche Bedeutung. Wir dürfen deshalb das im Dickdarm vorkommende Bact. coli nicht als einen Fremdkörper oder als Schmarotzer bezeichnen.

Das Bact. coli wirkt im Dickdarm synthetisierend, abbauend und als Vitalantibiotikum. Solange es noch im Dickdarm lokalisiert ist, gehört es zu der Innenwelt des Körpers und wir können es mit Recht als einen Symbionten desselben bezeichnen. Andererseits entsteht die Frage, ob das Bact. coli sich auch nach dem Tode des Menschen oder Tieres im Dickdarm vermehren kann? Nach dem Tode des Körpers ist das Bact. coli nicht mehr an den Symbioseort-Dickdarm gebunden. Es verläßt ihn und wandert ungehindert aufwärts im Darmkanal und ins Gewebe des Körpers ein. Im Dickdarm nimmt es an Zahl ab, dagegen entwickeln sich da die Eiweißzersetzer und führen zur Fäulnis des Körpers. Bei einigen Tierarten, wie z. B. bei Meerschweinchen, finden wir im Darmkanal statt Koli grampositive, stark säurebildende Keime, die dem Bact. bifidum ähnlich sind. Neben diesen säurebildenden Bakterien finden wir im Dickdarm des Meerschweinchens aerobe, alkalibildende, Gelatine verflüssigende, sporentragende Stäbchen. Hier sehen wir wieder zwei Bakterienarten mit entgegengesetzten Eigenschaften, die im bestimmten Verhältnis zueinander sind und das Gleichgewicht im Darmkanal bestimmen. Wenn wir an Meerschweinchen Kolikulturen verfüttern, so werden diese schnell aus dem Darmkanal ausgeschieden. In diesem Falle ist das Bact. coli kein Symbiont. Erst bei kranken Meerschweinchen oder kurz vor dem Tode derselben siedelt sich das Bact. coli in dem Darm an. Diese Umstellung scheint von dem pH-Wert im Darm abhängig zu sein. Bei gesunden Meerschweinchen schwankt der pH-Wert zwischen 4,56 und 6,53. Hier besteht ein deutlicher Unterschied gegenüber dem pH des Dickdarmkanals anderer Säugetiere, bei denen er neutral oder schwach alkalisch ist. Bei kranken Meerschweinchen, bes. kurz vor dem Tode, liegen die pH-Werte auch über dem Neutralpunkt und etwas darüber.

Wir kennen mehrere Beispiele, wo ein höher entwickeltes Lebewesen mit Mikroorganismen in Symbiose lebt. Buchner und Anton Koch haben bewiesen, daß viele Insekten Nester von Bakterien im Körper außerhalb des Darmes beherbergen. Sie sind für das Leben des Körpers unbedingt notwendig und funktionieren als ein Organ. Wir können ebenfalls den lebenden Dickdarminhalt mit dem Symbionten Bact. coli als ein Organ mit Organfunktionen auffassen. Eine Erkrankung dieses Organs zieht die Erkrankung anderer Organe nach sich. Die Erkrankung oder Dysfunktion des Dickdarminhaltes beobachten wir, wenn das Bact. coli die Synthetisierfähigkeit verliert und

~~Transparenz~~ des Körpers und wir können es mit Recht als einen Symbionten
~~Anders~~ entsteht die Frage, ob das Bact. coli sich auch nach dem Tode
~~des Menschen oder Tieres~~ im Dickdarm vermehren kann? Nach dem
 statt dieser nur die Abbautätigkeit steigert oder in einzelnen Fällen auch
 vermindert. Ebenfalls tritt eine Dysfunktion auf, wenn das Bact. coli aus
 dem Dickdarm verschwindet oder künstlich vertrieben wird. In diesen Fällen
 vermehren sich im Dickdarm andere Keime wie z. B. die schon normaler-
 weise zu 5 % vorhandenen Eiweißersetzer oder die mit der Nahrung
 aufgenommenen Koli-antagonisten. Die nicht normal funktionierenden Koli-
 keime werden auch als entartete Formen des Bact. coli bezeichnet. In der
 Systematik der Bakterien finden wir sie als Variationen oder sogar als be-
 sondere Arten angeführt (wie Paracoli, Dyspepsia coli usw.). Wenn wir
 diese entarteten Koli-keime auf normalen Nährboden weiter züchten, nehmen
 sie mit der Zeit die früheren normalen Eigenschaften wieder an. Die entar-
 teten Formen des Bact. coli können wir nach den morphologischen, bioche-
 mischen und kulturellen Eigenschaften feststellen. Sie nehmen eine andere
 Gestalt an, werden dicker und länger und haben oft Neigung zu Faden-
 bildung. In einigen Fällen ist die Peripherie der Stäbchen schwächer gefärbt
 und sieht wie eine Kapsel aus. Nach den biochemischen Eigenschaften beob-
 achten wir beim Koli einmal starke Gasbildung, ein andermal dagegen die
 Unfähigkeit die Zuckerarten anzugreifen. Die einen bezeichnen wir als stark
 gasbildende, die anderen als inaktive Formen. Auch die Kolonien dieser
 Keime unterscheiden sich von den Kolonien gesunder Koli. Die zahlenmäßige
 Abnahme der Kolibakterien im Dickdarm läßt auf die Entartung derselben
 schließen. In diesen Fällen finden wir anstatt Koli die Koli-antagonisten, wie
 die grampositiven Eiweißersetzer, Bact. aerogenes, wilde Hefen (verschie-
 dene Torulopsis und Candida-Arten), Streptokokken und Mikrokokken.
 Nach der Entartung, besonders wenn dieser Zustand längere Zeit andauert,
 kann das Bact. coli den Dickdarm verlassen und aufwärts in den Dünn-
 darm, sogar bis zur Gallenblase wandern. Dort nimmt es oft toxische Eigen-
 schaften an. Es zeigt Verdickungen, oft am Ende des Stäbchens. Im Inneren
 der Zelle sind kleine Granula sichtbar. Diese Stäbchen sehen vakuolisiert
 oder granuliert aus. Manchmal sehen wir nur die kleinen Granula allein.
 Nach Verabreichung von faeces mit diesen Koli-Formen oder von Kulturen
 der ersten Generation sterben die Versuchstiere an Koli-septikämie. Weitere
 Übertragungen von Organemulsionen auf gesunde Tiere gelingen gewöhnlich
 nicht. Die toxisch gewordenen Koli-Formen, auf Gassner-Nährboden weiter-
 gezüchtet, verlieren nach 2—4 Überimpfungen die toxischen Eigenschaften
 und nehmen wieder die normalen Formen an.

Die Vakuolisierung und Granulierung der Keime kann auch künstlich
 durch Aufschwemmung im dest. Wasser erreicht werden. Nach längerer Vor-
 behandlung sind die Keime nicht mehr weiter züchtbar. Das Absterben der

so behandelten Koli-keime kann durch 0,2 % Phenolzusatz beschleunigt werden. Durch Verimpfung oder Verfütterung des abzentrifugierten und in phys. NaCl aufgeschwemmten Bodensatzes an Versuchstiere können wir eine Koli-septikämie hervorrufen. Die toxischen Substanzen von der Zelle zu trennen, bzw. in löslicher Form zu gewinnen, gelingt nur bei sehr wenigen Coli-stämmen. Nach der Verabreichung von abgetöteten zuerst geschädigten Koli-keimen treten lebende Koli-bakterien ins Blut über. Je nach der Menge der im Blut aufgetretenen Bact. coli und je nach der Widerstandskraft des Körpers entsteht eine tödliche oder vorübergehende Septikämie. Eine Entzündung der Dünndarmschleimhaut ist meist vorhanden, dagegen fehlen die Entzündungserscheinungen am Dickdarm. Die Gewinnung der toxischen Koli-abschwemmungen gab die Möglichkeit die Einwirkung des Toxins auf den Körper experimentell zu verfolgen. Sind im Darmkanal andere pathogene oder apathogene Bakterien vorhanden und werden in dieser Zeit lebende oder abgetötete toxische Koli-keime verabreicht, dann wandern außer den Koli-keimen aus dem Dickdarm ebenso die anderen zufällig im Darm vorhandenen Keime mit ins Blut über, so daß neben der Koli-septikämie auch eine andere Septikämie entsteht. Die im Blut zirkulierenden Bakterien können sich in verschiedenen Organen ansiedeln, besonders in solchen mit einem locus minoris resistentiae und danach Organerkrankungen hervorrufen. Das Gesagte soll durch einige Versuche demonstriert werden.

An gesunde Versuchstiere wurde eine gut gewachsene 24 Std. alte Tetanus-kultur verfüttert und durch tägliche bakteriologische Untersuchung die Ausscheidung der Tetanusbazillen verfolgt. Die Ergebnisse dieses Versuches zeigen, daß die verfütterten Tetanusbazillen in 8-13 Tagen aus dem Darmkanal ausgeschieden wurden. In keinem Falle wurde eine Erkrankung der Tiere an Tetanus nach Verfütterung von Tetanusreinkultur beobachtet. Wenn nach der Verfütterung von Tetanusbazillen toxischer Koli verabreicht wurde, starben alle Versuchstiere an Koli-septikämie und Tetanus. Neben Bact. coli wurden in allen Organen Tetanusbazillen nachgewiesen. Die Ergebnisse dieses Versuches sind aus der Tabelle I ersichtlich.

Nach der Verabreichung von toxischem Koli ohne Verfütterung von Tetanusbazillen starben die Versuchstiere erst nach 5-6 Tagen. Dagegen starben die Mäuse, an die auch Tetanus verfüttert wurde, nach 1-4 Tagen. Da sich bekanntlich die Tetanusbazillen in totem, geschädigtem Gewebe am liebsten ansiedeln, wurde 5 Tage nach der Verfütterung eine Hautfalte auf dem Rücken der Tiere mit einer sterilen Pinzette gequetscht. Diese Tiere starben nach der Verfütterung von schwach toxischem Koli in 6-8 Tagen. Hier fiel auf, daß das gequetschte Gewebe am meisten von Bac. tetani besiedelt war. Die Mäuse ohne Hautquetschungen starben erst in 13-17 Tagen an Tetanus nach der Verfütterung von toxischem Koli. Diese Versuche zeigen, daß nach Entstehung einer Koli-septikämie auch Tetanus entstehen kann, und zwar eine Tetanus-Bazillämie aus dem Darmkanal, wenn durch die Nahrung oder sonstige Tetanusbazillen aufgenommen werden.

Weiterhin soll noch ein Versuch mit Tuberkulosebakterien kurz erwähnt werden. An eine Reihe von weißen Mäusen wurde virulente Tuberkulosekultur verfüttert

Tabelle I
Erkrankung der Mäuse nach Verfütterung von Tetanus-Bazillen und toxischem Koli.

Nr. des Versuchstieres	Gestorben nach Tagen	Mikroskopischer Befund	Kultureller Befund
1	2	Bac. tetani und gramnegative Stäbchen	Aus allen Organen Bac. tetani u. Bact. coli
2	1	"	"
3	3	"	"
4	1	"	"
5	2	"	"
6	4	"	"
7	1	"	"
8	3	"	"
9	2	"	"
10	2	"	"
11	1	"	"
12	2	"	"
13	3	"	"
14	1	"	"
15	3	"	"

und danach täglich der Kot auf Tuberkulosekeime untersucht. Die verfütterten Keime konnten nach 7 Tagen nicht mehr im Kot nachgewiesen werden. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tabelle II zusammengefaßt.

Tabelle II
Ausscheidung von verfütterten Tuberkulosebakterien mit dem Kot bei weißen Mäusen.

Lfd. Nr.	Tuberkulosebakterien nachgewiesen nach Tagen										Nach 24 Tagen getötet	Befund nach dem Tode: mikroskopisch u. kulturell
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
1	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	negativ
2	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"
3	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"
4	+	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	"
5	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"
6	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	"
7	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"

8	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	negativ
9	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"
10	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	"
11	+	+	+	+	-	-	+	-	-	-	"
12	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"
13	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	"
14	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	"

auch im Tierversuch

Alle Versuchstiere wurden nach 24 Tagen getötet und in keinem Falle konnten Tuberkulosebakterien in den Organen gefunden werden.

Im nächsten Versuch wurden an eine Reihe von Versuchstieren virulente Tuberkulosebakterien und wieder an eine andere Reihe der Tiere BCG-Kulturen verfüttert. Nach 36 Stunden wurden toxische Koli verabreicht. Fast alle Tiere starben nach 2-7 Tagen an Koliseptikämie. Die Organe der verstorbenen Tiere wurden auf Tuberkulosebakterien — zum Teil auch im Tierversuch — untersucht und bei der Mehrzahl der Tiere konnten Tuberkulosebakterien gefunden werden. Auch die verfütterten BCG wurden in den Organen gestorbener Tiere ermittelt. Die Tuberkulosebakterien wurden in erster Linie in den Darmlymphknoten und in der Leber beobachtet. Irgendwelche mikroskopisch sichtbare Veränderungen konnten nicht festgestellt werden, da die Zeit zur Entwicklung derselben noch zu kurz war.

Tabelle III

Erkrankung der Mäuse nach Verfütterung von Tuberkulosebakterien bzw. BCG und nachträglich von toxischem Koli.

Lfd. Nr.	Befund: neben Bact. coli Tuberkulosebakterien in verschiedenen Organen				
	Gestorben Gestorben nach Tagen	Darm- Darm- lymphknoten	Leber Leber	Milz Milz	Lunge Lunge
1	4	+	+	+	-
2	6	+	+	+	+
3	5	+	+	-	-
4	6	-	+	-	-
5	6	+	+	+	+
6	4	-	-	-	-
7	6	+	+	+	-
8	4	-	-	-	-
9	7	+	+	-	-
10	6	-	+	+	+
11	3	+	+	-	-
12	3	+	-	-	-
13	4	+	+	+	-
14	4	-	+	-	+
15	2	+	-	-	-

BCG
"
"
"

16	3	--	+	-	-	BCG
17	4	+	+	+	+	"
18	erkrankte nicht; wurde nach 3. Wo. getötet		-	-	-	"

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß bei der Entstehung der Koliseptikämie die im Darmkanal vorkommenden Tuberkulosebakterien mit ins Blut wandern und sich in den Organen ansiedeln. Dagegen werden bei Tieren mit gesunder Darmflora die verfütterten Tuberkulosebakterien schnell ausgeschieden. Dieser Versuch kann uns Hinweise über die Entstehung der Tuberkulose aus dem Darmkanal geben. Ebenfalls können wir damit die sich in der Literatur widersprechenden Angaben über die Fütterungstuberkulose bei Tieren klären. Nach der Verfütterung von Tuberkulosebakterien an Kälber erkrankten diese nur in 20 bis 50 % der Fälle an Tuberkulose. Bei dem Lübecker Unglücksfall, wo versehentlich an 250 Kinder statt BCG virulente Tuberkulosebakterien per os verabreicht wurden, erkrankten und starben an Tuberkulose 78 Kinder, also ca. 30 %. Die anderen erkrankten nicht. Wenn wir das Vorhandensein der Tuberkulosebakterien im Darmkanal verfolgen, dann sehen wir, daß die Kälber in stark infizierten Stallungen Tuberkulosebakterien im Darmkanal beherbergen, und zwar öfters im Rektum als im Duodenum, ohne an Tuberkulose zu erkranken. Bei Kindern, die von tuberkulösen Müttern gestillt werden, finden wir oft Tuberkulosebakterien im Stuhl. Entwickelt sich bei diesen Kindern oder bei den Kälbern ein toxischer Koli und ruft eine vorübergehende Koliseptikämie hervor, dann kann eine Organtuberkulose entstehen. Die an Lungentuberkulose erkrankten Menschen und Tiere verschlucken regelmäßig Tuberkulosebakterien. Wenn in diesen Fällen Koliseptikämie entsteht, kann der Tuberkuloseerreger wieder ins Blut gelangen und dadurch den Tuberkuloseprozeß verschlechtern. Dies veranlaßt uns zu überlegen, ob bei der Behandlung der Tuberkulose nicht auch der Darminhalt mitbehandelt werden muß, ja sogar ob nicht die Darmflora zuerst in Ordnung zu bringen ist. Hier kann die Frage gestellt werden, was das Primäre bei der Entartung und dem Toxischwerden des Bact. coli im Darmkanal sein könnte? Ob bei der Entartung des Bact. coli die Organtuberkulose das Primäre sein kann? Auf Grund der experimentellen Untersuchungen und Beobachtungen unter natürlichen Verhältnissen ist eher anzunehmen, daß das Primäre in der Entartung und Aufwärtswanderung des Bact. coli zu suchen sei.

Für die Entartung des Bact. coli im Dickdarm ist sehr oft die Ursache in der Nahrung zu suchen. Einseitig zusammengesetzte Nahrung, wie auch die Aufnahme von übermäßigen Mengen kann das Bact. coli schädigen. Besondere Aufmerksamkeit müssen wir der krassen Umstellung der Nahrung widmen. Es ist jedem bekannt, daß nach Aufnahme von ungewohnten Nah-

rungsmitteln gewisse Störungen der Gesundheit, allerdings nur vorübergehend, auftreten. Nach der krassen Fütterungsumstellung können wir bei Versuchstieren Erkrankungen fast regelmäßig hervorrufen. Besonders schwere Krankheitssymptome treten dann auf, wenn die Umstellung von mangelhafter auf übermäßige Nahrung erfolgt. Ebenfalls kann sich eine unregelmäßige Aufnahme der Nahrung schädigend auf das *Bact. coli* auswirken. In fast allen Fällen können wir dann eine Entartung desselben im Dickdarm feststellen. Wenn das *Bact. coli* sich an die neuen Verhältnisse angepaßt hat, verschwinden auch die Gesundheitsstörungen.

Wenn *Koli*antagonisten in den Darmkanal gelangen und ein geschädigtes *Bact. coli* vorfinden oder wenn die Entwicklung der Antagonisten durch besondere Stoffe begünstigt wird, vermehren sich diese und hemmen die Entwicklung des *Bact. coli* oder vertreiben es völlig. Diese Eigenschaft haben das *Bact. aerogenes* und einige wilde Hefearten aus der Gattung der *Candida* und *Torulopsis*. Das *Bact. aerogenes* ist der Hauptbewohner des Darmkanals bei Insekten und anderen Kaltblütern. Die Hefeart *Candida tropicalis* ist als Symbiont bei Käfern bekannt. Sie siedelt sich im Darmkanal bei Menschen und Tieren an, wenn das *Bact. coli* schon geschädigt ist. Das Wachstum dieser Keime wird durch Zugabe von Milch und Zucker begünstigt. In einigen Fällen entwickeln sich anstatt *Koli* Mikrokokken oder Streptokokken, gewöhnlich *Str. faecalis*, manchmal wieder Eiweißzersetzer wie *Bac. putrificus* oder *Bact. proteus*. Auch die Ansiedlung von *Bact. pyocyaneum* wird beobachtet.

Einige Parasiten schädigen, anscheinend durch ihre Stoffwechselprodukte im Körper, das *Bact. coli* erheblich. Sehr deutlich tritt diese Schädigung bei den mit Leberegeln befallenen Tieren in Erscheinung. Bei ihnen finden wir fast regelmäßig stark toxische *Kolikeime* im Duodenum, mit gleichzeitiger Abnahme der *Kolizahl* im Dickdarm. Die Darmflora dieser Tiere läßt sich erst dann normalisieren, wenn die Leberegel aus der Leber vertrieben werden.

Viele Arzneimittel, wenn sie längere Zeit verabreicht werden, können *Bact. coli* schädigen. Deshalb dürfen die Arzneimittel, wie Sulfonamide und Antibiotica, nur solange verabreicht werden, solange es unbedingt notwendig ist. Bei langdauernder Behandlung muß versucht werden die normale Darmflora aufrecht zu erhalten.

Die Behandlung kann erst nach der bakteriologischen Diagnose richtig eingeleitet werden. Zuerst muß versucht werden, die Ursachen der Erkrankung abzustellen.

Die älteste Behandlung zur Abstellung der Störungen im Magen-Darmkanal ist die diätetische Methode. Eine begründete Diät kann erst nach dem bakteriologischen Befund angeordnet werden. Wenn das *Bact. coli* nur leicht entartet ist (Fadenbildner, bekapselte Formen, gasbildende oder inaktive Formen) kann es durch Zugabe von Zucker, Honig oder Milch wieder nor-

malisiert werden. Die Genesung wird beschleunigt, wenn gleichzeitig Bierhefe genommen wird. Die *Bierhefe* muß vor dem Essen auf nüchternen Magen, täglich etwa 100 g, in Wasser oder Kamillentee genommen werden. Es ist ratsam, nach der Aufnahme von Bierhefe, ein Glas Wasser oder Kamillentee zu trinken, um die Hefe möglichst rasch in den Darmkanal zu befördern. Bei der Anwesenheit von *Bact. aerogenes* und wilden Hefen ist Zucker und Milch kontraindiziert. Hier hat oft die Behandlung mit Bierhefe allein gute Erfolge gezeitigt. Bei starker Vermehrung der Fäulniskeime im Darmkanal, ist die Fleischaufnahme zu vermeiden. Hier sind neben der Bierhefekur leicht verdauliche Kohlehydrate am Platze. In Fällen, in denen sich an Stelle von *Bact. coli* grampositive Streptokokken eingenistet haben, kann man diese durch eine kurzdauernde (3 Tage) Oralpenicillin-Kur vertreiben. In einigen Fällen, besonders bei Personen, die die Bierhefekur nicht vertragen, sind gute Ergebnisse durch Verabreichung von Koliereinkulturen erzielt worden, insbesondere wenn diese mit der Diät kombiniert Anwendung gefunden hat. Flüssige Kulturen mit nachfolgender Aufnahme von Wasser sind gegenüber Kapseln zu bevorzugen, weil dadurch die verschluckten Kulturen rascher durch den Magen und den Dünndarm befördert werden können.

Diese kurzen Hinweise auf die Behandlung sollen nur als Richtlinien dienen, die auf Grund der Beobachtung und Experimente aufgestellt worden sind.

ZUSAMMENFASSUNG

1. Das *Bact. coli* ist als ein unentbehrlicher Symbiont des Körpers aufzufassen.
2. Das *Bact. coli* gewöhnt unter bestimmten Bedingungen, oft durch falsche und unregelmäßige Nahrung, toxische Eigenschaften.
3. Der toxische Koli kann, auch abgetötet, Septikämie mit nachfolgenden Organerkrankungen hervorrufen, wobei die Erreger aus dem Darmkanal in die inneren Organe einwandern.
4. Die bakteriologische Untersuchung kann dem Arzt den richtigen Hinweis auf die Behandlung geben.
5. Bei der Behandlung der Organerkrankungen muß der Arzt stets die Vorgänge im Darmkanal im Auge behalten.
6. Durch die entsprechende Diät, kombiniert mit anderen biologischen Behandlungsmethoden, kann das Gleichgewicht im Darmkanal wieder hergestellt werden.

Literatur:

Adam, A.: Fortschritte in der Pathogenese und Therapie der Ernährungsstörungen. *Ärztl. Praxis*, 3, Heft 51, 1951. - *Bauer, S.*: Die Coli-Dysbakterie und ihre Therapie. *Med. Mschr.* 1951, 490. - *Derselbe*: Zusammenhänge zwischen Kolibakterien und Mundkrankheiten. 20. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde, München 1952. - *Baumgärtl.*: Über die Bedeutung der Darmbakterien. *Hipokrates*, 9, 1136, 1938. - *Derselbe*: Zur Kolidiagnostik in der klinischen Bakteriologie. *Klin. Wchschr.*, 19, 652, 1940. - *Derselbe*: Untersuchungen über neutrale Colientartung. *Klin. Wschr.* 20, 289, 1941. - *Derselbe*: Zur Bakteriologie und Therapie der chronisch-spastischen Obstipation. *Dtsch. med.*

Wschr. 27, 61, 1941. - *Derselbe und Zahn*: Die Chemotherapie unspezifischer Darmstörungen. Dtsch. med. Wschr. 1951, 1370. - *Bloedner*: Die Dysbakterie des Dickdarms bei Lungentuberkulose und ihre Beziehung zum vegetativen Nervensystem. Der Tuberkulosearzt 5, 289, 1951. - *Budner, P.*: Symbiose der Tiere mit pflanzlichen Mikroorganismen. Sammlung Götschen, Bd. 1128, 2. Auflage, Berlin 1949. - *Freund und Martens*: Bact. coli und Tuberkuloseproblem. Münch. med. Wschr. 93, Heft 35, 1951. - *Harmsen und Meinecke*: Die Bedeutung der biologischen Symbiosenforschung für die Medizin. Klin. Wschr. 29, 560, 1951. - *Horing*: Klinische Bewertung der Stuhlflora-Mikroskopie. Klin. Wschr. 15, 697, 1936. - *Kingsky und Parson*: The availability of vitamins from yeast. Department of Home Economics University of Wisconsin, Madison, 1947, 311. - *Koch, A.*: Die Bakterien-symbiose der Kopflaus. Mikrokosmos 1951, Heft 1. - *Derselbe*: Die Bakterien-symbiose der Küchenschabe. Mikrokosmos 1949, Heft 6. - *Derselbe*: Der Kornkäfer, ein Getreideschädling mit Bakterien-symbiose. Mikrokosmos 1950, Heft 1. - *Derselbe*: Untersuchungen über Wachstumsaktivatoren. Sonderdruck aus Verhandlungen der deutschen Zoologen in Marburg 1950. - *Koch, A., Offhans, Schwarz, Bandier*: Symbioseforschung und Medizin. Naturwissenschaften 38, 339, 1951. - *Koluth*: Die innere Umwelt des Körpers als Krankheitsherd. Herdinfektion und Dysbakterie. Med. Welt 19, 417, 1949. - *Lienhop*: Über die Wirkungen von Bact. coli. Ärztl. Praxis 3, 46, 1951. - *Morell*: Über die Bedeutung der physiologischen Darmflora für den Vitaminhaushalt. Dtsch. med. Wschr. 64, Heft 46, 1948. - *Derselbe*: Über die normale Darmbakteriensymbiose im Darm. Dtsch. med. Wschr. 63, 1545, 1939. - *Nisile*: Neues über die Dysbakterie und die Mutaflotherapie. Wiener Med. Wschr. 93, 528, 1943. - *Derselbe*: Über die intestinale Autointoxikation und ihre Behandlung mit Mutaflo. Hippokrates 20, 567, 1949. - *Rolle*: Das Welpensterben. Unser Rassenhund 1950, 150. - *Derselbe*: Die nicht ansteckenden Jungtierkrankheiten. Tierärztl. Umschau 1950, 273. - *Derselbe*: Bedeutung des Bact. coli für die Krankheitsentstehung und Gesunderhaltung. Dtsch. Tierärztl. Wschr. 1952, 81. - *Rolle und Kalich*: Zur Entstehung des Tetanus aus dem Darmkanal. Berl. u. Münch. Tierärztl. Wschr., im Druck. - *v. Roques*: Der Darm als Primärherd chronischer Infektionen. Therapie der Gegenwart 1939, 265. - *Santo*: Der Raubbau an der Flora des Menschen. Wiener med. Wschr. 1950, 31. - *Santo u. Rutch*: Das Gesetz von der Erhaltung der lebendigen Substanz. W. M. W. 1951, 706-713 und 725-734. - *Stapp u. Schröder*: Beziehungen von Avitaminosen zur Magen- und Darmflora. Klin. Wschr. 14, 133, 1945. - *Tajsen, Smith, Kon. Marichall, Philipsen, Ehdén, Bergqvist*: The nutritional role of the mikroflora in the alimentary tract proceedings of the Nutrition-Society, London 1944. - *Wincent*: La toxi-infection colibacillaire. Zbl. g. Hyg. 45, 708, 1940.

Anschrift des Verfassers:

Prof. Dr. M. Rolle, München 22, Veterinärstr. 6

TIERARZTLICHE UMSCHAU

ZEITSCHRIFT FÜR ALLE GEBIETE DER VETERINÄRMEDIZIN

Verlag: Terra-Verlag © Konstanz a. B., Postfach 222

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München
(Komm. Leiter: Prof. Dr. M. Rolle)

Über das Wesen der Immunität bei Brucellose

von

Prof. Dr. M. Rolle, München

Bei Jungtieren wie auch bei männlichen erwachsenen Tieren findet die Ansiedlung der Brucellen in den Organen nicht so leicht wie bei trächtigen Kühen statt. Kälber bis zu 12 Monaten reagieren selten auf Brucellose positiv, obwohl sie in infizierten Beständen stets die Möglichkeit haben, die Erreger aufzunehmen. Im Gegensatz zu den Jungtieren sind Erstkalbinnen für eine Infektion mit Brucellose-Erregern am empfänglichsten, woraus hervorgeht, daß die Erreger stets die beste Vermehrung im trächtigen Uterus finden. Nach dem Verwerfen verstecken sie sich in anderen Organen der infizierten Tiere, am häufigsten im Euter und in den dazugehörigen Lymphknoten.

Auch die den Jungkälbern, deren Geschlechtsorgane noch nicht entwickelt sind, künstlich eingepfunden Brucellose-Erreger werden bald aus dem Körper ausgeschieden und hinterlassen keine Widerstandskraft der Geschlechtszellen gegen eine später nachfolgende Infektion. Wenn wir dagegen Jungtiere, bei denen die Geschlechtsorgane entwickelt sind, immunisieren, dann verbleiben oft die eingepfunden Erreger längere Zeit im Körper. In diesen Fällen wird eine stärkere Immunität ausgebildet, die eingepfunden Bakterien können sich jedoch im Euter und Lymphknoten ansiedeln und eine dauernde positive Reaktion hinterlassen. Die eingepfunden toten Bakterien dagegen werden schnell aus dem Körper ausgeschieden (2-3 Monate nach der Impfung) und rufen deshalb nur kurzdauernde serologische Reaktionen hervor. Bei nichtträchtigen Tieren hinterlassen sie keine Immunität.

Um die Ansiedlung der Brucellose-Erreger zu verfolgen, habe ich 100 trächtige, positiv reagierende Kühe aus chronisch und akut verseuchten Beständen nach dem Schlachten auf Brucellose-Erreger untersucht. Bei älteren, positiv reagierenden, trächtigen Kühen, die früher verworfen, in der nachfolgenden Trächtigkeitsperiode aber normal ausgetragen haben, wurden in der Gebärmutter unter der Placenta keine Abortuserreger gefunden. Dagegen wurden sie in 70% der Fälle im Euter und in den Lymphknoten ermittelt. Bei positiv reagierenden Erstkalbinnen in chronisch verseuchten Beständen wie auch bei älteren Kühen in akut verseuchten konnte aus der Placenta fast in allen Fällen der Abortuserreger isoliert werden.

Manthei und Carter haben die Besiedlung der Organe bei künstlich infizierten Kühen mit Brucellakenen studiert. Sie haben 18 trächtige Kühe infiziert, wovon 8 verworfen. Bei 15 Tieren konnten aus dem Uterus nach der Geburt oder nach dem Verwerfen Brucellen herausgezüchtet werden. Nach erneuter Paarung wurden nur 15 Kühe trächtig, die wieder infiziert wurden. Nach der zweiten Infektion verworfen nur 4 Kühe; bei zweien davon konnten im Uterus Brucellen ermittelt werden, in allen übrigen Fällen war der Uterus frei von Brucellose-Erregern. In allen Fällen dagegen wurden die Keime aus der Milch isoliert.

Daraus ist ersichtlich, daß die Brucellose-Erreger sich in der Placenta der trächtigen Kühe nur so lange vermehren können, solange die Uteruszellen noch für eine Infektion empfänglich sind. Nach Vermehrung der Keime im Uterus überschwemmen sie den ganzen Körper und infizieren die anderen Organe. Nach dem Verwerfen oder nach der Geburt erwerben die Uteruszellen der erstinfizierten Kühe eine Immunität, die Bakterien jedoch verbleiben in den einzelnen Organen. Es liegt die Vermutung nahe, daß die Uterusgeschlechtszellen die Immunität früher erwerben als andere Körperzellen.

Auf Grund der oben gemachten Beobachtungen, daß die Uteruszellen durch lebende virulente Keime immunisiert werden, versuchten wir an trächtigen Meerschweinchen zu prüfen, ob es nicht möglich wäre, mit abgetöteten Kulturen eine Immunität der Geschlechtszellen im Uterus zu erreichen.

Es wurden 11 trächtige Meerschweinchen einmal, zweimal und dreimal nach der Paarung mit durch Hitze abgetöteten Brucellose-Erregern immunisiert. Ein virulenter Brucellastamm wurde auf Glukoseagar gezüchtet und nach 48 Stunden Aufenthalt im Brutschrank mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Die Ab-

schwemmung wurde auf die Dichte einer Bariumsulfatlösung (97 cem 1%ige Schwefelsäure + 3 cem 1%iger Bariumchloridlösung) eingestellt und im Dampftopf bei 60 Grad Celsius $\frac{1}{2}$ Stunde lang erhitzt. In dieser Zeit waren die Keime abgetötet. Etwa 15 bis 32 Tage nach der Paarung wurden die Tiere mit einem virulenten Stamm infiziert. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Ergebnisse der Immunisationsversuche bei trächtigen Meerschweinchen

Nr. des Tieres	Immunisiert nach der Paarung in Tagen	Infiziert nach der Paarung in Tagen	Geburt nach Tagen	Bemerkungen
1	15	40	61	3 Junge
2	15	40	62	2 Junge
3	15	40	63	2 Junge
4	26 und 33	44	66	2 Junge (1 leb. 1 tot)
5	29 und 36	48	69	2 Junge
6	19 und 26	44	64	2 Junge
7	19 und 26	44	66	2 Junge
8	19 und 26	44	68	1 Junges
9	19 und 26	44	65	Totgeburt
10	10, 23, 32	41	54	2 Junge
11	16, 23, 32	41	66	2 Junge
Kontrolle				
1	—	33	44	verworfen
2	—	48	66	2 lebende Junge, die 1 Std. nach d. Geburt verendeten
3	—	48	67	aufgefressen
4	—	39	51	verworfen
5	—	39	51	verworfen
6	—	39	51	verworfen
7	—	39	54	verworfen
8	—	39	55	verworfen

Die Trächtigkeitszeit wird bei Meerschweinchen mit 61—72 Tagen angegeben. Im vorliegenden Versuch lag also die Geburtszeit in normalen Grenzen. Nur im Falle 10 betrug sie 54 Tage, obwohl die Neugeborenen vollkommen entwickelt waren. Um die kurze Trächtigkeitszeit weiter zu verfolgen, wurde das Meerschweinchen wieder gedeckt. Diesmal gebar es nach 60 Tagen

ein gesundes Junges. Daraus ist zu entnehmen, daß die Trächtigkeitszeit kürzer sein kann. Bei den totgeborenen Tieren im Falle 4 und 9 der immunisierten Tiere konnten keine Brucella-Erreger ermittelt werden.

Bei den nicht immunisierten Kontrolltieren, die 33 bis 39 Tage nach der Paarung mit der gleichen virulenten Kultur infiziert wurden, konnte eine Frühgeburt nach 41—55 Trächtigkeitstagen von toten Jungen beobachtet werden. Nur bei zwei Meerschweinchen (2 und 3), bei denen die Infektion 48 Tage nach der Paarung erfolgte, dauerte die Trächtigkeit 66—67 Tage. In allen Fällen wurden bei den verworfenen Früchten im Magen wie im Uterus der Muttertiere Brucellose-Erreger ermittelt. Daraus ist ersichtlich, daß bei trächtigen Meerschweinchen Verwerfen 8—16 Tage nach der Infektion eintreten kann. Wenn die Infektion zu spät erfolgt, wie im Falle 2 und 3, können die Tiere trotz der angegangenen Infektion zur normalen Zeit austragen.

Diese Versuchsergebnisse weisen darauf hin, daß die Zellen des trächtigen Uterus auch durch totes Antigen stimuliert und immun gemacht werden können.

Um die immunogenen Eigenschaften der toten Brucellose-Erreger bei trächtigen Kühen nachzuprüfen, wurden 45 trächtige Färsen in einem mit Brucellose infizierten Bestand im ersten bis dritten Trächtigkeitmonat zweimal mit einer abgetöteten Kultur geimpft. Davon verwarfen 2 Kühe, alle anderen gebaren normale, gesunde Kälber. Aus diesem Versuch kann lediglich entnommen werden, daß die Impfung der trächtigen Tiere mit Totimpfstoff keine schädigende Wirkung gezeigt hat. Andere Schlüsse können wir auf Grund dieses Versuches nicht ziehen, da keine Kontrollen angesetzt wurden. Die zwei Abortus-Fälle sind auf eine natürliche Infektion zurückzuführen. Auch H a u s m a n n hat nach Anwendung von Adsorbat-Totimpfstoff über Erfolge zu berichten.

Aus den angeführten Beobachtungen können wir folgende Schlüsse ziehen:

1. Aus den Versuchen geht hervor, daß die Immunität gegen Brucellose von der Resistenz der Uteruszellen abhängig ist. Sie ist als zelluläre Immunität aufzufassen.
2. Die Zellen des trächtigen Uterus lassen sich früher und stärker stimulieren als die übrigen Körperzellen.
3. Diese Immunität können wir durch parenterale Einverleibung von toten wie auch von avirulenten lebenden Brucellen an trächtigen Tieren erreichen.
4. Wie aus den bisherigen Arbeiten über die Immunität gegen Brucellose ersichtlich ist, werden die toten

Keime viel schneller aus dem Körper ausgeschieden als lebende avirulente. Deshalb wurden die Totimpfstoffe zur Immunisierung der nicht trächtigen Kühe als ungeeignet abgelehnt.

5. Aus den Arbeiten von Seelmann ist ersichtlich, daß der Stamm X (19) schon sehr stark abgeschwächt worden ist. Nach der Impfung von lebender Kultur dieses Stammes steigen die auftretenden Agglutinations-titer meist nicht sehr hoch und gehen spätestens 4—5 Monate nach der Impfung zurück. Trächtige Kühe können nach Seelmann bis zum dritten Trächtigkeitmonat mit diesem Impfstoff geimpft werden. In etwa 10% der Fälle können die abgeschwächten Keime jahrelang im Körper verbleiben. Nach Rolle verschwindet der Titer nach Verimpfung von abgetöteten Kulturen nach 2—3 Monaten.

6. Wenn es nun so ist, daß die Keime in bestimmter Zeit von nichtträchtigen Tieren ausgeschieden werden und die Immunität am besten während der Trächtigkeit ausgebildet wird, dann ist die Impfung der Jungtiere auch mit lebenden avirulenten Kulturen im Alter von 5—10 Monaten, wie es empfohlen wird, nicht ganz begründet. Der Impfstoff kann nur dann voll immunisierend wirken, wenn er noch nach dem Decken eine Zeitlang im Körper verbleibt.

7. Es ist zu überlegen, ob es nicht besser wäre, die Jungtiere erst im Alter von 10—15 Monaten zu impfen, da in dieser Zeit die Geschlechtsorgane sich entwickeln und der Impfstoff bis zum Decken der Tiere im Körper verbleibt. So wird die Entstehung der Vollimmunität (Uteruskörperzellen) begünstigt. Hier besteht aber die Gefahr, daß die eingeimpften Bakterien lange Zeit im Körper verbleiben können und eine dauernde serologische Reaktion hinterlassen.

8. In stark verseuchten Beständen besteht die Gefahr, daß die Tiere im Alter von einem Jahr schon virulente Keime aufnehmen können, die ohne Widerstand von Seiten des Körpers die anderen Organe zu besiedeln vermögen. In diesen Fällen wäre es gut, die Jungtiere mit dem Stamm 19 (nicht Stamm 11) früher zu impfen und zwar im Alter von 5—8 Monaten und nach dem Decken im ersten bis dritten Trächtigkeitmonat mit einem Totimpfstoff nachzuimpfen.

9. Nach Zukauf von trächtigen nicht reagierenden Kühen in einem infizierten Bestand wäre es ratsam, diese mit Totimpfstoff zu impfen.

10. Es ist keine Veranlassung, die Impfung der Kühe kurz nach dem Verwerfen oder nach der Geburt in infizierten Beständen vorzunehmen.

Schrifttum

Demnitz: Über avirulente, durch Züchtung auf Gallenleibhöden erhaltene Abortus-Bang-Kulturen und ihre Verwendungsmöglichkeiten zur Immunisierung. Vet. med. Nachrichten, Sonderheft gewidmet dem XII. Internationalen Tierärztl. Kongress Zürich 1930, 71. / Mantel, C. A., Carter, R. W.: Virulenz of *Brucella abortus* infection in cattle. Amer. Journ. of Vet. Research, 33, 173, 1933. / Hausmann, W.: Die Entwicklung und Produktion neuer Adsorbatvaccinen. Habill.-Arbeit, München 1942. / Rolle, M.: Zusammenhang zwischen der Anwesenheit der *Bact. abortus* (Bang) im Organismus und der Agglutination. Dtsch. Tierärztl. Wchschr. 1933, 743. / Seelmann, M., Pilz, W., Meyer, A.: Zur Frage der sog. Virulenz der Blutreaktion nach der Abortus-Bang-Schutzimpfung. Kieler Milchwirtschaftl. Forschungsberichte 3, 799, 1931. / Seelmann, M., Pilz, W., Meyer, A.: Experimenteller Beitrag zur Frage der Beziehungen zwischen Virulenz und Immunisierungsvermögen, z. T. künstlich abgeschwächter Abortus-Bang-Stämme. M. pr. Tbk. 3, 360 (1931). / Thomson, A.: Experimentelle Untersuchungen über die Inkubation beim seuchenhaften Verwerfen des Kindes. Nord. Vet. Med. 1943, 797. / Thomson, W. M.: Blutuntersuchungen bei Tieren verschiedener Altersstufen. J. Amer. Vet. Med. Assoc. 1930, 117.

Nicht einzeln im Buchhandel erhältlich

Sonderabdruck aus „Monatshefte für praktische Tierheilkunde.“
Band 4, Heft 9, 1952
Schriftleiter: Min.-Rat Dr. K. Buhl, Bonn
Verlag von FERDINAND ENKE in Stuttgart

(Aus dem Tierhygien. Institut der Univ. München, Komm. Leiter: Prof. Dr. M. Rolle)

Koniferenöle als Desinfektionsmittel gegen Tuberkulose

Von Prof. Dr. M. Rolle und Dr. A. Mayr

Mit 5 Tabellen

Der weitaus häufigste Übertragungsmodus bei der tuberkulösen Infektion ist die Inhalation der Tuberkulosebakterien mit der Atmungsluft. Eine in den Rahmen der Tuberkulosebekämpfung eingebaute Desinfektion muß deshalb nicht nur die an den Gegenständen haftenden, sondern auch die in der Luft schwebenden Erreger abtöten. Das Fehlen eines in diesem Sinne wirksamen Mittels erschwert die Tuberkulosebekämpfung. Auf der Suche nach einem hierfür geeigneten Desinfektionsmittel erinnerten wir uns der Tatsache, daß Koniferenwälder bevorzugte Plätze für Tuberkuloseheilstätten sind.

1938 veröffentlichte Darzius in den Annalen des Pasteur-Institutes eine Arbeit über ein französisches Fichtenöl, in der er feststellt, daß dieses Öl in Nahrung verarbeitet oder auf die Oberfläche fester Nährböden gebracht, das Wachstum von Mikrokokken, Kollibakterien und säurefesten Stäbchen — einschließlich der Tuberkulosebakterien — hemmt. Einatmung von Fichtenöldämpfen wirkt bei tuberkulösen Meerschweinchen gegenüber den unbehandelten Kontrollen lebensverlängernd. 1938 haben wir mit Darzius einheimische Fichtenöle, die als Rückstand bei der Terpinöldestillation übrigblieben, mit dem Öl aus Frankreich verglichen und festgestellt, daß die Eigenschaften beider fast gleich waren. Der Krieg hat die Untersuchungen unterbrochen. Nach dem Kriege hat die Firma Claude Nickel in Nizza ein Präparat unter dem Namen „Phagogène“ herausgebracht, das nach dem Geruch, der Beschaffenheit und Wirkung den obenerwähnten Ölen gleich ist.

Das Phagogène haben Hauduroy, Couture, Tempé, Kochen, Wolff, Teusch auf seine bakterienabtötende Wirkung geprüft.

Couture hat getrocknetes, Tuberkulosebakterien-haltiges Sputum in Petrischalen dünn ausgestrichen, getrocknet, verrieben und 10–20 Minuten mit Phagogène bestäubt. Nach 24–48 Stunden Einwirkung hat er das Material an Meerschweinchen verimpft. Diese Meerschweinchen blieben gesund, die Kontrollen starben an Tuberkulose. Tempé hat das getrocknete, Tuberkulosebakterien-haltige Sputum in Petrischalen in einem Raum aufgestellt, den er mit Phagogène in einer Konzentration von 2,8 cem/cbm vernebelt hat. Nach 2 Stunden Einwirkung wurde das Sputum auf Löwenstein-Nährboden verimpft und Tierversuche mit Meerschweinchen angesetzt. Die Kulturen blieben steril und die Tiere erkrankten nicht. Kochen und Wolff haben beobachtet, daß das Öl die Tuberkulosebakterien im getrockneten Sputum in 2 Stunden mit Sicherheit abtötete. Sie empfehlen das Öl in Form von Aerosol zur Raumdeseinfektion.

Vor etwa 3 Jahren haben wir angefangen, verschiedene Koniferenöle aus dem In- und Ausland, die sich gut zerstäuben ließen, auf ihre bakterizide Wirkung gegenüber Tuberkulosebakterien zu untersuchen. Viele der untersuchten Öle zeigten eine gewisse antibakterielle Wirkung. Als besonders ge-

eignet für die eingangs geforderte Tuberkulosedesinfektion erwiesen sich: 1. Phagogene (Frankreich); 2. naturreines Tannenöl (Deutschland) und naturreines Fichtenöl (Deutschland). Während das Phagogene einen allgemeinen bakteriziden Effekt zeigte, waren die Tannen- und Fichtenöle spezifisch tuberkulosewirksam. Ihr Wirkungsgrad war aber geringer als der des Phagogene.

Die 3 Öle sind Gegenstand nachstehender Untersuchungen. Um Vergleiche mit schon bekannten Desinfektionsmitteln ziehen zu können, haben wir mit denselben Methoden Formalin 4proz., Therapogen 5proz. und Triäthylenglykol mitgeprüft. Die Untersuchungen erstreckten sich auf *Bact. tuberculosis* und vergleichend auf *Bact. coli* und *Micr. aureus*.

Versuch I

Die direkte Einwirkung der Öle auf Tuberkulosebakterien

In diesem Versuch wurde der Desinfektionswert der Öle im Vergleich zu Formalin 4proz., zu Therapogen 5proz. und zu den Glykolen festgestellt. Da von den Glykolen zur Befreiung der Luft von pathogenen Mikroorganismen fast nur das Triäthylenglykol (TAG.) verwendet wird, ist die Untersuchung auf diese Substanz beschränkt worden. Wir benutzten das Suspensions-Desinfektionsverfahren im Hohlschliffobjektträger, und nahmen als Keimmaterial junge, gutgewachsene Kulturen des *Bact. tuberculosis* (Typus bovinus und humanus, Petragrani-Kultur) und zum Vergleich junge Kulturen des *Bact. coli* und des *Micrococcus aureus* (Schrägagarkultur). Auf einem Hohlschliffobjektträger wird eine Öse Kultur mit 0,15 ccm der zu untersuchenden Mittel innig vermischt und zu einer homogenen Suspension verrieben. Bei den Kulturen des *Bact. tuberculosis* war eine homogene Suspension, in der alle Keime möglichst einzeln suspendiert sind, mit den Ölen viel besser zu erreichen als mit physiol. NaCl (Kontrolle) oder mit Formalin, Therapogen und TAG. Die faserförmige Struktur der wachsartigen Zwischensubstanz, die die einzelnen Tuberkulosebakterien in der Kultur zusammenkittet, steht einer idealen Homogenisierung im Wege, wie sie aber unbedingt angestrebt werden muß, um auch jeden einzelnen Keim der Wirkung der Mittel aussetzen zu können. Es scheint, daß die Öle diese Zwischensubstanz besser zu lösen vermögen. Die Bakteriensuspensionen in den Desinfektionsmitteln wie auch die Kontrollen in physiol. NaCl wurden nach einer Einwirkungszeit von 5, 15 und 30 Minuten auf hemmstofffreie Nährböden überimpft, das *Bact. tuberculosis* auf frisch bereite Petragrani-Nährböden, das *Bact. coli* auf Gaßner-Platten und *Micr. aureus* auf Agar- und Blutplatten. Die behandelten Suspensionen des *Bact. tuberculosis* wurden zusätzlich an Goldhamster und Meerschweinchen verimpft. Die übliche Methode, die behandelten Keimsuspensionen vor der Überimpfung „auszuwaschen“, um zu verhindern, daß geringe Mengen des Desinfektionsmittels auf die Nährböden mit übertragen werden, die zu einer Entwicklungshemmung der Keime führen könnten, wurde in diesem Versuch nicht verwendet, da die Koniferenöle sich mit Wasser nicht vermischen und

so mußten wir die wasserlöslichen anderen Mittel denselben Bedingungen unterwerfen.

Die Ergebnisse der kulturellen Entwicklung der behandelten Keime sind in der Tab. 1 zusammengestellt. Die Tabelle gibt die maximalen Wachstumswerte von jeweils 10 Versuchsreihen pro verwendetes Desinfektionsmittel mit jeweils 20 Überimpfungen pro Zeit und Mittel wieder.

Tabelle 1. Die direkte Einwirkung von Koniferenölen, Formalin, Therapogen und TAG. auf Bact. tuberculosis, Bact. coli und Micr. aureus
Suspensions-Desinfektions-Versuch im Hohlsliff

Verwendete Körper	Wachstum der verschieden lang behandelten Keime nach Überimpfung auf hemmstofffreie Nährböden								
	Bact. tuberculosis			Bact. coli			Micr. aureus		
	5 Min.	15 Min.	30 Min.	5 Min.	15 Min.	30 Min.	5 Min.	15 Min.	30 Min.
Phagogene	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Phagogene colloidale 5%ig	0	0	0	0	0	0	+	0	0
Tannenöl (naturrein)	+++	-	5 Kol.	++++	+++	++	++++	+++	+++
Fichtenöl (naturrein)	+++	-	3 Kol.	+++	+++	++	++++	+++	+++
Formalin 4%ig	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Therapogen 7%ig	++	-	0	0	0	0	+	0	0
TAG.	+++	++	++	+++	++	+	++	+	+
Kontrolle	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Zeichenerklärung für die Tabellen 1 und 5

++++	dichter Rasen, ungehemmte Keimvermehrung, mindestens 200 Kolonien
+++	lockerer Rasen, mindestens 50 Kolonien
++	10-50 Einzelkolonien
+	bis 10 Einzelkolonien
-	fragwürdige Kolonienbildung
0	keine Vermehrung

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß das Phagogene nach 5 Minuten Einwirkung sowohl das Wachstum der Tuberkulosebakterien, als auch das der Koli- und Mikrokokkenkeime verhindert. Dieselbe Wirkung erzielte nur noch 4proz. Formalin, 5proz. Phagogene colloidale zeigte bei Tuberkulose- und Kolibakterien totale Wachstumshemmung, während sich die Mikrokokken erst nach 15 Minuten langer Einwirkung nicht mehr vermehrten. Die Tannen- und Fichtenöle beeinflussten das Wachstum von Kolibakterien und Mikrokokken nur wenig. Das Wachstum der Keime des Bact. tuberculosis wurde nach 5 Minuten kaum unterdrückt. Nach 30 Minuten Einwirkung entwickelten sich noch einige kleine Kolonien. Das 5proz. Therapogen verhinderte nach 5 Minuten Einwirkung das Wachstum von Bact. coli, nach 15 Minuten das von Micr. aureus und das von Bact. tuberculosis erst nach 30 Minuten. Nach

30 Minuten langer Einwirkung von TAG. vermehrten sich die Tuberkulosebakterien noch gut. Die Keime des Bact. coli und Micr. aureus wurden stärker beeinflusst, obwohl sie sich auch noch nach 30 Minuten auf den Nährböden entwickelten. Die Tierversuche bestätigten bei Phagogene die Ergebnisse der Kulturversuche. Schon die 5 Minuten mit Phagogene behandelten Tuberkulosebakterien konnten im Tierkörper keine tuberkulöse Erkrankung hervorrufen, während die Kontrollen an einer ausgebreiteten Impftuberkulose starben. Beim Goldhamster verkäste in einigen Fällen nach subkutaner Einspritzung von mit Phagogene behandelten Tuberkulosebakterien das Gewebe der Injektionsstelle. Säurefeste Stäbchen wurden in der Impfstelle nachgewiesen. Eine Vermehrung dieser Keime nach Überimpfung auf Petragrani-Nährböden gelang nicht. Beim Meerschweinchen entwickelte sich oft an der Injektionsstelle ein Impfabzess, der zu Aufbrüchen neigte und in dem keine entwicklungsfähigen säurefesten Stäbchen zu finden waren. Bei den Versuchstieren wurde nach dem Töten oft eine Leberdegeneration festgestellt. Wodurch dieselbe hervorgerufen wurde, haben wir bisher nicht geklärt. Es ist schwer anzunehmen, daß die geringen Mengen von eingespritztem Phagogene diese Veränderungen hervorgerufen haben. Die Versuche zur Klärung dieser Frage sind noch nicht abgeschlossen.

Die mit den mit Tannen- und Fichtenölen vorbehandelten Tuberkulosebakterien geimpften Tiere wurden nach 6 Wochen getötet. Wie die Sektion ergab, waren auch bei Tieren, die mit 30 Minuten lang vorbehandelten Keimen infiziert waren, die Lymphknoten der Injektionsstelle stark, die Milz und vereinzelt auch die Lunge geringgradig tuberkulös verändert. Die entsprechenden Kontrollen starben an einer generalisierten Impftuberkulose schon nach 5 Wochen.

Aus diesem Versuch ist ersichtlich, daß das Phagogene die Tuberkulosebakterien nach 5 Minuten langer Einwirkung abgetötet hat. Tannen- und Fichtenöle haben zwar die Tuberkulosebakterien geschädigt, aber auch nach 30 Minuten langer Einwirkung nicht vollkommen abgetötet. Von den angewendeten Kontrolldesinfektionsmitteln tötete nur das Formalin 4proz. die Tuberkulosebakterien wie auch Micr. aureus und Bact. coli in der gleichen Zeit wie das Phagogene ab. Das Therapogen blieb in der Wirkung dem Phagogene nach und das TAG. hat nur wenig das Bact. tuberculosis beeinflusst, dagegen stärker Bact. coli und Micr. aureus.

Versuch II

Raum-Desinfektionsversuche

Um die Wirkung von vernebeltem Phagogene auf die oben erwähnten Keimarten, besonders auf Bact. tuberculosis zu prüfen, wurden Raum-Desinfektionsversuche angesetzt.

Die Aufgabe dieser Versuche war festzustellen:

1. ob in den vernebelten Räumen Keime, insbesondere Keime des Erregers der Tuberkulose, abgetötet werden und welche Raumkonzentration und Einwirkungszeiten hierzu notwendig sind.

2. ob die verschiedenen Keime gleich oder unterschiedlich beeinflusst werden.

Mit Hilfe eines Verneblers zerstäubten wir Phagogene in verschiedenen Räumen. Die Räume wurden nicht besonders abgedichtet, lediglich Türen und Fenster wurden geschlossen gehalten. Unser Vernebler zerstäubte in 1 Minute 16 ccm Phagogene. Wir arbeiteten mit Raumkonzentrationen von 1 ccm/cbm, 2,5 ccm/cbm und 3 ccm/cbm Raum. Durch den Zerstäuber wird das Öl in kleine Tröpfchen zerteilt und so vernebelt, daß es als kleinstverteiltes Aerosol im Raume schwebt. Dadurch konnte es mit allen in der Luft schwebenden Partikelchen und Tröpfchen in engste Berührung kommen. Nach einiger Zeit senkten sich diese feinsten Tröpfchen und verteilten sich als feiner Film auf alle Flächen. Gleichzeitig rissen sie die in der Luft schwebenden Eakterien und Staubeilchen mit sich. In den so vernebelten Räumen kamen in sterilen Petrischalen präparierte Objektträger an verschiedenen Stellen (Boden, Tisch, Schrank) zur Aufstellung. Der Objektträger wurde in der Weise präpariert, daß wir 2 Ösen der entsprechenden Reinkultur mittels Spatels fein auf ihm verrieben, so daß eine gleichmäßige Bakterien-schicht entstand. Kulturkörnchen (Bakterienkonglomerate), die nicht fein und dünn verrieben werden konnten, wurden von dem Ausstrich entfernt, da durch frühere Versuche feststand, daß größere Bakterienkonglomerate nicht ganz von den Ösen durchdrungen werden können. Die Art der Versuchsanordnung muß als stark erschwerte Bedingung bewertet werden, denn in der Natur finden sich nie derartig konzentrierte Bakterienanhäufungen. Die Deckel der mit den so präparierten Objektträgern beschickten Petrischalen wurden bei Versuchsbeginn abgenommen und die ausgestrichenen Bakterien dadurch der Aerosolwirkung ausgesetzt. Nach verschieden langer Einwirkungszeit wurden die beschickten Petrischalen aus den Versuchsräumen genommen, die Bakterien mit mehreren Tropfen steriler physiol. NaCl-Lösung aufgeschwemmt und auf hemmstofffreie Nährböden überimpft. Die Kontrollen wurden in gleicher Weise hergestellt und im Nebenraum gehalten. Die Tab. 2 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche auf (maximale Wachstumswerte von 5 Versuchsrainen).

Die Raumkonzentration 1 ccm/cbm beeinflusste bei 40 Minuten langer Einwirkungszeit die verschiedenen Keime unterschiedlich. Die behandelten Tuberkulosebakterien zeigten gegenüber ihren Kontrollen ein deutlich reduziertes Wachstum. Die behandelten Koli- und Mikrokokkenkeime vermehrten sich ungehemmt. Die Raumkonzentration 2,5 ccm/cbm wirkte auf alle 3 Keimarten. Die Koli-keime vermehrten sich nicht mehr. Das Wachstum des Bact. tuberculosis und Micr. aureus war gegenüber den entsprechenden Kontrollen erheblich verringert. Die auf dem Boden aufgestellten Tuberkulosebakterien entwickelten sich nicht mehr.

Die Raumkonzentration 3 ccm/cbm verhinderte nach 1 Stunde Einwirkung die Vermehrung aller Keime in allen Proben, ganz gleich, ob sie oben oder auf dem Boden aufgestellt waren. Die Tierversuche verliefen negativ.

Bei einer Konzentration von 2,5-3,0 ccm/cbm ist der Raum so sehr mit Ölparkelchen gesättigt, daß ein Mensch es kaum in ihm aushalten kann. Die

Tabelle 2. Die Aerosolwirkung von Phagogen bei verschiedenen Raumkonzentrationen auf *Bact. tuberculosis*, *Bact. coli* und *Mier. aureus*

		Raum-Objektträger-Versuch									
Raum-Konzentration	Wo aufgestellt	Zeit der Einw. Min.	Wachstum der behandelten Keime nach Überimpfen auf hemmstofffreie Nährböden								
			<i>Bact. tuberculosis</i>		<i>Bact. coli</i>		<i>Mier. aureus</i>				
		1. Wo.		2. Wo.		3. Wo.		24 Std.		48 Std.	
1 ccm pro cdm	Schrank	40	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Tisch	40	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Boden	40	-	-	-	+++	+++	+++	+++	+++	+++
	Kontr.	40	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2,5 ccm pro cdm	Schrank	90	-	-	-	0	0	-	-	-	-
	Tisch	90	-	-	-	0	0	-	-	-	-
	Boden	90	-	0	0	0	0	-	-	-	-
	Kontr.	90	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
3 ccm pro cdm	Schrank	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Tisch	60	0	0	0	0	0	3 Kol.	3 Kol.	3 Kol.	3 Kol.
	Boden	60	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	1 Min. über der Düse		0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Kontr.	60	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Schleimhäute der Augen, Nase und Bronchien werden durch die Ölpartikelchen stark gereizt.

Aus den angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß die Tuberkulosebakterien auf den Ausstrichen am sichersten dann abgetötet werden, wenn ein dünner Film des Öles auf denselben gebildet wird. Um dies durch Versuche zu bekräftigen, haben wir ähnlich angefertigte Ausstriche nur eine sehr kurze Zeit über die Düse des Zerstäubers gehalten. Nachher wurden sie mit physiol. NaCl-Lösung abgeschwemmt, auf Nährböden übertragen und an Versuchstiere verimpft. Wir stellten fest, daß die Bakterien, auch *Bact. tuberculosis*, durch diese Filmschicht abgetötet wurden.

Zur Desinfektion größerer Räume und Ställe vereinfachten wir deshalb das Verfahren und verwendeten eine einfache fahrbare Gärtnerspritze mit einer Sprühpistole, die zur Bekämpfung von Pflanzenschädlingen benutzt wird. Bei der Besprühung der Gegenstände gelangten gleichzeitig die Ölpartikelchen in die Luft und rissen bei ihrem Absinken die Staubteilchen und Bakterien mit. Diese Art der Desinfektion spart viel Öl und desinfiziert trotzdem gut. Da sie bei weitem keine so hohe Raumkonzentration von vernebeltem Öl benötigt, weil die Gegenstände direkt angesprüht werden, können bei dieser Desinfektionsart die Tiere während der Vernebelung im Raum bleiben. Man muß allerdings darauf achten, daß die Tiere und das Futter nicht angesprüht werden. Es ist ratsam, die Desinfektion abends nach der Fütterung und Entfernung der Futterreste durchzuführen. Die Einatmung geringer Mengen von

zerstäubten Ölpartikelchen ruft bei den Tieren keine erkennbaren Schädigungen in den Atmungsorganen hervor. Das Allgemeinbefinden der Tiere wird nicht gestört, die Freßlust nicht im geringsten gehemmt. Am Tage nach der Desinfektion ermolzene Milch zeigt keine Geruchs- und Geschmacksveränderungen. Wir haben bisher die Desinfektion einmal wöchentlich in Stallungen durchgeführt. Die Öle hinterließen auf Möbeln und Kleidern keine Flecken.

Die Öle besitzen eine große Anzahl flüchtiger Stoffe, welche rasch den Raum füllen und einen angenehmen Geruch verbreiten. Auch sie wirken antibakteriell und vergrößern dadurch die Raum-Desinfektionswirkung.

Versuch III

Einwirkung der flüchtigen Stoffe der Öle auf Bact. tuberculosis, Bact. coli und Micr. aureus im Petrischalenversuch

Die Wirksamkeit der flüchtigen Stoffe der Öle auf Bact. tuberculosis, Bact. coli und Micr. aureus im Vergleich zu Formalindämpfen zu prüfen war Aufgabe des folgenden Versuches. In sterilen Petrischalen wurde auf einer Glas-

Tabelle 3. Die Wirkung der flüchtigen Stoffe von Koniferenölen und vergleichend von Formalindämpfen auf Bact. tuberculosis, Bact. coli und Micr. aureus

Petrischalen-Objektträger-Versuch

Verwendete Körper	Wachstum der behandelten Keime nach Überimpfen auf hitzestofffreie Nährböden								
	Bact. tuberculosis			Bact. coli			Micr. aureus		
	10 Min.	30 Min.	60 Min.	10 Min.	30 Min.	60 Min.	10 Min.	30 Min.	60 Min.
Phagogene	+	1 Kol.	1 Kol.	0	0	0	+	+	0
Tannenöl	+++	+	3 Kol.	++++	++++	++	++++	++++	+++
Fichtenöl	+++	++	5 Kol.	++++	++++	++	++++	+++	++
Formalin 4%ig	+	+	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle	+++	+++	++++	++++	+++	++++	+++	+++	++++

brücke je ein wie im Versuch II präparierter Objektträger gebracht. Die ausgestrichene Bakterien-schicht lag dabei nach oben. Den Boden der Petrischale füllten wir mit 5 ccm der betreffenden Öle bzw. mit 5 ccm 4proz. Formalin an. Der Schalenboden wurde dadurch gleichmäßig fein bedeckt. Der präparierte Objektträger lag einen halben Zentimeter über der Öl- bzw. Formalinschicht, so daß keinerlei Kontakt mit dem Öl möglich war. Während des Versuches blieben die Petrischalen geschlossen. Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tab. 3 zusammengestellt.

Phagogene: Nach 10 Minuten entwickelten sich nur noch wenige Tuberkulosekeime. Nach 30 Minuten vermehrte sich ein einzelner Keim, nach 60 Minuten ebenfalls ein Keim, dessen Vermehrung aber stark verzögert war. Das Bact. coli konnte sich schon nach 10 Minuten langer Einwirkung nicht

mehr vermehren. Die Mikrokokken wurden fast wie die Tuberkulosebakterien beeinflusst. Nach 10 Minuten vermehrte sich noch die Hälfte der Keime, nach 30 Minuten nur noch wenige. Nach 60 Minuten konnte kein Wachstum mehr beobachtet werden.

Tannen- und Fichtenöle: Auch die flüchtigen Stoffe der Tannen- und Fichtenöle wirkten auf das Tuberkulosebakterium stark ein. Nach 60 Minuten langer Einwirkung vermehrten sich nur noch 3—5 Keime. Das Bact. coli und Mier. aureus wurden nach 60 Minuten nur gering beeinflusst.

Formalin: Nach 10 Minuten langer Einwirkung entwickelten sich keine Kolonien von Bact. coli und Mier. aureus, nach 60 Minuten keine von Bact. tuberculosis mehr.

In dieser Tabelle sind die maximalen Wachstumswerte von 5 Versuchsreihen angegeben.

Versuch IV

Einwirkung der flüchtigen Stoffe der Öle auf Bact. tuberculosis, Bact. coli und Mier. aureus im Zylinder-Objektträger-Versuch

Um zu prüfen, ob die flüchtigen Phagogenstoffe auch in weiterer Entfernung vom Öl wirken, setzten wir Zylinder-Objektträger-Versuche an. Diese Versuche ähnelten dem vorigen Versuch. An Stelle von Petrischalen wurden

Tabelle 4. Die Wirkung der flüchtigen Stoffe von Koniferenölen und vergleichend von Formalindämpfen auf Bact. tuberculosis, Bact. coli und Mier. aureus
Zylinder-Objektträger-Versuch

Verwendete Körper	Wachstum der behandelten Keime nach Überimpfen auf hemmstofffreie Nährböden								
	Bact. tuberculosis			Bact. coli			Mier. aureus		
	10 Min.	30 Min.	60 Min.	10 Min.	30 Min.	60 Min.	10 Min.	30 Min.	60 Min.
Phagogen:	-	-	3 Kol.	0	0	0	-	-	-
Tannenöl
Fichtenöl
Formalin 4%ig	-	-	0	0	0	0	0	0	0
Kontrolle

Zylinder benutzt, die den gleichen Durchmesser wie die Petrischalen hatten. Den Boden der Zylinder füllten wir mit 5 ccm der Öle an. In einer Entfernung von 30 cm brachten wir dann die präparierten Objektträger mit den Kulturausstrichen des Bact. tuberculosis, Bact. coli und Mier. aureus an. Bei Versuchsbeginn wurden die Zylinder dicht abgeschlossen. Die Kontrollen unterlagen den gleichen Bedingungen. Ihre Zylinder enthielten sterile physiologische Kochsalzlösungen. Die Ergebnisse der Versuche sind in der Tab. 4 zusammengefaßt.

Auch dieser Versuch zeigte, daß die flüchtigen Stoffe die Tuberkulosebakterien nach 60 Minuten größtenteils abgetötet haben. Es scheint, daß die ab-

tötende Kraft der flüchtigen Stoffe nicht von der Entfernung vom Öl, sondern von ihrer Konzentration im Raum abhängig ist. Die Formalindämpfe wirkten wie im Petrischalenversuch gleich bakterizid.

Versuch V

Imprägnationsversuche

Um die Wirkung der flüchtigen Stoffe weiter zu studieren, setzten wir folgenden Versuch an: Die Stöpsel von Röhren, die frisch bereitete Petragani-Nährböden enthielten, wurden mit den Ölen bzw. mit 4proz. Formalin

Table 5. Das Wachstum von Bact. tuberculosis, Bact. coli und Micr. aureus auf Nährböden, die verschiedene Zeiten der Wirkung der flüchtigen Stoffe von Koniferenölen u. 4 Formalin 4%ig ausgesetzt waren

Verwendete Mittel	Zeit der Einw.	Wachstum der frisch überimpften Keime auf den präparierten Nährböden							
		Bact. tuberculosis			Bact. coli		Micr. aureus		
		1. Wo.	2. Wo.	3. Wo.	24 Std.	48 Std.	24 Std.	48 Std.	
Phagogene	1	+	+	+	+++	+++	+++	+++	
	2	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
	24	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
	48	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
Tannenöl	1	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
	2	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
	24	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
	48	0	0	0	+++	+++	+++	+++	
Fichtenöl	1	2 Kol.	2 Kol.	-	+++	+++	0	+++	
	2	+	+	-	+++	+++	0	+++	
	24	0	0	0	+++	+++	+	+++	
	48	0	0	0	+++	+++	-	+++	
Formalin 4%ig	1	-	-	-	-	-	-	-	
	2	0	0	0	0	0	0	-	
	24	0	0	0	0	0	0	0	
	48	0	0	0	0	0	0	0	
Kontrolle		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	

getränkt und 1, 2, 24, 48 Stunden geschlossen gehalten. Schrägagar wurde in gleicher Weise behandelt. Wir achteten darauf, daß die befeuchteten Stöpsel nicht mit dem Nährboden in Berührung kamen. Als Kontrollen dienten Kulturröhren ohne imprägnierte Stöpsel. Nach 1, 2, 24, 48 Stunden wurden die so behandelten Nährböden mit frisch in physiol. NaCl-Lösung aufgeschwemmten Keimen junger Kulturen der 3 Keimarten überimpft, mit nicht vorbehandelten Stöpseln verschlossen und wie üblich bebrütet.

Die Ergebnisse dieses Versuches sind in der Tab. 5 zusammengefaßt.

Die Tuberkulosebakterien konnten sich auf den mit den flüchtigen Stoffen der Öle präparierten Nährböden kaum vermehren. Auf den kurzdauernd imprägnierten Nährböden (nach 1--12 Stunden Einwirkungszeit) täuschten die frisch überimpften Keime in der 1. Woche eine geringe Vermehrung vor (kleinste Kolonienbildung). Bei Ablesung nach 3 Wochen konnte aber nur in einzelnen Fällen eine geringgradige Vermehrung festgestellt werden. Auf den länger imprägnierten Nährböden (24--48 Stunden) vermehrten sich die Tuberkulosebakterien nicht. Das Bact. coli und Micr. aureus vermehrten sich ungehemmt auf den mit Ölen imprägnierten Nährböden.

Auf den mit Formalin imprägnierten Nährböden vermehrten sich das Bact. coli und Micr. aureus bei schwacher Imprägnation nur vereinzelt und bei starker Imprägnation nicht mehr. Das Wachstum der Tuberkulosebakterien wurde auf den 1 Stunde lang mit Formalin imprägnierten Nährböden zur Hälfte, auf den 2 Stunden und mehr mit Formalin behandelten Nährböden vollständig verhindert.

Toxizität der Öle

Die Toxizität der untersuchten Koniferenöle ist einander annähernd gleich. Intrakutan verabreicht ruft 0,1 cem Öl in der rasierten Kaninchenhaut an der Injektionsstelle zirkumskripte Gewebnekrosen hervor. Bei subkutaner Applikation von 1,0 cem Öl entstehen beim Kaninchen und Meerschweinchen an der Injektionsstelle schmerzhaft Schwellungen. Abszesse werden auch nach wiederholter Injektion nur selten beobachtet. Werden dagegen mit dem Öl abgetötete Tuberkulosebakterien eingespritzt, so entstehen nach Applikation von wesentlich geringeren Ölmengen schon Abszesse, die zu Aufbrüchen neigen. Diese unterschiedliche Wirkung ist Gegenstand weiterer Untersuchungen. Einmalige intravenöse Injektion von 1,0 cem Öl wird von 3--4 kg schweren Kaninchen reaktionslos vertragen. Bei einmaliger Einbringung von 5--8 cem Öl, je nach Größe der Tiere, tritt in wenigen Minuten unter den Symptomen einer Atemlähmung der Tod ein. Bei kutaner Applikation entstehen auf der rasierten Kaninchenhaut fleckige Rötungen, auf der Haut von größeren Tieren und beim Menschen zeigt sich keine Reaktion.

Die beim Vernebeln entstehenden Öltröpfchen reizen die Schleimhäute und rufen Husten hervor. Lungenentzündungen konnten bei Meerschweinchen, die täglich 1 Stunde lang das vernebelte Öl einatmeten, nicht beobachtet werden. Bei vielen Tieren, die lange dieser Behandlung ausgesetzt waren, traten jedoch Leberschädigungen auf. Bei Großtieren, die einmal in der Woche dicht vernebeltes Öl einatmen mußten, konnten keine Schäden festgestellt werden. Per os aufgenommenes Öl ruft Darmentzündungen hervor. Mit dem Öl bestäubtes Futter wirkt ähnlich.

Eine schädigende Wirkung der flüchtigen Bestandteile der Öle wurde bis jetzt nicht ermittelt. Kleine Versuchstiere, die monatelang auf Drahtgittern über den Ölen gehalten wurden, erkrankten nicht. Auch die Großtiere, in deren Stallungen die Desinfektionsversuche liefen, zeigten keinerlei Schädigung. Ihr Allgemeinbefinden wurde nicht gestört, die Fresslust nicht verringert. Zahlreiche Selbstversuche, bei denen wir uns 10--30 Minuten in stark vernebelten Räumen aufhielten, zeigten, daß eine schädigende Wirkung der Öle

nur dann auftritt, wenn Öltröpfchen direkt in großen Mengen eingeatmet werden. Sie reizen vor allem die Schleimhäute der Augen, Nase und Bronchien und rufen Husten hervor. Wird durch Vorhalten eines Taschentuches das Einatmen der Öltröpfchen verhindert oder werden nur geringe Mengen eingeatmet, so tritt keine erkennbare Schädigung auf.

Besprechung der Ergebnisse

Ein Hinweis auf eine wirksame Desinfektion zur laufenden Entseuchung von Tuberkulosebakterien und damit zur Ausschaltung der immer in mit Tuberkulose verseuchten Ställen gegebenen Infektionsquellen liegt in der einschlägigen Literatur kaum vor. Bisher fehlte ein für Mensch und Tier bei der Desinfektion unschädliches Präparat, mit dem in der Praxis, besonders in bäuerlichen Betrieben, eine Desinfektion gegen Tuberkulose durchzuführen ist, durch die nicht nur in einem Arbeitsgang die am Boden und an den Gegenständen haftenden, sondern darüber hinaus auch die in der Luft schwebenden Bakterien abgetötet werden können. Nur eine in dieser zweifachen Richtung wirkende Desinfektion kann bei der Art der tuberkulösen Infektion als laufende Desinfektion und vor allem als Prophylaktikum bei der tuberkulosefreien Aufzucht befriedigen.

Unsere experimentellen und praktischen Desinfektionsversuche zeigen, daß durch die geprüften Koniferenöle — die deutschen Öle müssen in dieser Richtung noch verbessert werden — die Tuberkulosebakterien nach verhältnismäßig kurzer Zeit abgetötet werden. Da die Öle darüber hinaus auch durch die bei der Zerstäubung freiwerdenden flüchtigen Stoffe antibakteriell wirken, haben wir in ihnen ein wirksames, einfach anwendbares, gut geeignetes Desinfektionsmittel gegen die Tuberkulose. Wie die Toxizitätsversuche zeigen, ist das Öl, wenn es in größeren Mengen eingeatmet oder per os aufgenommen wird, für Mensch und Tier schädlich. Eine Schädigung nur durch Einatmung der flüchtigen Stoffe wurde nicht beobachtet. Es ist bei der Desinfektion deshalb besonders darauf zu achten, daß das Futter bzw. die Nahrungsmittel nicht mit dem Öl bestäubt werden. Da zur Durchführung der Raundesinfektion das einfachere und handlichere Sprüh-Desinfektionsverfahren genügt, können sich Tier und Mensch während der Desinfektion in den Räumen aufhalten. Die bei dieser Desinfektion im Raum schwebenden Mengen von Öltröpfchen schädigen beim Einatmen Mensch und Tier nicht und säubern trotzdem die Luft. Eine etwa hervorgerufene Reizung der Schleimhäute beim Menschen kann vermieden werden, wenn durch ein Taschentuch eingeatmet wird.

Zusammenfassung

1. Die untersuchten Koniferenöle sind zur Desinfektion gegen die Tuberkulose geeignet.
2. Der Desinfektionswert der Öle wird durch die antibakterielle Wirkung der flüchtigen Stoffe der Öle gesteigert.
3. Die flüchtigen Stoffe der Öle rufen bei Mensch und Tier keine Schädigung hervor.

Schrifttum

Colero, *Oeconomia ruralis et domestica*. (Verlag Nicolaus Heyl, Mainz 1645.) — Darzens, Recherches sur l'action de l'huile de pin et de l'huile de chaulmoogra sur les bacilles acido-résistants et sur la tuberculose expérimentale du cobaye. (*Ann. Inst. Pasteur* 1938, Bd. 61, S. 172.) — Ludwig, Bakterienbekämpfung durch Bakterienreste aus Brauereien und anderen Abfallstoffen auch bei Krebskrankheit. 1926. — Mees, Phagogene H.N.C.-Aerosol in der Behandlung des Keuchlustens. (*Saarländisches Ärzteblatt* 1951, Nr. 3.) — Rolle u. Hausmann, Über ein neues Tuberkelbakterien abtötendes Mittel. (*Arb. d. Tierhyg. Inst. d. Univ. München*) (*Münchn. med. Wschr.* 1951, Bd. 93, Nr. 22.) — Wolff, Desinfizierende und therapeutische Aerosole. (*Saarländisches Ärzteblatt* 1951, Nr. 3.) — Wolff u. Teusch, Über die Beseitigung einer Bact.-ent.-Gärtner-Stallinfektion durch ein Aerosol und die daraus zu ziehenden Folgerungen hinsichtlich evtl. künftiger Therapie. (*Dtsch. med. Wschr.*, Juni 1950.)

Anschr. d. Verf.: (13b) München 8, Zaubenstr. 1

Sonderdruck

aus „Deutsche Tierärztliche Wochenschrift“, 59. Jahrgang, 15. März 1952, Heft Nr. 11/12, Seiten 81 - 85
Verlag M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20 · Druck: Gebr. Gerstenberg, Hildesheim

Die Bedeutung des *Bact. coli* für die Krankheitsentstehung und Gesunderhaltung*)

Von M. Rolle

Aus dem Tierhygienischen Institut der Universität München — Kom. Leiter: Prof. Dr. M. Rolle

I. *Bact. coli* als normaler Darmsymbiont

Die Forschungen der Zoologen der Münchener Schule (Buchner, Koch) haben bewiesen, daß viele Insekten Nester von Bakterien im Körper beherbergen, die zur Erhaltung ihrer Lebensfunktionen unbedingt nötig sind. Werden diese Bakterien-Nester künstlich entfernt, so gehen die Tiere in absehbarer Zeit zugrunde oder werden kümmerlich. Diese Bakterien werden als Symbionten des Körpers aufgefaßt; ihre Bedeutung ist noch nicht vollkommen geklärt. Bis heute ist schon bekannt, daß sie einige für den Insektenkörper notwendige Vitamine und Wachstumsstoffe produzieren. Mit anderen Worten: diese Bakterien-Nester funktionieren als ein Organ.

Bei Pflanzen sind die Stickstoffbildner bereits seit langem als Symbionten erkannt. Auch bei diesen funktionieren die Bakterien-Nester-Knollen als Organ.

Die Symbiose der Mikroben mit dem Körper der Menschen und Tiere ist bisher noch wenig erforscht. Mikroben wurden gewöhnlich als unerwünschte Eindringlinge in den Körper betrachtet, die durch Produktion unbekannter Gifte diesen lediglich schädigen.

Das *Bact. coli* kommt bei gesunden Menschen und Tieren stets im Kolon und Rektum vor. R. Müller sagt: „Außerhalb des Kolons sind die Kolibakterien nicht am Platze.“ Wenn die Natur das *Bact. coli* im Dickdarm eingepflanzt hat, dann ist dies nicht nur ein Zufall ohne jegliche Bedeutung!

In welcher Weise diese Bakterien dem Körper nützlich sind, wissen wir heute noch sehr wenig. Wir wissen nur, daß das *Bact. coli* im Körper wichtige Stoffe synthetisiert, wie z. B. K-Vitamin und vielleicht noch andere Vitamine, verschiedene Aminosäuren und Wachstumsstoffe. Zweitens ist uns das *Bact. coli* auch als Vital-Antibiotikum gegen andere Krankheitserreger und Fäulniskeime, z. B. die Tuberkulosebakterien, bekannt. Drittens wissen wir, daß das *Bact. coli* durch Fermentssysteme verschiedene organische Stoffe abbaut.

Wir wissen auch, daß wir stets verschiedene Krankheitserscheinungen beobachten, wenn das *Bact. coli* aus dem Dickdarm verschwindet oder künstlich vertrieben wird. Solche Krankheitserscheinungen treten auch dann auf, wenn es in seiner Form und in seinen biologischen Funktionen gestört wird, was gewöhnlich als „Entartung“ des *Bact. coli* bezeichnet wird. Die Systematiker beschreiben diese entarteten Formen als besondere Arten, wie *Bact. paracoli*, *Dyspepsie Coli*, *Bact. communior* usw. Diese Bakterien werden oft nach dem Ort, aus dem sie isoliert wurden, benannt, z. B. wenn sie aus der Milch isoliert werden — *Bact. neidi lactici*, aus der Lunge — *Bact. pneumoniae* Friedländer (dieses wird

auch als *Klebsiella pneumoniae* geführt). Werden solche Bakterien auf gewöhnlichen Nährböden gezüchtet, so gewinnen sie alle nach einer gewissen Anzahl von Passagen die Eigenschaften des normalen *Bact. coli*.

Die entarteten bzw. erkrankten Koli-Keime sind nicht mehr in der Lage, die vom Körper benötigten biologischen Stoffe zu synthetisieren und der Ausfall ihrer antibiotischen Eigenschaften gegenüber anderen Krankheitserregern führt zur Erkrankung des Körpers.

Wenn das *Bact. coli* krank wird, kann es den Dickdarm verlassen und in andere Darmabschnitte, sogar in andere Organe, einwandern. Bei gesunden Menschen und Tieren kommt das *Bact. coli* jedoch nie im Duodenum und in der Gallenblase vor; nur bei Erkrankungen finden wir es dort. Bisher wurde angenommen, daß die Kolibakterien als Folge von Erkrankungen mit anderer Ursache vom Kolon aufwärts wandern und sogar in andere Organe hineingelangen. Es läßt sich aber experimentell feststellen, daß diese Aufwärtswanderung gewöhnlich als Folge der Schädigung des *Bact. coli* im Dickdarm auftritt. Die Koli-Keime werden in solchen Fällen, wenn sie den Symbiosort verlassen, bösartig und können dem Körper schädlich werden.

Daraus geht hervor, daß für die normale Funktion des Körpers synthese-fähige Koli-Keime im Dickdarm vorhanden sein müssen.

Der lebende Dickdarminhalt mit dem Symbionten *Bact. coli* ist als ein Organ mit Organfunktionen aufzufassen. Eine Erkrankung dieses Organs zieht die Erkrankung anderer Organe mit sich.

Bei bestimmter Ernährung müssen im Dickdarm neben *Bact. coli* auch andere abbauende Keime vorhanden sein, so z. B. bei Säuglingen das *Bact. bifidum* (auch *Thermobacterium* oder *Lactobacillus bifidus* genannt) als Milchsäurebildner.

Bei Kaltblütern und Insekten kommt als Symbiont im Darmkanal das *Bact. aerogenes* vor. Dieses Bakterium ist ein starker Antagonist des *Bact. coli*. Wenn das *Bact. coli* z. B. von einem Kaltblüter aufgenommen wird, so geht es durch die antagonistische Wirkung des *Bact. aerogenes* zugrunde. Untersuchen wir den Darmkanal der Stallfliege, die stets Gelegenheit hat *Bact. coli* aufzunehmen, so finden wir in ihrem Darmkanal kein *Bact. coli*. Diese antagonistische Wirkung des *Bact. aerogenes* dem *Bact. coli* gegenüber können wir auch *in vitro* beobachten.

*) Nach einem Vortrag in der Münchener Tierärztlichen Gesellschaft.

II. Morphologische und kulturelle Eigenschaften des entarteten *Bact. coli*

Kollikeime aus erkranktem Darminhalt sehen oft kleiner und gequollen aus; sie färben sich nicht gleichmäßig an und enthalten oft endständig un-färbte Vakuolen. Manchmal wiederum bilden sie lange, dicke Fäden. Auf Agar, wie auch auf Gassnerplatten, wachsen sie als gefaltete Kolonien mit gelapptem Rand (sogenannte R-Form-Fadenbildner). Auf Gassnerplatten können die Farbumschläge verschieden sein, grünlich bis gelbgrünlich. Auf Agarplatten sind die Kolonien undurchsichtiger. Ein andermal bilden sie Kolonien mit undurchsichtigem Zentrum und hellerem Rand. Die Stäbchen aus solchen Kolonien sehen dann oft leicht bekapselt aus.

III. Ursachen für die Entartung des *Bact. coli*

Für die Schädigung des *Bact. coli* in seinen Lebensfunktionen kommen verschiedene Ursachen in Betracht:

1. Futter

Ungeeignetes oder ungewohntes Futter kann schädigend auf das *Bact. coli* einwirken. Genannt seien hier Rübenblätter, verdorbene Silage oder manchmal auch äußerlich normales Futter, aber von ungeeigneter, uns noch unbekannter Zusammensetzung.

2. Futterumstellung

Nach krasser Futterumstellung beobachten wir stets eine gewisse Störung im Darm. So erkrankten die Tiere oft bei Übergang von Trocken- zu Grünfutter, ebenso beim Wechsel von mageren auf fette Weiden, von Milchfütterung auf feste Nahrung. Sehr oft auch beim Übergang von einem gewohnten zu einem anderen, zwar auch qualitativ guten, aber ungewohnten Futter.

Besonders anfällig für solche Futterumstellungen sind die Jungtiere. Jungtierkrankheiten treten gewöhnlich zur Zeit der Futterumstellung auf:

- kurz nach der Geburt, bei Aufnahme der ersten Milch; u. zw. dann, wenn die Milch ungeeignet ist oder wenn die Jungtiere gleichzeitig mit der Milch von der Mutter nicht genügend Kollikeime aufnehmen, sondern statt dessen Koli-antagonisten. Hier ist in erster Linie das *Bact. aerogenes* zu erwähnen, dessen Entwicklung der in der Milch vorkommende Milchzucker besonders begünstigt.
- drei bis vier Wochen nach der Geburt, wenn die Tiere beginnen, selbständig Nahrung aufzunehmen.
- nach dem Absetzen.

Bei erwachsenen Menschen und Tieren können Krankheitserscheinungen jederzeit nach krasser Änderung der Nahrung auftreten, sehr oft bei Umstellung von schlechter auf gute Nahrung, z. B. Kolimetritis in den ersten Tagen des Weideganges, Kolimetritis bei Hündinnen nach der Geburt. Auch bei Menschen treten gewöhnlich verschiedene Krankheiten nach den Kriegen auf, wenn die Ernährung sich bessert. Es ist allgemein bekannt, daß Menschen tödlich erkranken, wenn sie nach einer Hungerperiode plötzlich reichlich gute Nahrung aufnehmen. Die schädliche Wirkung der Futterumstellung kann bei Wildtieren, die in Gefangenschaft kommen, in den Tiergärten stets beobachtet werden. Die Tiere erkranken vor allem an Magen-Darmstörungen.

In fast allen diesen Fällen können wir eine Entartung oder ein völliges Verschwinden des *Bact. coli* im Dickdarm feststellen. Es vergeht eine gewisse Zeit, bis das *Bact. coli* sich an die neue Nahrung anpaßt. Falls diese Anpassung längere Zeit erfordert, treten verschiedene Krankheitssymptome auf.

3. Antagonisten

Wenn Kohantagonisten in den Darmkanal gelangen und ein geschädigtes *Bact. coli* vorfinden oder wenn die Entwicklung der Antagonisten durch besondere Stoffe begünstigt wird, vermehren sich diese und hemmen die Entwicklung des *Bact. coli* oder vertreiben es völlig.

Als Koli-Antagonisten sind bisher erkannt worden: *Bact. aerogenes*, verschiedene Mikro- und Streptokokken und vielleicht auch einige Schimmelpilz- und Hefarten.

Solange das *Bact. coli* noch ungeschädigt kräftig und lebensfähig ist, läßt es die anderen Bakterien nicht in den Darmkanal ein. Das *Bact. coli* wirkt auch einerseits antagonistisch auf Krankheitserreger, wie z. B. auf Tuberkulosekeime. Ein gesundes *Bact. coli* schützt den Körper vor Krankheitsregern.

4. Parasiten

Einige Parasitenarten schädigen durch uns noch nicht genau bekannte Stoffe das *Bact. coli* sehr erheblich. Wenn ein Tier Leberegel in den Lebergallengängen beherbergt, tritt eine starke Entartung des *Bact. coli* im Dickdarm auf, aus dem es oft sogar vollkommen verschwindet. Restliche Koli-Bakterien finden wir dann im Duodenum und oft in der Gallenblase. Statt *Bact. coli* vermehren sich nun im Dickdarm die oben erwähnten Antagonisten. Es wird oft vermutet, daß die Wandformen der Leberegel die Bakterien in die Leber einschleppen, die dann später in Galle und Duodenum gelangen. Bakteriologisch kann jedoch beim Leberegel kein Bakterium festgestellt werden.

5. Verschiedene Arzneimittel und andere Stoffe

Sulfonamide wie auch einige Antibiotika schädigen nach gewisser Einwirkungszeit das *Bact. coli*. Dadurch werden uns die nach der Behandlung mit diesen Mitteln auftretenden Nachkrankheiten verständlich. Mit diesen ausgezeichneten Therapeutika bekämpfen wir die eigentlichen Krankheitserreger, aber durch Schädigung des *Bact. coli* begünstigen wir oft die Entstehung anderer Krankheiten.

Abälische Schädigungen des *Bact. coli* beobachten wir bei Menschen nach stärkerem Alkoholgenuß.

6. Bakteriophagen

Auch die Bakteriophagen können das gesunde Koli-bakterium so stark schädigen, daß dieses toxisch wird. Die bisherige Auffassung, *Bact. coli*-Bakteriophagen für therapeutische Zwecke zu verwenden, führt gewöhnlich zur Entartung der Koli-bakterien im Dickdarm und zu einer Koli-Intoxikation sowie der Koli-Septikämie, was gleichzeitig eine Verschlechterung der schon vorhandenen Krankheiten mit sich bringt.

7. Hormone

Es ist durchaus möglich, daß auch Hormone *Bact. coli* schädigen können.

IV. Künstlich mit *Bact. coli* hervorgerufene Erkrankungen

Um die natürlichen Erkrankungen besser zu verstehen, muß zuerst experimentell eine Erklärung angestrebt werden. Mit gesunden, normalen Kolkulturen können wir keine Erkrankungen hervorrufen, ganz gleich wie wir sie verabreichen. Sogar bei Verimpfungen der Fizes von gesunden Menschen oder Tieren an Versuchstiere erkranken diese gewöhnlich nicht. Verimpfen wir aber Kotaufschwemmungen von Menschen oder Tieren, bei denen das *Bact. coli* stark entartet ist, so kommt es zur Entartung der Koli-bakterien im Dickdarm und zu einer Koli-septikämie. Das gleiche beobachten wir, wenn wir entartete Koli-Kulturen an Versuchstiere verabreichen.

In diesen Fällen wurde bisher gewöhnlich von pathogenen Koli-bakterien gesprochen. Wenn wir die entarteten, toxischen Koli-keime durch weitere Passagen zur normalen Form zurückführen, verlieren sie auch gleichzeitig die toxischen Eigenschaften.

Besonders interessant ist festzustellen, daß die Toxizität der Koli-Keime auch nach bestimmter Abtötung beibehalten wird. Wenn wir gesunde, normale Koli-bakterien künstlich behandeln, bis die Entartungsformen auftreten, dann können wir damit Tiere tödlich infizieren. Am besten gelingt dies durch Behandlung einer Koliabschwemmung mit destilliertem Wasser, welches die Zelle durch Plasmolyse schädigt. Die Bakterienzelle wird dicker und vakuolisiert und stirbt nach einer gewissen Zeit ab. Das Absterben kann durch Zusatz von 0,2% Karbolsäure beschleunigt werden. Durch Verimpfen des abzentrifugierten Bodensatzes, der in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen wird, an Versuchstiere können wir eine Koli-septikämie hervorrufen. Das gleiche erfolgt, wenn wir diese geschädigten und ab-

getöteten Kollikeime verfüttern. Daraus geht hervor, daß in der Zelle eine toxische Substanz (oder Substanzen) entstanden ist, die dann schädiger wirkt. Diese toxische Substanz von der Zelle zu trennen bzw. in löslicher Form zu gewinnen, gelingt nur bei sehr wenigen Kollistämmen.

Nach Verabreichung von abgetöteten, zuerst geschädigten Kollikeimen treten lebende Kollibakterien im Blut auf, wie bei den kranken Tieren ermittelt werden konnte. Bei einigen Tieren verschwand das *Bact. coli* aus dem Blut und diese genesen wieder. Warum nach Einspritzung von toten geschädigten Keimen lebende im Blut erscheinen, muß noch durch weitere Experimente geklärt werden. Die Schädigung der Darmschleimhaut allein erklärt diese Erscheinung nicht. Bei toten Tieren finden wir eine Entzündung im Dünndarm, in dem normalerweise keine Kollikeime vorhanden sind; die Dickdarmschleimhaut ist gewöhnlich unverändert. Auch die Aggressivtheorie nach Ball stimmt mit dieser Erscheinung nicht überein.

Wenn im Darmkanal andere pathogene Bakterien vorhanden sind, in dieser Zeit lebende, toxische oder tote Kollikeime einverleibt werden, dann wandern außer der Kollibakterien auch die anderen Bakterien mit ins Blut, so daß neben der Kolliseptikämie auch andere Septikämien bzw. Krankheiten entstehen. Wenn wir z. B. an gesunde Tiere, die gesunde, funktionsfähige Kollibakterien im Darmkanal beherbergen, Tuberkelbakterien, Rotlaufkeime, Paratyphuskeime oder Tetanusbazillen verfüttern, so gehen diese Keime normalerweise im Darmkanal zugrunde oder werden ohne jegliche Erkrankung des Körpers ausgeschieden. Verabreichen wir dagegen in der Zeit, in der die verfütterten Keime noch im Darmkanal vorhanden sind, toxische — auch tote — Kollikeime, so sterben die Tiere und wir stellen in den Organen und im Blut neben Kollikeimen auch die verfütterten Erreger fest. Die gesammelten Beobachtungen sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefaßt:

Tabelle 1

Übersicht über die Einwanderung der spezifischen Krankheitserreger aus dem Darmkanal in den Körper nach Verabreichung von toxischen Kollikeimen

1. Verfüttert Tbc-Keime	Verimpft Kollitoxin	Koll.-u. Tbc-Bakteriämie o. B.
Verfüttert Tbc-Keime	ohne Kollitoxin	o. B.
2. Verfüttert Rotlaufbakterien	Verimpft Kollitoxin	Koll.-u. Rotlaufseptikämie o. B.
Verfüttert Rotlaufbakt.	ohne Kollitoxin	o. B.
3. Verfüttert Paratyphuskeime	Verimpft Kollitoxin	Koll.-u. Paratyphus-septikämie o. B.
Verfüttert Paratyphusk.	ohne Kollitoxin	o. B.
4. Verfüttert Tetanusbazillen	Verimpft Kollitoxin	Tetanus- und Kolliseptikämie o. B.
Verfüttert Tetanusbaz.	ohne Kollitoxin	o. B.

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß fast in allen Fällen die im Darmkanal vorhandenen Tuberkelbakterien, Tetanusbazillen oder andere pathogene Erreger in Organen auftreten, wenn geschädigtes Koli verabreicht wird, ganz gleich ob subkutan oder per os. Bei Kontrollen dagegen werden die verfütterten Keime bald ohne jegliche Einwirkung aus dem Darmkanal ausgeschieden.

Nach diesen Versuchen können wir die Fütterungstuberkulose, besonders bei Lebererkrankungen (in Fällen wenn Tiere aus mit Tuberkulose verseuchten Beständen auf eine Lebererkrankung kommen), wo die Tiere stets im Duodenum toxische Kollibakterien beherbergen, erklären. Ebenfalls viele Fälle von spontanem Tetanus (ohne sichtbare Verletzungen) können wir dadurch verstehen. Auch die manchmal sehr kurze Inkubationszeit bei Tetanus findet durch diese Versuche eine Erklärung. Es scheint, daß einzelne sekundäre Paratyphusfälle oder das Auftreten verschiedener anderer apathogener Mikroorganismen im Körper ebenfalls durch diese Versuche erklärt werden können. So kann auch der Brandst, der oft auf Lebererkrankungen auftritt, als Folge der Entartung und des Toxischwerdens der Kollikeime verstanden werden. Die schon bestehenden Krankheiten

können durch geschädigte Kollibakterien verschlechtert werden.

Es ist nicht ausgeschlossen, daß die von einigen Forschern vermuteten enterotropen Viren nichts anderes sind als die erwähnten schädigenden Substanzen der Kollikeime. Diese Vermutung stützt eine gewisse Stütze in der Tatsache, daß wir bei einigen Kollistämmen filterbare Substanzen gewinnen können, mit denen es gelingt, ähnliche Erscheinungen hervorzurufen wie mit den oben erwähnten geschädigten und abgetöteten Kollibakterien. Das gleiche beobachten wir, wenn die Tiere mit einem Filtrat aus Duodenalininhalt geimpft werden, aus Fäulen, bei denen Kollibakterien ins Duodenum angewandert sind und die erwähnten löslichen Substanzen gebildet haben.

V. Krankheitssymptome

Bei Jungtieren im Säug- und Absetzalter beobachten wir gewöhnlich Durchfall, manchmal mit, manchmal ohne Fieber. Tiere, welche die Krankheit überleben, bleiben oft kümmerlich. Auffallend ist, daß die erkrankten Tiere gern Jauche, Kot oder Erde zu sich nehmen. Manchmal zeigen die Tiere auch nervöse Erscheinungen. Bei erwachsenen Tieren tritt Durchfall nur in ausgeprägten Fällen auf, nicht selten von Fieber begleitet. Nach dem Durchfall erkranken oft andere Organe, so bei Hündinnen nach der Geburt die Gebärmutter, bei Kühen das Euter, insbesondere wenn es durch Erkältungen oder mechanische Quetschungen geschädigt wird; oft auch nach Futterumstellung. Im Fieberzustand können wir oft *Bact. coli* und andere Bakterien im Blut feststellen, die mit dem *Bact. coli* dahin einwandern und verschiedene klinische Symptome hervorrufen. Im Duodenum vorhandene toxische Kollibakterien können auch den Körper ohne Septikämie dauernd durch Toxine vergiften.

An uns selbst beobachten wir nach Verschwinden des *Bact. coli* aus dem Dickdarm oder nach seiner Entartung stets gewisse Gesundheitsstörungen, wie Müdigkeit, Kopfschmerzen oder Nervosität, manchmal sogar anämische Erscheinungen und Appetitlosigkeit. In solchen Fällen weist auch der Stuhl irgend eine Abnormalität in Konsistenz oder Geruch auf. Nicht selten werden bisher unerklärliche Temperatursteigerungen beobachtet. Bei Tuberkulosekranken verschlechtert sich der Zustand, da die antagonistische Wirkung des *Bact. coli* gegen die Tuberkelbakterien ausgefallen ist. Auch die Erkrankung anderer Organe wird dadurch sehr begünstigt.

VI. Diagnose

Die Diagnose kann außer nach den klinischen Erscheinungen bakteriologisch nach der Untersuchung des Kotes gestellt werden. Im Fieberzustand kann die Diagnose oft durch Untersuchung des Blutes gesichert werden. Von toten Tieren müssen außer dem Kot auch Duodenalininhalt, Leber und Gallenblase bakteriologisch untersucht werden. Die Toxizität prüft man an Versuchstieren.

Die Fäden- und Kyssebildner sind gewöhnlich atoxisch, aber bilden aus Kohlenhydraten Gas. Sie haben die Synthesefähigkeit verloren und haben ihre abbaubare Fähigkeit verstärkt.

Die stark vakuolisierten und granulierten Keime wirken gewöhnlich stark toxisch.

Bei Wiederkäuern, Rindern und Schafen vermehrt sich nach der Schädigung des *Bact. coli* ein Kopfschimmelpilz im Darmkanal. Nach Auftreten dieses Schimmelpilzes kann man schon von vornherein sagen, daß das *Bact. coli* nicht mehr voll funktionsfähig ist. Diese Schimmelpilze entwickeln sich nur auf milchzuckerhaltigen Nährböden.

VII. Behandlung

1. Diätetik

Die älteste Behandlungsmethode der Magen- und Darmstörungen ist die diätetische Methode. Man versucht dabei die Darmtätigkeit durch entsprechende Nahrung zu normalisieren, ohne ein klares Bild über die Ursachen dieser Störung zu haben. Auch diese Methode erreicht, meines Erachtens, die Stabilisierung der Gesundheit in erster Linie durch Begünstigung der Entwicklung des *Bact. coli* im Dickdarm.

2. Medikamentöse Behandlung

Zur medikamentösen Behandlung werden viele Präparate empfohlen und verwendet. Einige werden nur zur Beseitigung des Durchfalles, manche zur Desinfektion des Darminhaltes verwendet, um den vermuteten, aber oft nicht bekannten Krankheitserreger abzutöten. Viele davon töten oder schädigen aber auch das für den Körper unentbehrliche Bact. coli; infolgedessen helfen sie die Krankheit nicht, sondern verschlechtern den Zustand, wobei statt der früheren andere Symptome auftreten.

Zur Behandlung von akuten Durchfällen werden von Praktikern empirisch Darmisan und Rhodamin empfohlen. In Fällen, bei denen sich an Stelle des Bact. coli Mikrokokken oder grampositive Streptokokken eingenistet haben, kann man diese durch eine kurz dauernde Oral-Penicillinkur vertreiben.

3. Sera und Vakzine

Auch Behandlung mit verschiedenen Sera und Vakzinen wird versucht. Manchmal beobachtet man eine gewisse heilende Wirkung, aber oft auch nicht. Es scheint, daß diese Präparate eher eine unspezifische Antistoffwirkung besitzen.

4. Verabreichung von Bact. coli-Reinkultur

In der Humanmedizin wird versucht, durch Verabreichung von Bact. coli-Reinkulturen die dem Körper unentbehrlichen Kollidarme in den Dickdarm einzupflanzen. In Fällen, bei denen das Bact. coli nur entartet ist, bzw. bei einem es in seinen biologischen Funktionen gehemmt ist, erzielt man damit gute Ergebnisse. Aber die eingenisteten Antagonisten können auch durch gesunde Kollidarmkulturen nur sehr schwer aus dem Darm wieder vertrieben werden; zumindest muß diese Behandlung über eine lange Zeit fortgesetzt werden.

Es möge noch auf die interessante Tatsache hingewiesen werden, daß kranke Ferkel instinktiv durch Aufnahme von Jauche und Kot eine Heilung herbeizuführen versuchen. Im Mittelalter — in einigen Gegenden auch noch heute — wird auch Menschen empfohlen, Kot von gesunden Menschen und Tieren zu sich zu nehmen.

5. Frische Bierhefe

Frische Bierhefe hat die besondere Eigenschaft, die Kollantagonisten, vor allem das Bact. aerogenes, aus dem Darm zu vertreiben und die Bedingungen für eine normale Kollentwicklung zu schaffen.

Um einer Erkrankung der Säuglinge vorzubeugen, ist zu empfehlen, an Muttertiere, besonders an tragende Sauen und Hündinnen, schon während der Trächtkeitszeit — pro Tag 100—200 g frische Bierhefe, ein bis zwei Wochen lang — zu verfüttern. Die Hefe muß, mit Milch oder Kamillentee vermischt, vor der Fütterung verabreicht werden. Dies ist nötig, um die Entwicklung des Bact. coli im Dickdarm der Muttertiere zu begünstigen und die Antagonisten zu vertreiben. Außerdem werden nach unseren Beobachtungen durch die Hefefütterung gewisse, noch nicht genau erforschte Stoffe im Blute gebildet, die auch mit der Milch ausgeschieden werden und die die Säuglinge vor der Erkrankung schützen.

Wir haben Versuche zur Bekämpfung der Ferkelsterblichkeit in Beständen durchgeführt, in denen jährlich große Verluste durch die Ferkelerkrankungen verursacht wurden. Bei der Untersuchung des Kotes der

Sauen haben wir fast jedesmal stark entartete Kollidarmbakterien, die toxisch gewesen sind, festgestellt. Die Ferkel erkrankten gewöhnlich in den ersten Wochen nach der Geburt an starkem Durchfall. 21 Sauen wurden dann mit frischer Bierhefe während der Trächtkeitszeit behandelt, 4 Sauen wurden als Kontrollen unbehandelt, unter den gleichen Verhältnissen, belassen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle 2 zusammengefaßt.

Tabelle II
Mit Hefe behandelte Sauen

Würfe	Geborene Ferkel	Aufgezogene Ferkel
21	201	188
		Verluste 6%
Nicht mit Hefe behandelte Sauen		
Würfe	Geborene Ferkel	Aufgezogene Ferkel
4	38	13
		Verluste 70%

Aus dieser Übersicht geht deutlich hervor, daß bei mit Hefe behandelten Würfen die Verluste minimal ausgefallen sind. Diese wurden hauptsächlich durch Totgeburten und durch Ausfälle durch Ferkelgrippe, die in einzelnen Beständen beobachtet worden ist, verursacht.

Die Ferkel der nichtbehandelten Schweine gingen an Durchfall ein. Auch die überlebenden Ferkel blieben meistens Kümmerer.

Die Behandlung der erkrankten Kälber (Kälberruhr) ist etwas umständlich, aber auch hier haben wir stets gute Erfolge beobachtet. Zur Behandlung der Kälber ist zu empfehlen, ein Milch-Kamillenteegetränk 1:1 zu nehmen; in 200—300 ccm etwa 100—150 g Hefe lösen und 3mal täglich saugen zu lassen oder durch Eingießen mit der Flasche verabreichen. Wir haben bisher auch dieses Gemisch körperwarm als tiefen Einlauf per rectum gegeben. Bei 31 auf diese Weise behandelten Kälbern erzielten wir in 25 Fällen gute Ergebnisse. Die 6 unbefriedigend verlaufenen Fälle waren fast durchweg die, bei denen der Besitzer ohne Hilfe des Tierarztes die Behandlung durchgeführt hat. Dies weist darauf hin, daß die Behandlung vom Tierarzt durchgeführt oder von ihm angeleitet werden muß.

In Fällen, in denen Mikro- oder Streptokokken als Antagonisten vorkommen, kann vor der Hefekur eine Penicillinkur vorgenommen werden.

Zusammenfassung

1. Das Bact. coli im Dickdarm ist als Symbiont des Körpers aufzufassen.
2. Der lebende Dickdarminhalt funktioniert durch Synthese, Antibiose und Abbau, wie ein Organ. Treten hier Störungen auf, werden auch Erkrankungen an anderen Organen bemerkbar.
3. Bei Behandlung eines Patienten muß stets die Funktion dieses Organs berücksichtigt werden und nötigenfalls die Tätigkeit desselben durch künstliche Eingriffe geregelt werden.
4. Nachdem die Erkrankung dieses Organs die Erkrankung anderer Organe nach sich zieht, so ist auch zu erwarten, daß die Gesundung des lebenden Dickdarminhaltes die Gesundung anderer Organe mit sich bringen wird.
5. Die Bierhefe hat besondere Eigenschaften, die Entwicklung des Bact. coli im Dickdarm zu fördern und die Entwicklung der antagonistischen Keime zu hemmen.

393

Sonderabdruck aus
Archiv für Experimentelle Veterinärmedizin Bd. VI - Beiheft
Arbeitsgemeinschaft medizinischer Verlage GmbH, Berlin
S. Hirzel Verlag, Leipzig

113

Aus dem Myriatischen Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover
(Direktor: Prof. Dr. K. Wagner)

**Die Sonderstellung des Virus hinsichtlich
Immunität und Allergie**

von
K. Wagner

*Vortrag, gehalten auf der Arbeitstagung
im Bibliotheksaal der Forschungsanstalt für Tiererkrankungen Insel Riems
anlässlich der Laeffler-Gedenkfeier am 24. Juni 1952*

Der 100. Geburtstag Friedrich Loefflers, den wir heute hier an seiner Wirkungsstätte festlich begehen, gibt einen besonders geeigneten Anlaß, Rückschau zu halten über die Auswirkung der genialsten, zusammen mit Paul Frosch getätigten Entdeckung des Jubilars. Die beiden Entdecker kennzeichneten die Sonderstellung des von ihnen entdeckten MKS-Erregers gegenüber den übrigen bekannten Infektionserregern und Mikroorganismen als *filtrierbar*. Diese grundlegende Eigenschaft wurde noch zu Lebzeiten der beiden Entdecker bei einer größeren Anzahl von Infektionserregern an Pflanzen und Tieren nachgewiesen, die somit die neue Verwandtschaftsgruppe des Virus bildeten. Die Sonderstellung dieser sich bei der näheren mikrobiologischen Erforschung als sehr unzugänglich erweisenden Infektionserreger ergab sich im Vergleich mit den Bakterien und Protozoen aus 2 negativen Eigenschaften: 1. Sie ließen sich mit den damals verfügbaren optischen Instrumenten morphologisch nicht erfassen, 2. Sie konnten auf den für die Kultivierung der Protophyten geeigneten Nährsubstraten nicht gezüchtet werden. Bis zur Mitte der 20er Jahre, als ich bei Otto Waldmann Assistent war und auf dem Riems in den Fußstapfen Friedrich Loefflers wandeln durfte, deckte sich die Eigenschaft der Filtrierbarkeit eines Infektionserregers mit den beiden negativen Merkmalen der Nichtsichtbarkeit und Nichtzüchtbarkeit.

Während meines weiteren Werdeganges als Mikrobiologe habe ich dann als letzter Oberassistent von Paul Frosch in den Jahren 1927 bis 1929 wie kaum ein zweiter Gelegenheit gehabt, zu sehen, wie dieser vielleicht begabteste Schüler Robert Kochs mit dem Problem der Nichtsichtbarkeit und Nichtzüchtbarkeit des MKS-Virus bis zu seinen letzten Lebenstagen gerungen hat, aber dennoch an diesem Problem gescheitert ist.

Um so erfreulicher ist es, daß hier auf dem Riems, der Wirkungsstätte des anderen Partners der Virusentdeckung, die Züchtung des MKS-Erregers im Jahre 1930, also nur 2 Jahre nach Paul Froschs Tod, durch Hecke erstmalig gelang. Die von den Amerikanern Parker und Nye erstmalig am Pockenvirus demonstrierte Züchtbarkeit von Virus mittels der Gewebekultur hat mit verschiedenen Techniken mittlerweile sich bei einer großen Zahl tierpathogener Virusarten als erfolgreich erwiesen. Ebenso konnten die meisten Virusarten mit optischen und färbereichen Methoden sichtbar gemacht werden. Wenn also heute die ursprünglich mit der Filtrierbarkeit sich deckenden negativen Merkmale des Virus nicht mehr bestehen, so sind mit der weiteren Erforschung doch wieder neue Eigenschaften des Virus erkannt worden, die seine Sonderstellung unter den Mikroorganismen kennzeichnen. Hier wäre die Tatsache zu erwähnen, daß die Virusinfektionen sich den neuzeitlichen chemotherapeutischen und antibiotischen Mitteln gegenüber so unzugänglich er-

Ausgehen ist bei der Darlegung der Immunität und Allergie als Ausdrucksformen der veränderten Reaktionsweise nach Antigeneinwirkung von dem natürlichen Zustand oder der normalen Reaktionslage des Organismus. An Stelle der bis dahin hierfür verwendeten Bezeichnung Normergie wird bewußt Gebrauch gemacht von einer von H. Schmidt-Seesen 1939 vorgeschlagenen neuen Bezeichnung „Normodynie“. Dieser die normale Situation als eine natürliche Kräfteladung (Potentielle Energie) kennzeichnenden Reaktionslage wird nach der Antigenvorbehandlung als veränderte Reaktionslage gegenübergestellt die „Allodynie“. Schmidt will mit diesen neuen Namensprägungen einen die verschiedenen veränderten Reaktionsweisen zusammenfassenden, übergeordneten Begriff schaffen. Damit soll gleichzeitig die Schwierigkeit behoben werden, daß, wie seither, die Bezeichnung Allergie sowohl als übergeordneter wie auch als untergeordneter Begriff verwendet wird, nämlich neben oder unter dem Begriff der Immunität. Das hat dann allerdings weiterhin zur Folge, daß diese beiden Begriffe auch in ihrem Wesen und ihrer Wirkungsweise klar voneinander getrennt werden. Die Fortschritte auf den Gebieten der Immunitätswissenschaft, Serologie und Allergieforschung lassen immer deutlicher erkennen, daß im Bereiche der Infektionskrankheiten diese beiden Ausdrucksformen der veränderten Reaktionsweise zwar vielfach unter der Einwirkung eines Antigens in einem Zuge entstehen, aber dennoch in durchaus unterschiedlicher Wirkung zum Ausdruck kommen.

So ist die Immunität eine im Laufe vieler Infektionskrankheiten auftretende veränderte Reaktionsweise gegen pathogenen Antigen. Sofern der immun gewordene Organismus mit einem solchen spezifischen pathogenen Antigen nach seiner Umstimmung wieder in Berührung kommt, zeigt er keine klinischen Erscheinungen oder pathologisch-anatomischen Veränderungen. Es ist ein wesentliches Merkmal der Immunität, daß bei ihr alle die veränderte Reaktionslage kennzeichnenden Antigen-Antikörperbindungen sich klinisch stumm vollziehen.

Im Gegensatz hierzu muß unter der oben dargelegten Verwendung des Begriffes Allergie die nach Einwirkung eines Antigens zustande kommende veränderte Reaktionsweise gegen apathogenen Antigen verstanden werden. Allergische Manifestationen gibt es nicht nur im Verlauf vieler Infektionskrankheiten, sondern sie entstehen auch nach der Vorbehandlung mit normalem, artfremdem Eiweiß als Antigen. Man kann also bei der Allergie differenzieren zwischen einerseits Infektions- und andererseits Eiweiß-, speziell Serumallergien. Solche Reaktionsweisen entstehen als typische Antigen-Antikörperbindungen, wenn ein allodyner Organismus erneut, parenteral, mit seinem Antigen in apathogener Form in Berührung gebracht wird. Zum Unterschied von der Immunität verläuft die Antigen-Antikörperreaktion bei der Allergie regelmäßig mit deutlichen, u. U. schwersten klinischen Erscheinungen und auch pathologisch-anatomischen Veränderungen, die zuweilen sogar den Tod des allodynen Organismus zeitigen können.

Wenn auch, wie schon oben angedeutet, unter der Einwirkung eines Antigens sowohl Immunität wie auch Allergie zuweilen in einem Zuge erzeugt werden kann, so ist das doch, entsprechend der spezifischen Natur der einzelnen Erregerantigene, bei den verschiedenen Infektionskrankheiten in quantitativer wie auch in qualitativer Hinsicht recht unterschiedlich. Es gibt infekti-

krankheiten oder Antigene, die vorwiegend oder ausschließlich Immunität hervorrufen, und wiederum andere, deren antigene Wirkung auf die Erzeugung von Allergie sich beschränkt.

Zu den Antigenen bzw. Infektionen, bei denen sowohl Immunität wie auch Allergie auftreten, gehören z. B. die Tuberkulose bei Mensch und Tier und die Rotlaufinfektion des Schweines. Dagegen zeitigen die Streptokokkeninfektionen hauptsächlich, wenn nicht ausschließlich, Allergie. Den 3. Typus bilden schließlich Infektionen und Antigene, die vorwiegend Immunität erzeugen. Dazu gehören m. E. die Virusinfektionen.

Die bei den Virusinfektionen als allodyne Folgeerscheinung auftretende Immunität gehört zum Typus der stabilen, sterilen Immunität, bei der also ohne Erregeranwesenheit ein verschieden lange andauernder Zustand des Gefühls gegen erneute Infektionen besteht. Wenn es auch bei verschiedenen Virusinfektionen Dauerausscheider oder Virusträger gibt, so ist die hierbei feststellbare Erregeranwesenheit nicht notwendig, um den Zustand der Immunität aufrechtzuerhalten, wie das bei der vielen Protozoeninfektionen eigentümlichen labilen oder Infektionsimmunität (Präimmunität) der Fall ist.

Wenn somit die Immunität bei Virusinfektionen dem auch bei den meisten bakteriellen Infektionen vorkommenden allodynen Zustand entspricht, so weist sie doch einige Besonderheiten auf, die ich hier nur andeutungsweise herausstellen möchte:

1. Die Immunität bei Virusinfektionen übt einen nachhaltigen Einfluß auf die Wandelbarkeit des Virus aus, die zum Ausdruck kommt in der Typen- und Variantenbildung, wie sie ja ganz besonders dem MKS-Virus eigen ist und noch bei einer Reihe anderer Virusinfektionen, wie Pocken, Tollwut, Stomatitis vesicularis, Pferdeenzephalitis, Geflügelpest, vorkommt.

2. Zum Unterschied von bakteriellen Infektionen, bei denen Immunität auch durch totes, völlig avirulentes und nicht infektiöses Antigen erzeugt werden kann, wird Immunität bei Virusinfektionen offenbar nur durch solches Antigen erzeugt, dem trotz Verlust von Virulenz und Infektiosität noch eine gewisse Lebensaktivität innewohnt. Auch hier scheint mir das Beispiel der MKS besonders instruktiv. Bei den jahrzehntelangen Bemühungen der Riemser Anstalten um die Entwicklung eines Impfstoffes zur aktiven Immunisierung schwankte man stets zwischen den beiden Extremen: Entweder wurde das Virus bei der Behandlung zum Impfstoff abgetötet, dann erwies sich dieses Antigen als unwirksam für die Immunisierung, oder aber das Virus blieb bei schonender Behandlung am Leben, dann erzeugte es Immunität, aber nach klinischer Infektion.

Der mit der Schaffung der Formal-Adsorbatvaccine gelungene Wurf schien zunächst diesen Grundsätzen zu widersprechen, insofern, als man diese Vaccine, weil avirulent und nicht infektiös, als totes Antigen anzusprechen geneigt war. Die Erfahrungen beim Einfrieren und Wiederauftauen sowie bei einer relativ geringgradigen Erwärmung der Vaccine zeigten aber in Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Girard sowie auch Möhlmann über den Aktivitätszustand des Antigens in der MKS-Adsorbatvaccine, daß trotz des Fehlens von Infektiosität und Virulenz das Antigen in der Adsorbatvaccine noch als lebend bezeichnet werden muß. Soweit ich die Verhältnisse zu überschauen vermag,

ist offenbar die aktive Immunisierung auch bei anderen Virusinfektionen nur mit lebendem, wenn auch mitigiertem (avirulentem) Antigen möglich.

Gegenüber diesen die Sonderstellung des Virus kennzeichnenden Immunitätsverhältnissen ist es eigenartig, feststellen zu müssen, daß die Virusinfektionen, in ihrer Gesamtheit betrachtet, relativ arm an allergischen Phänomenen sind. Ich sehe in der heutigen Versammlung von internationalen Sachverständigen auf dem Gebiete der Virusforschung eine besonders günstige Gelegenheit für die Erörterung der Frage: Bei welchen Virusinfektionen gibt es eindeutige allergische Phänomene?

Im persönlichen Gedankenaustausch mit Fachkollegen wurde mir bis dahin als einziges Beispiel die Pockeninfektion des Menschen genannt, bei der unzweideutig allergische Erscheinungen vorkommen.

Neuerdings kommt nun die MKS als ein besonders instruktives Beispiel einer allergischen Manifestation bei einer Virusinfektion hinzu. Moosbrugger hat kürzlich die bei der Virusginnung anlässlich der Vakzinebereitung bei künstlich infizierten Kühen an der Zunge auftretenden schweren Ödeme als *Arthus-Phänomen* gedeutet. Er erklärt diese Erscheinung damit, daß die betreffenden Tiere vor der massiven künstlichen Infektion wahrscheinlich durch eine vorangegangene Vakzination an der Prädisloktionsstelle für das MKS-Virus allergisiert worden seien und nun beim Reinfekt im allergischen Gewebe eine Antigen-Antikörperreaktion im Sinne des *Arthus-Phänomens* stattfindet.

Diese Deutung steht durchaus im Einklang mit den hier auf dem Riems von Pehl vorgenommenen Untersuchungen. Dieser konnte histologisch nachweisen, daß nach der Impfung mit Riemscher MKS-Vakzine eine abortive Form der MKS im Zungenepithel abläuft. Dadurch wird dieses Gewebe sensibilisiert oder allergisiert und muß, wenn es erneut mit dem gleichen Antigen in Berührung kommt, nach den Gesetzen der Allergielehre im Sinne des *Arthus-Phänomens* reagieren. Die MKS ist also wiederum diejenige Infektionskrankheit, mit der sich die Sonderstellung des Virus auch hinsichtlich der Allergie illustrieren läßt.

Ich möchte meine Ausführungen schließen mit der Bitte an die hier versammelten Fachgelehrten, ihre Aufmerksamkeit auf weitere allergische Phänomene bei Virusinfektionen zu richten.

Schrifttum

- Möhlmann: Über das Zustandekommen der aktiven Immunität der MKS. Zbl. Bakter. I. Orig. 150, 160—169 (1952).
 Moosbrugger: MKS. als Vorbild in der Virusforschung. Tierärztl. Umschau 7, 39—44 (1952).
 Pehl, K. H.: Über charakteristische Veränderungen der MKS. an den Prädisloktionsstellen nach Vakzination. Exper. Vet.-Med. 3, 84—89 (1951).
 Schmidt, H.: Über das Wesen der Allergie. Dtsch. med. Wschr. 75, 250—260 (1950).
 Derselbe: Die biologischen Grundlagen der Tuberkulose. Z. Tbk. 94, 1—14, 142—170 (1950).

STAT

Page Denied

Next 103 Page(s) In Document Denied

Tiergesundheitsamt
Hannover
 Vahrenwalder Straße 58
 Fernsprecher 64393

Merkblatt Nr. 194

Richtlinien der Eutergesundheitskontrolle

In Verfolg der Maßnahmen zur Gesunderhaltung bzw. Schaffung gesunder Milchviehbestände und der Erzielung höherer Milchleistungen ist die Eutergesundheitskontrolle vom Tiergesundheitsamte eingerichtet worden, der sich jeder Landwirt und jede Genossenschaft (Molkerei, Milchkontrollverein usw.) anschließen kann.

Die Eutergesundheitskontrolle gibt dem Tierbesitzer die Möglichkeit, Eutererkrankungen rechtzeitig zu erkennen. Durch die regelmäßig erfolgenden Untersuchungen erhält er einen genauen Überblick über den Gesundheitszustand der Euter seiner Milchtiere und über den Verlauf evtl. auftretender Erkrankungen in seinem Bestande. Damit kann er unter eingehender Beratung durch das Tiergesundheitsamt die für die Behandlung bzw. Bekämpfung der Euterleiden notwendigen Schritte unverzüglich einleiten, um die durch euterkranken Kühe bedingten wirtschaftlichen Verluste und die Ansteckung gesunder Tiere zu vermeiden. Weiter wird der Besitzer auf Grund der Untersuchungsergebnisse in die Lage versetzt, über die Anlieferung der Milch der als krank bezeichneten Kühe zu befinden und sie unter bestimmten Bedingungen an die Meierei zu liefern.

Alles Maßnahmen, um einer möglichen Beanstandung der Milch, auch auf Grund gesetzlicher Bestimmungen, vorzubeugen, und denen im Hinblick auf die von maßgebenden Stellen für Lebensmittelüberwachung und Milchhygiene immer dringlicher erhobenen Forderungen nach einer Qualitätsbezahlung der Milch unter Berücksichtigung ihres Gesundheitszustandes erhebliche Bedeutung zuzumessen ist.

Mit der eingetretenen Leistungssteigerung der Milchkühe, sowie vielfach auch durch das Herrschen der Maul- und Klauenseuche ist eine erhöhte Anfälligkeit der Euter und damit eine Zunahme der Euterleiden entstanden, dem durch rechtzeitig einsetzende vorbeugende Maßnahmen entgegengewirkt werden muß. Als Grundlage zu solchen Schäden verhütenden Maßnahmen kann nur eine **regelmäßige** Eutergesundheitskontrolle dienen, die in der Lage ist, durch häufige Untersuchungen ein lückenloses Bild des Gesundheitszustandes der Herde zu vermitteln. Außerdem ist zur Herstellung von Qualitätsprodukten eine einwandfreie und gesunde Milch unbedingt erforderlich.

Der Anschluß an die Eutergesundheitskontrolle ist freiwillig und geschieht erstmalig für die Dauer von 2 Jahren. Eine Kündigung muß im übrigen im 3. Vierteljahre des laufenden Geschäftsjahres erfolgen, andernfalls läuft die Zugehörigkeit stillschweigend 1 Jahr weiter.

Bei der Eutergesundheitskontrolle handelt es sich um die **Feststellung folgender Befunde** in der Milch bzw. Erkrankungen des Euters:

1. **Eiter.**
2. **Gelber Galt** (Streptokokken — ansteckende Euterentzündung).
3. **Pyogeneserkrankung** (schleswig-holsteinische Euterseuche — sehr ansteckend).
4. **Eutertuberkulose** bzw. Verdacht derselben. (Ansteckungsgefahr für Mensch und Tier.)
5. **Abortus Bang** (seuchenhaftes Verkalben — Bakterienausscheidung durch das Euter — Vermeidung der Ansteckungsgefahr für die übrigen Kühe und den Menschen).

Von jedem milchgebenden Tier des angeschlossenen Bestandes wird 2mal im Jahre, nach Bedarf und auf Wunsch des Besitzers öfter, Anfangs- und Endgemelk in einer Probeflasche an das Tiergesundheitsamt zur Untersuchung eingesandt. Die für den Bestand notwendigen Flaschen werden von der Untersuchungsstelle regelmäßig zugeschickt.

Bei der **Probentnahme** ist es erforderlich, daß vom Probeentnehmer (Besitzer, Kontrollbeamter, Melkmeister, Melker) aus jedem Euterviertel von den ersten Strahlen des Anfangsgemelks (also Probentnahme vor dem Melken) in die Flasche gemolken wird. Die Flasche wird bis zu $\frac{1}{3}$ gefüllt. Nach dem Melken wird die Flasche mit den letzten Strahlen des Endgemelks aus jedem Viertel vollgefüllt. Es muß in jeder Probeflasche $\frac{1}{3}$ **Anfangs-** und $\frac{2}{3}$ **Endgemelk aus jedem Euterviertel** enthalten sein: also ein kurzer Strahl aus dem einen, dann ein solcher Strahl aus dem zweiten, dann aus dem dritten und ebenfalls aus dem vierten Viertel und wieder beim ersten Viertel beginnen, bis die Flasche $\frac{1}{3}$ mit Anfangsgemelk gefüllt ist. **Gegen Schluß** des Melkens beim Endgemelk genau so verfahren, aus jedem Viertel je einen Strahl, bis die Flasche vollgefüllt ist.

Zeigen sich in einem Viertel Schwellungen, Knoten, derbe Stränge usw. oder in der Milch eines Viertels Flocken, Gerinnsel, Veränderungen in der Farbe, so ist die Milch eines solchen Viertels in eine besondere Probeflasche zu

melken (auf dem Etikett der Flaschen diese besondere Regelung angeben). Bei Kühen nahe am Trockenstehen ist soviel Milch als möglich aus jedem Viertel (ebenfalls strahlweise einmelken) in die Flaschen zu entnehmen, bei Kühen, die trocken stehen, nur das Sekret, das sich bei leichtem Ausstreichen der Striche ausmelken läßt (das Euter hierbei nicht anrühren). Von allen trockenstehenden Kühen nach Möglichkeit Proben einsenden. Auf dem Etikett der Flasche ist der **Name** der Kuh anzugeben, gegebenenfalls auch der Name des Besitzers, wenn die Milchproben aus mehreren Beständen in einem Kasten versandt werden. Weiter ist auf dem Etikett zu vermerken, ob die Kuh **frischmilchend** oder **altmelk** bzw. **trocken** steht oder die z. Z. bestehende Tagesmilchmenge anzugeben. Die Flaschen sind bis zum **Versand** kühl zu stellen (evtl. Aufbewahrung im Kühlschranks der Molkerei) und unverzüglich an das Tiergesundheitsamt der Landwirtschaftskammer in Hannover, Vahrenwalder Straße 58, Fernsprecher 6 43 93 als Postpaket oder Bahnexpresgut zu senden. Absender und Besitzer sind anzugeben.

Auch außerhalb dieser regelmäßigen Kontrolluntersuchungen hat der Besitzer jederzeit das Recht, Milchproben von Tieren, die irgendwelche Veränderungen in der Milch (flockig oder wässrig) oder am Euter (Schwellung eines Viertels, Knoten im Drüsengewebe, Vergrößerung, Verhärtung, höckerige Oberfläche der Euterlymphknoten in der Schenkelfalte) aufweisen, einzuschicken. Solchen Einsendungen ist ein Begleitbericht über die vorhandenen Veränderungen am Euter bzw. in der Milch beizufügen. Probeflaschen für solche Einzelsendungen sind ebenfalls vom Tiergesundheitsamte anzufordern, gegebenenfalls sind Flaschen, die mit heißem Wasser ausgespült sind, zu benutzen.

Die angeschlossenen Molkereien haben neben den regelmäßig durchgeführten Untersuchungen der Milch der einzelnen Bestände außerdem die Möglichkeit, Proben aus der Anlieferungsmilch ihrer Genossen auf Eiter, gelben Galt und Abortus-Bang untersuchen zu lassen. Wenn in einem der Eutergesundheitskontrolle angeschlossenen Bestände auf Grund der Milchuntersuchungen in einem anderen Institute Beanstandungen durch die Polizeibehörde erfolgen, und der Besitzer zur Ermittlung der erkrankten Kühe Milchproben an das Tiergesundheitsamt Hannover einschickt, so ist entweder das Beanstandungsschreiben der Polizeibehörde beizulegen (es wird dem Einsender bei der Mitteilung des Untersuchungsergebnisses wieder zurückgeschickt) oder der Sendung eine Mitteilung über den Anlaß der Beanstandung (z. B. gelber Galt, Abortus-Bang oder Tuberkulose) beizufügen. Zur Untersuchung von Einzelmilchproben auf Eiter, gelber Galt und Pyogenes, immer Anfangsgemelk, zur Untersuchung auf Abortus-Bang und Eutertuberkulose immer Endgemelk einschicken.

Dem Besitzer werden über Behandlung und Bekämpfung der durch die Eutergesundheitskontrolle festgestellten Erkrankungen Ratschläge und Hinweise erteilt.

Bei Einzelsendungen außerhalb der laufenden Untersuchungen berufe man sich auf die Zugehörigkeit zur Eutergesundheitskontrolle.

Durch die Eutergesundheitskontrolle soll sich jeder Besitzer laufend über den Gesundheitszustand des Euters jeder einzelnen Kuh seines Bestandes unterrichten und auf Grund der Untersuchungsergebnisse die für die Gesundheit bzw. Gesunderhaltung seines Bestandes notwendigen Maßnahmen ergreifen können. Die Besitzer haben ferner die Möglichkeit, sich laufend über die Bangfreiheit oder den Stand der Banginfektion in der Herde zu unterrichten, um entsprechende Maßnahmen treffen zu können und sich evtl. auch einen bangfreien Bestand anerkennen zu lassen. Wer hierüber unterrichtet sein möchte, fordere das Merkblatt Nr. 186 des Tiergesundheitsamtes an.

Die **Anmeldung** zur Eutergesundheitskontrolle erfolgt schriftlich beim Tiergesundheitsamt Hannover, Vahrenwalder Straße 58, unter Angabe der Zahl sämtlicher Milchtiere des Bestandes. Vordrucke zur **Anmeldung** können beim Tiergesundheitsamt angefordert werden.

Die **Kosten** für den Eutergesundheitsdienst betragen 0,70 DM für die Untersuchung der Milch jeder Kuh, also bei zweimaliger Untersuchung im Jahre 1,40 DM je Kuh. Hiervon trägt die Milchgüteförderung die Hälfte, so daß **auf den Besitzer bzw. die Genossenschaft** (Molkerei, Milchkontrollverein) **0,70 DM je Kuh und Jahr entfallen.** Auch bei allen sonstigen vom Besitzer oder Genossenschaft gewünschten Untersuchungen von Einzelmilchproben außerhalb der laufenden Termine wird dem Besitzer immer nur die halbe Untersuchungsgebühr, also 0,35 DM je Milchprobe, in Anrechnung gebracht.

Werden die regelmäßigen Probeentnahmen durch die Kontrollassistenten durchgeführt, so erhalten diese für ihre Arbeit je Kuh 0,10 DM je Entnahme und Einsendung der Probe, also im Jahre je Kuh 0,20 DM. Diese Gebühren werden durch den Kontrollbeamten vom Besitzer eingezogen bzw. von den Molkereien einbehalten.

Sonderdruck

aus „Deutsche Tierärztliche Wochenschrift“, 59. Jahrgang, I. Oktober 1952, Heft 37/38, Seiten 295 — 297
 Verlag M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20. — Druck: Gebrüder Gerstenberg, Hildesheim.

Sind veterinärpolizeiliche Maßnahmen zur Tilgung des seuchenhaften Verkälbens (Abortus Bang) für das ganze Gebiet der Deutschen Bundesrepublik zur Zeit zweckmäßig und erfolgversprechend?

(Zugleich Stellungnahme zu dem Entwurf des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten einer Anordnung zur Bekämpfung des seuchenhaften Verkälbens [Abortus Bang] des Rindes)
 Von Prof. Dr. Karsten — Direktor des Tiergesundheitsamtes der Vorl. Landwirtschaftskammer Hannover

Die seit 1935 im Deutschen Reich erlassenen veterinärpolizeilichen Anordnungen zur Bekämpfung des Abortus Bang sind so oft abgeändert oder ergänzt worden, daß selbst gut unterrichtete Sachverständige sich schwer zurechtfinden; sie werden von den tierärztlichen Durchschnittspraktikern zumeist nicht beherrscht und daher auch nicht immer genau befolgt. Es ist also durchaus begrüßenswert, daß sie alle, wie § 11 des Entwurfes bestimmt, aufgehoben und durch eine Anordnung ersetzt werden sollen. Es fragt sich nun, ob man sich mit den geplanten Bestimmungen restlos einverstanden erklären kann. Das ist nicht der Fall.

Der Entwurf setzt sich die Tilgung der Seuche im gesamten Gebiete der Bundesrepublik als großes Ziel. Es ist also zu prüfen, ob die Voraussetzungen für die Möglichkeit der Ausrottung des Leidens mit Hilfe der geplanten veterinärpolizeilichen Maßnahmen im ganzen Bundesgebiet zur Zeit gegeben sind oder ob dies nur für einen Teil desselben oder ob dies überhaupt nicht der Fall ist. Für die Entscheidung dieser Frage wäre es wichtig, wenn man sich über die Verbreitung des Leidens in den einzelnen Teilen der Bundesrepublik ein möglichst vollkommenes Bild, am besten kreisweise dargestellt, machen könnte. Das ist aus Mangel an genauen statistischen Unterlagen leider nicht möglich. Immerhin reichen unsere Kenntnisse über die Ausbreitung der Krankheit aus, um die Sachlage beurteilen zu können. Nach den auf Anordnung des RuPrMdl. im Jahre 1935 in 18 preußischen Kreisen mit den verschiedensten Rinderschlägen und Haltungsbedingungen durchgeführten Großversuchen (4) wurde durch die Blutuntersuchung bei 276 367 weiblichen Rindern, die sich in 44 800 Beständen befanden, eine Abortus-Bang-Infektion bei 29 599 Tieren oder 10,71 % derselben festgestellt. Diese Zahlen könnten bei oberflächlicher Kenntnis der Dinge die Tilgung der Seuche nicht besonders un-

günstig erscheinen lassen. Aber es wäre unheilvoll anzunehmen, daß mit der Ausmerzung dieser 10,71 % der weiblichen Rinder eine Bangfreiheit der Bestände völlig oder weitgehend erreicht werden könnte. Die Erfahrungen in Vorzugsmilchbetrieben, eine plötzlich gestörte Bangfreiheit durch die Ausmerzung einer oder weniger positiv reagierender Kühe wieder herzustellen, sind außerordentlich aufschlußreich. Hierüber können jederzeit vom Tiergesundheitsamt Hannover nähere Mitteilungen gemacht werden. Andere Forscher haben ähnliche Erfahrungen gesammelt; so z. B. hat Thomssen bereits vor vielen Jahren diesbezüglich Mitteilungen aus Dänemark veröffentlicht.

Die Sachlage bekommt bereits ein anderes Aussehen, wenn man sich den Prozentsatz der Bestände vor Augen führt, in welchen Banginfektionen bei den Großversuchen des Jahres 1935 festgestellt wurden. Es handelte sich um 9592 der 44 809 blutuntersuchten Herden oder um einen Hundertsatz von 21,37 (17,49 % stark, 3,88 % schwach verseucht), d. h. mehr als jeder 5. Rinderbestand erwies sich als mit dem Leiden behaftet. Die Verseuchung war in den großen Herden am höchsten, in den Zwergbeständen am geringsten. Dies zeigt folgende Übersicht:

von den großen Beständen (über 50 Tiere)	
waren banginfiziert	65 %
von den mittleren Beständen (20—50 Tiere)	
waren banginfiziert	37 %
von den kleinen Beständen (6—19 Tiere)	
waren banginfiziert	26 %
von den Zwergbeständen (1—5 Tiere)	
waren banginfiziert	15 %

Die nachgewiesene starke Verseuchung der Bestände zeigt, daß die für die Tilgung der Seuche mit Recht geplante Anzeigepflicht für dieselbe sich auf über $\frac{1}{2}$ der mittleren, auf $\frac{2}{3}$ der großen Bestände und noch auf $\frac{1}{4}$ der kleinen erstrecken würde; das gleiche

gilt natürlich auch für die in Aussicht genommenen schwerwiegenden Verkehrs- und Nutzungsbeschränkungen. Ist so etwas überhaupt veterinärpolizeilich einwandfrei durchführbar? Dies wäre doch die erste Voraussetzung für einen, wenn auch nur bescheidenen Erfolg. Doch hierauf sei weiter unten noch kurz eingegangen.

Aus den Großversuchen des Jahres 1935 ergibt sich aber auch bereits, daß in der Verseuchung der einzelnen Kreise gewaltige Unterschiede bestehen. Es schwankte in den einzelnen Kreisen die Zahl der versuchten Rinder von 0,67% bis 36,47%. Der am stärksten verseuchte Kreis mit 36,47% der blutuntersuchten Rinder war der Kreis Sigmaringen, ein Beweis, daß es auch in Süddeutschland stark banginfizierte Gegenden gibt. Im allgemeinen aber sind für die süddeutschen Länder mit ihrer klein- und kleinstbäuerlichen Wirtschaftsform günstigere Feststellungen zu erwarten. So erwies sich nach Trautwein (3) im Jahre 1941 im Lande Baden 95,8% der Bestände als bangfrei und nur 1,8% der untersuchten Rinder mit einer Banginfektion behaftet. Was liegt bei dieser außerordentlich geringgradigen Verseuchung näher, als das Leiden mit veterinärpolizeilichen Maßnahmen restlos zu tilgen, wobei evtl. auch die Ausmerzungen und Entschädigung der banginfizierten Rinder und selbst ganzer Bestände wirtschaftlich tragbar erscheinen. Daß es auch in Norddeutschland solch schwach banginfizierte Gegenden gibt, ist Tatsache. So war z. B. nach den Feststellungen von Karsten (1) im Jahre 1935 der Kreis Zellerfeld i. H. bis auf zwei Gemeinden mit 38 banginfizierten Kühen fast frei von Abortus Bang. Auch der Verwaltungsbezirk Oldenburg, große Teile der Regierungsbezirke Stade und Aurich sowie die nördlichen Teile der Regierungsbezirke Lüneburg und Hannover, in denen die Einstellung weiblicher Tiere zur Zucht höchstens ausnahmsweise einmal vorkommt, die aber zu den wichtigsten Hochzuchtgebieten gehören, aus denen die Schwarzbuntherden ganz Deutschlands beliefert werden, sind durchweg nur mäßig banginfiziert, so daß eine restlose Tilgung des Leidens hier durchaus möglich erscheint und vertretbar ist. Im Regierungsbezirk Lüneburg haben bereits die Rinderzüchter von sich aus für die Tilgung der Seuche und die Registrierung ihrer Herden als bangfrei viel getan, worüber ich erst kürzlich in dieser Zeitschrift (2) berichtet habe.

Wie sinnlos es aber erscheinen muß, in den stark bangverseuchten Gebieten, insbesondere den Zuckerrüben Gegenden, die Anzeigepflicht für dies Leiden mit den sich ergebenden und in Aussicht genommenen Verkehrs- und Nutzungsbeschränkungen einzuführen, dafür nur ein paar Belege. Im Molkerei-Einzugsgebiet H. wurde im Tiergesundheitsamt bei der Kannen- und Bestandsmilchuntersuchung eine Bangverseuchung in 362 von 1640 untersuchten Herden festgestellt oder in 22% der Bestände. Recht hoch waren auch die Feststellungen bei der Kannenmilchkontrolle in den Molkerei-Einzugsgebieten B. und M., wo 27% bzw. 23% der Proben eine bangpositive Reaktion aufwies. Noch besseren Aufschluß über die Verbreitung des Abortus Bang erhält man durch die Eutergesundheitskontrolle, d. h. die Untersuchung der Milch jeder einzelnen Kuh auf Abortus Bang. Die Unterschiede der Bangverseuchung in den einzelnen Gebieten werden hierdurch erneut bestätigt. Molkerei-Einzugsgebieten mit 25% und mehr bangverseuchten Herden stehen solche mit nur 8% gegenüber. Da, wo die Eutergesundheitskontrolle schon seit vielen Jahren durchgeführt wird, wie z. B. vom Institut für Tiergesundheit der Bauernkammer Schleswig-Holstein, hat man bereits eine gute Übersicht über den Stand der Bangverseuchung in den einzelnen Molkerei-Einzugsgebieten und damit auch der Kreise. Hierüber wird vielleicht Tilgner, dessen Material sich auf die Bestände von 250 Molkereien erstreckt, ausführlicher berichten. Es genügt hier die Tatsache, daß die Bangverseuchung in 20 herausgegriffenen Molkerei-Einzugsgebieten von Schleswig-Holstein zwischen 00% und 10% der Bestände schwankte, im Durchschnitt bei etwa 25% lag. In einem Einzugsgebiet mit 261 Beständen und einer Durchschnittsverseuchung von 42,15

Prozent waren die einzelnen Bestandsgrößen folgendermaßen ergriffen:

- Gr. 1: 1—5 Tiere, bangverseucht 21,7% d. Bestände
- Gr. 2: 6—20 Tiere, bangverseucht 34,4% d. Bestände
- Gr. 3: 21—50 Tiere, bangverseucht 58,9% d. Bestände
- Gr. 4: über 50 Tiere, bangverseucht 62,6% d. Bestände

Erst wenn man weiß, wieviele Bestände und Rinder in einem bestimmten Gebiet banginfiziert sind, kann man für dieses Gebiet entscheiden, ob der Versuch einer Tilgung mit den sich hieraus ergebenden, für die Rinderbesitzer doch recht einschneidenden veterinärpolizeilichen Vorschriften gewagt werden kann. Man wird dabei gut tun, anfänglich mit großer Vorsicht vorzugehen und sich nur auf die am geeignetsten erscheinenden Gegenden zu beschränken, genau so wie man es bei dem Versuch zur Bildung tuberkulosefreier Inseln in Niedersachsen getan hat. Es ist schwer, hier genaue Richtlinien der Verseuchung anzugeben, bis zu welcher der Versuch noch berechtigt erscheint. Eine Verseuchung von etwa 5% der Bestände dürfte für den Anfang die Höchstgrenze bilden. Es kommt hierbei aber nicht allein auf die Zahl der versuchten Bestände an, sondern auch auf die Art der Verseuchung, d. h. den Prozentsatz der banginfizierten Rinder darin und auf die bestehenden wirtschaftlichen Verhältnisse (Viehverkehr, Viehdichte, reine Stallhaltung), die für eine Bangtilgung günstig oder ungünstig sein können. Mit kleinen bangfreien Inseln, die nur zu leicht erneut verseucht werden, ist weniger erreicht; sie müssen möglichst groß sein, am besten Gebiete wie z. B. das ganze frühere Land Baden umfassen.

Der Veterinärpolizei erwächst bereits reichliche Arbeit bei der Schaffung solcher bangfreien Inseln, die natürlich auch bangfrei erhalten bleiben müssen. Ich weise nur auf die Überwachung der Einfuhr von Rindern in diesen Inseln hin und auf die Überwachung der Sammelweiden, die oft gerade aus den stark banginfizierten grünlandarmen Gegenden mit vorwiegender oder ausschließlicher Stallhaltung beschied werden. Die Schutzimpfung mit vollvirulenter Bangkultur käme in den bangfreien Inseln in Fortfall, die mit virulenzgeschwächter (z. Z. Bangstamm USA 19) müßte gut überwacht, evtl. zeitlich beschränkt werden; banginfizierte Rinder müßten ausgemerzt oder in banginfizierte Bestände außerhalb der Inseln abgestoßen werden. Die erforderlichen veterinärpolizeilichen Maßnahmen sind für diese Inseln vertretbar, da sie sich auf relativ wenige Bestände und daher auf überschaubare Maßnahmen erstrecken und zu großen Vorteilen führen. Diese beruhen hauptsächlich darin, daß mit dem Überschuss an weiblichen Tieren dieser Inseln

1. die Belieferung von Ersatzkühen in Rohmilch-, besonders auch in Vorzugsmilchbetriebe erfolgen kann,
2. der Ankauf von sicher bangfreien weiblichen Zuchttieren in bangfreie Zuchtherden möglich ist, die in bangverseuchten Gegenden liegen.

Auf die Gründe nun, warum für stärker bangverseuchte Gegenden von einem Erlaß veterinärpolizeilicher Maßnahmen zur Tilgung der Seuche kein Erfolg zu erwarten ist, dagegen Mißerfolge, Nichtbefolgung erlassener Vorschriften, Verärgerung und Widersetzlichkeit der Rinderbesitzer, braucht nur ganz kurz eingegangen zu werden, weil sie ja zu offensichtlich sind.

Nach § 1, Ziff. 2 des Entwurfes gilt die Seuche u. a. als festgestellt, wenn durch sie „hervorgerufene spezifische Antikörper im Blute oder in der Milch eines oder mehrerer Rinder festgestellt worden sind“. Diese Bestimmung ist für das Ziel der Tilgung des Leidens durchaus richtig und nicht zu entbehren. Von tierärztlicher Seite (z. B. Monatshefte für Veterinärmedizin, 1948, 8) gemachte Vorschläge, die Anzeigepflicht und die veterinärpolizeilichen Bekämpfungsmaßnahmen nur auf Bestände mit akuter Verseuchung in Anwendung zu bringen, sind natürlich völlig abwegig, da ja von jedem infizierten Bestände, auch wenn irgendwelche klinische Erscheinungen des Leidens fehlen, eine Weiterausbreitung der Seuche erfolgen kann. Nun gibt es Gegenden, wie näher ausgeführt wurde, in denen die Hälfte und mehr der Bestände banginfiziert

Sonderdruck

aus „Deutsche Tierärztliche Wochenschrift“, 59. Jahrgang, 1. Oktober 1952, Heft 37/38, Seiten 295 — 297
 Verlag M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20. — Druck: Gebrüder Gerstenberg, Hildesheim.

Sind veterinärpolizeiliche Maßnahmen zur Tilgung des seuchenhaften Verkälbens (Abortus Bang) für das ganze Gebiet der Deutschen Bundesrepublik zur Zeit zweckmäßig und erfolgversprechend?

(Zugleich Stellungnahme zu dem Entwurf des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten einer Anordnung zur Bekämpfung des seuchenhaften Verkälbens [Abortus Bang] des Rindes)
 Von Prof. Dr. Karsten — Direktor des Tiergesundheitsamtes der Vorl. Landwirtschaftskammer Hannover

Die seit 1935 im Deutschen Reich erlassenen veterinärpolizeilichen Anordnungen zur Bekämpfung des Abortus Bang sind so oft abgeändert oder ergänzt worden, daß selbst gut unterrichtete Sachverständige sich schwer zurechtfinden; sie werden von den tierärztlichen Durchschnittspraktikern zumeist nicht beherrscht und daher auch nicht immer genau befolgt. Es ist also durchaus begrüßenswert, daß sie alle, wie § 11 des Entwurfes bestimmt, aufgehoben und durch eine Anordnung ersetzt werden sollen. Es fragt sich nun, ob man sich mit den geplanten Bestimmungen restlos einverstanden erklären kann. Das ist nicht der Fall.

Der Entwurf setzt sich die Tilgung der Seuche im gesamten Gebiete der Bundesrepublik als großes Ziel. Es ist also zu prüfen, ob die Voraussetzungen für die Möglichkeit der Ausrottung des Leidens mit Hilfe der geplanten veterinärpolizeilichen Maßnahmen im ganzen Bundesgebiet zur Zeit gegeben sind oder ob dies nur für einen Teil desselben oder ob dies überhaupt nicht der Fall ist. Für die Entscheidung dieser Frage wäre es wichtig, wenn man sich über die Verbreitung des Leidens in den einzelnen Teilen der Bundesrepublik ein möglichst vollkommenes Bild, am besten kreisweise dargestellt, machen könnte. Das ist aus Mangel an genauen statistischen Unterlagen leider nicht möglich. Immerhin reichen unsere Kenntnisse über die Ausbreitung der Krankheit aus, um die Sachlage beurteilen zu können. Nach den auf Anordnung des RuPrMidf. im Jahre 1935 in 18 preußischen Kreisen mit den verschiedensten Rinderschlägen und Haltungsbedingungen durchgeführten Großversuchen (4) wurde durch die Blutuntersuchung bei 270 367 weiblichen Rindern, die sich in 44 869 Beständen befanden, eine Abortus-Bang-Infektion bei 20 599 Tieren oder 10,71% derselben festgestellt. Diese Zahlen könnten bei oberflächlicher Kenntnis der Dinge die Tilgung der Seuche nicht besonders un-

günstig erscheinen lassen. Aber es wäre unheilvoll anzunehmen, daß mit der Ausmerzung dieser 10,71% der weiblichen Rinder eine Bangfreiheit der Bestände völlig oder weitgehend erreicht werden könnte. Die Erfahrungen in Vorzugsmilchbetrieben, eine plötzlich gestörte Bangfreiheit durch die Ausmerzung einer oder weniger positiv reagierender Kühe wieder herzustellen, sind außerordentlich aufschlußreich. Hierüber können jederzeit vom Tiergesundheitsamt Hannover nähere Mitteilungen gemacht werden. Andere Forscher haben ähnliche Erfahrungen gesammelt; so z. B. hat Thomsen bereits vor vielen Jahren diesbezüglich Mitteilungen aus Dänemark veröffentlicht.

Die Sachlage bekommt bereits ein anderes Aussehen, wenn man sich den Prozentsatz der Bestände vor Augen führt, in welchen Banginfektionen bei den Großversuchen des Jahres 1935 festgestellt wurden. Es handelte sich um 9592 der 44 869 blutuntersuchten Herden oder um einen Hundertsatz von 21,37 (17,49% stark, 3,88% schwach verseucht), d. h. mehr als jeder 5. Rinderbestand erwies sich als mit dem Leiden behaftet. Die Verseuchung war in den großen Herden am höchsten, in den Zwerbeständen am geringsten. Dies zeigt folgende Übersicht:

von den großen Beständen (über 50 Tiere)	waren banginfiziert	65 %
von den mittleren Beständen (20—50 Tiere)	waren banginfiziert	37 %
von den kleinen Beständen (5—19 Tiere)	waren banginfiziert	26 %
von den Zwerbeständen (1—5 Tiere)	waren banginfiziert	15 %

Die nachgewiesene starke Verseuchung der Bestände zeigt, daß die für die Tilgung der Seuche mit Recht geplante Anzeigepflicht für dieselbe sich auf über $\frac{1}{3}$ der mittleren, auf $\frac{2}{3}$ der großen Bestände und noch auf $\frac{1}{4}$ der kleinen erstrecken würde; das gleiche

sind; darunter befinden sich viele, in denen Fehl- und Frühgeburten und sonstige klinische Erscheinungen überhaupt nicht auftreten oder nur zu so geringen Verlusten führen, daß sie dem Besitzer tragbar erscheinen und die er durch planmäßige Schutzimpfungen, insbesondere bei den Jungrindern, weitgehend ausschalten kann und zumeist auch ausschaltet. Die Besitzer solcher Bestände, die oft schon seit Jahrzehnten bangverseucht sind, würden für jahrelang bestehende veterinärpolizeiliche Vorschriften zur Tilgung des Leidens, wenn sie wirklich zur Durchführung gelangten und nicht nur auf dem Papier ständen, kein Verständnis haben und sie für weit schlimmer halten als die durch das Leiden selbst bedingten Schäden. Dem Ansehen der Veterinärpolizei und damit des Staates würde dadurch unnötig Schaden zugefügt. Die Anzeigepflicht und die der Herde drohenden veterinärpolizeilichen Verkehrs- und Nutzungsbeschränkungen würden manchen Besitzer davon abhalten, von den wirksamen Schutzimpfungen Gebrauch zu machen, um sich anderen Bekämpfungsmaßnahmen zuzuwenden, die weniger wirksam oder gar wertlos sind. Mancher Rinderbesitzer würde wahrscheinlich wie in der Zeit von 1935 bis 1944 seine Zuflucht wieder zu dem Eingeben von Wasser nehmen, mit dem Nachgeburten von Kühen, die verkalbt haben, ausgewaschen wurden, um seine Jungrinder zu immunisieren; selbst mit einer Abgabe solcher Nachgeburten an fremde Bestände, in denen ein Verkalben nicht mehr vorkommt, aber ein Ersatz für die bisherige Schutzimpfung der Jungrinder für notwendig erachtet wird, müßte gerechnet werden. Und nun erst die Folgen bei der auf freiwilliger Grundlage aufgebauten Eutergesundheitskontrolle, der Kannenmilchkontrolle und der Bestandsmilchkontrolle. Die Institute wären verpflichtet, der Veterinärpolizei die vielen ermittelten banginfizierten Bestände anzuzeigen. Die Folge wäre, daß viele Sammelanschlüsse (Molkereien) oder Einzelbestände (Melkmaschinenbetriebe) von der sich freiwillig unterworfenen Überwachung der Milchkühe nichts mehr wissen wollen. Dies würde sich für die Bekämpfung des Abortus Bang, der Euterkrankheiten (gelber Galt), für das Herausfinden und die Ausmerzung eutertuberkulöser Kühe unheilvoll auswirken und damit auch für die ganzen durch viel Aufklärungsarbeit endlich in Fluß gebrachten Bestrebungen zur Güteförderung der Milch und des erhöhten Milchabsatzes. Und das alles für die Utopie, die Bangtilgung in hierfür ungeeigneten Beständen und Gegenden zu erzwingen.

In keinem Lande Europas mit einer nennenswerten Bangverseuchung, auch nicht in den USA, welche bekanntlich die Rindertuberkulose so gut wie gänzlich getilgt haben, hat man sich zur Einführung der Anzeigepflicht entschließen können. Dänemark hat sie

gehabt, aber im Jahre 1929 wieder aufgehoben. Die Bundesrepublik will jetzt auf dem Wege der Tilgung des Abortus Bang einen wichtigen Schritt tun. Das ist sehr zu begrüßen; man tue ihn aber in der richtigen, erfolgversprechenden Weise in den hierzu geeigneten Gegenden, nicht aber dort, wo schwere Mißerfolge zu erwarten sind. Andernfalls würde man der guten Sache nur schaden oder sie zu Fall bringen. Das Verbot der Impfungen gegen den Abortus Bang mit lebender Kultur im Jahre 1935 und die Aufhebung desselben im Jahre 1944 sowie die in der Verbotzeit sich zuge tragenen Ereignisse in Schleswig-Holstein sollten doch wirklich eine Lehre sein und zur Vorsicht mahnen.

Es wird also notwendig sein, die Bestimmungen zur Bekämpfung des seuchenhaften Verkalbens in den bangfreien bzw. bangfrei zu machenden Inseln zu trennen von denen, welche sich auf die Gebiete erstrecken, wo die veterinärpolizeilichen Maßnahmen zur Erreichung dieser Bangfreiheit vorläufig zurückgestellt werden müssen. Die für die bangfreien Inseln zu erlassenden Vorschriften sind in dem Entwurf enthalten und bedürfen nur geringer Abänderungen; wie die Bekämpfung außerhalb dieser Inseln sich ungefähr gestalten müßte, ergibt sich aus meinen Ausführungen, die ich kürzlich in dieser Zeitschrift (2) veröffentlicht habe.

Zusammenfassung

Es ist nicht richtig, die geplanten veterinärpolizeilichen Maßnahmen zur Tilgung des seuchenhaften Verkalbens (Abortus Bang) des Rindes für das ganze Gebiet der Deutschen Bundesrepublik zu erlassen; sie sind nur empfehlenswert für Gegenden mit geringer Ausbreitung des Leidens und sonstigen günstigen Tilgungsbedingungen.

Die Tilgung erfolgt am besten durch Bildung bangfreier Inseln. Je größer man diese auf Grund der festgestellten geringen Bangverseuchung und günstigen Tilgungsbedingungen auswählen kann, um so besser für die Aussicht auf Erfolg.

Für bangfrei zu machende Inseln sind andere viel weitgehendere veterinärpolizeiliche Vorschriften zu erlassen als für die übrigen Gebiete der Deutschen Bundesrepublik.

Schrifttum

1. Karsten (1937): Bang- und reaktionstuberkulosefreie Bestände als Grundlage für die Inverkehrgabe von Rohmilch im Kreise Zellwiefeld i. H. Dtsch. tierärztl. Wschr. 45, 97. — 2. Karsten (1952): Wie sieht es z. Z. mit der Bekämpfung des Abortus Bang im Bereich der Landwirtschaftskammer Hannover. Dtsch. tierärztl. Wschr. 59, 215. — 3. Trautwein (1941): Zur Verbreitung der Banginfektion in den Rinderbeständen Badens und des Elsaß. Dtsch. tierärztl. Wschr. 49, 424. — 4. Zeller (1939): Die Ergebnisse des Großversuchs zur Feststellung der Verbreitung der Rindertuberkulose und der Brucellose. D. T. Bl. 4, 301.

Sonderdruck

aus „Deutsche Tierärztliche Wochenschrift“, 59. Jahrgang, 15. Juli 1952, Heft Nr. 27/28, Seiten 215 — 217
 Verlag M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20 · Druck: Gebr. Gerstenberg, Hildesheim

Wie steht es zur Zeit mit der Bekämpfung des Abortus Bang im Bereiche der Landwirtschaftskammer Hannover?

Von Prof. Dr. Karsten, Direktor des Tiergesundheitsamtes der Landw.-Kammer Hannover

Von den Rinderzüchtern Niedersachsens wird seit einigen Jahrzehnten die Brucellose abortus Bang, das seuchenhafte Verkälben, als die lästigste Seuche empfunden. Infolgedessen stand auf Wunsch der hannoverschen Landwirtschaftskammer die weitere Erforschung und Bekämpfung dieses Leidens in ihrer Tiergesundheitsamt an erster Stelle. Bereits 1928 wurde vom Tiergesundheitsamt mit der Schaffung und Erhaltung bangfreier Rinderbestände begonnen, und 1931 gab die Landwirtschaftskammer Bestimmungen über ein freiwilliges Abortus-Bang-Bekämpfungsverfahren (ABV) heraus, bei deren Erfüllung Herden als bangfrei von ihr anerkannt wurden. Die Bestimmungen dieses ABV wurden allgemein als richtig angesehen und ohne Vorname von Veränderungen im Jahre 1935 durch den Rd.Erl. des RuPr. M.f.ERN. u. Ldw. vom 1. 3. 1935 — IX 5231 — verstaatlicht und im ganzen Reichsgebiet eingeführt. Die Veterinärräte der Kreise nahmen die staatliche Anerkennung vor, die erforderlichen bakteriologischen Untersuchungen der Blut- und Milchproben verblieben bei den Tiergesundheitsämtern (siehe Rd. Erl. vom 3. 4. 1934 — III 5536 —). Die im Rd. Erl. vom 1. 3. 1935 (Anlage II) enthaltene VAVG brachte bedauerlicherweise ein Verbot der Anwendung von Impfstoffen, die lebende Bangkeime enthalten, und ein Erlaß vom 7. 10. 1936 verschärfte dieses. Die Verbote wurden später durch die Rd. Erlasse des RMdl. vom 23. 12. 1942 und vom 15. 5. 1944 außer Kraft gesetzt, und es wurden neue Impfvorschriften gleichzeitig erlassen.

Die Bestimmungen des ABV vom 1. 3. 1935 sind aber auch jetzt noch unverändert in Kraft. Im Jahre 1937 waren im Bereiche der Landwirtschaftskammer Hannover rd. 6500 Herden mit 85 000 Rindern diesem Verfahren angeschlossen und etwa 600 Herden war die amtliche Anerkennung als bangfreier Bestand erteilt worden. Das Verfahren wurde besonders im Regierungsbezirk Lüneburg durchgeführt, wo die Aussichten, die Seuche völlig zu tilgen bei dem Fehlen der Notwendigkeit, weibliche Tiere zur Zucht einstellen zu müssen, groß sind und wo die Züchter die Wichtigkeit der Bangtilgung am frühesten erkannt hatten. Durch den Krieg und die Nachkriegszeit gingen die Fortschritte in der Abortus-Bang-Tilgung wieder verloren. Immerhin blieben auch von 1939—1948 eine Minderheit von Beständen dem Verfahren treu und legten weiterhin Wert darauf, bangfrei anerkannt zu bleiben. Vom Jahre 1948 ab trat die Tilgung der Rindertuberkulose, vom Staat und den Besatzungsmächten stark gefordert, in den Vordergrund und hat auch in den Zuchtgebieten des Nordens verhältnismäßig schnell Ausbreitung gefunden.

Vom Tiergesundheitsamt wurden die Züchter aber immer wieder darauf aufmerksam gemacht, daß man über der Tilgung der Rindertuberkulose die Bekämpfung anderer Leiden, wie insbesondere des Abortus Bang, nicht vergessen oder vernachlässigen dürfe. So kam es, daß auch die Bangbekämpfung wieder vermehrt aufgenommen wurde. Ein Teil der Züchter hielt an der staatlichen Anerkennung als „bangfreier Bestand“ fest,

andere erwerben sie in den letzten Jahren von neuem oder erstmalig. Immerhin wurden am 1. 4. 1952 im Tiergesundheitsamt nur 240 Rinderbestände in der Liste der „staatlich bangfrei anerkannten Bestände“ geführt. Eine relativ geringe Anzahl. Zuchtrinder, welche aus diesen Beständen auf die Versteigerungen des Lüneburger Herdbuches, in erster Linie in Winsen a. d. Luhe aufgetrieben werden, führen in den Katalogen das Zeichen „SIBF“ (staatlich bangfreier Bestand). Weit häufiger als dieses Zeichen finden wir in den Versteigerungskatalogen das Zeichen „BF“ (bangfreier Bestand) mit der Erklärung: „Sämtliche über 1 Jahr alten Rinder sind jährlich der Blutprobenuntersuchung unterzogen worden. Das Ergebnis war negativ.“ Im Kalenderjahr 1951 waren auf den Versteigerungen dieser Herdbuchgesellschaft 686 Bullen, 167 Kühe und 1548 Färsen aufgetrieben worden, von denen 85 Bullen, 11 Kühe und 58 Färsen das Zeichen „SIBF“ hatten, während 282 Bullen, 49 Kühe und 606 Färsen das Zeichen „BF“ führten. Wenn somit die meisten Züchter sich mit der Kennzeichnung ihrer Tiere als „BF“ begnügen, so liegt die Ursache hauptsächlich darin, daß sie eine zweimalige Blutuntersuchung im Jahre nicht für erforderlich halten, besonders dann nicht, wenn ihre Herden schon viele Jahre hindurch sich stets als bangfrei erwiesen und weil sie die mit der öfter wiederholten Blutentnahme verbundene Beunruhigung und Widersetzlichkeit der Tiere, wahrscheinlich aber auch die ihnen nicht notwendig erscheinenden Kosten vermeiden wollen. Hinzu kommt, daß bei dem ausgedehnten Weidegange, der sich von Anfang Mai bis spät in den Herbst, bei Färsen oft von April bis November erstreckt, wohl eine jährliche Blutuntersuchung während der Stallhaltung sich unschwer durchführen läßt, während die zweite, die nach Ablauf eines halben Jahres erfolgen mußte, schon in die Weidezeit fallen würde. Der letzteren Tatsache hat nun auch ein Erlaß des Nieders. Ministers für Ern., Ldw. u. Forst. vom 25. 10. 1951—II (Vet.) 7667/51 — Rechnung getragen, der die Zustimmung des Bundesministeriums für Ern., Ldw. u. Forst. durch Erl. v. 20. 10. 1951 — II A 10—2311—1838/51 — gefunden hat. Der nieders. Erlaß vom 25. 10. 1951 besagt: „Bis zu einer bundeseinheitlichen Neuregelung der Bestimmungen des Bezugserrlasses hinsichtlich der Anerkennung als abortusbangfreier Bestand wird bestimmt, daß die Untersuchung der Milch entfällt, und daß der für die Blutuntersuchung vorgeschriebene Abstand von etwa 6 Monaten auf 3 Monate herabgesetzt wird.“

Es ist damit zu rechnen, daß die Züchter der in Frage kommenden Zuchtgebiete, welche die Versteigerungen beschicken, in den nächsten Jahren immer mehr Wert darauf legen werden, daß ihre Rinder wenigstens mit dem Zeichen „BF“ gekennzeichnet sind. Es dürfte daher keine Utopie sein, daß auf die Versteigerung des Lüneburger Herdbuches in absehbarer Zeit fast nur noch Zuchtrinder aus bangfreien Betrieben aufgetrieben werden. Das würde ein großer Fortschritt gegenüber der allein vorgeschriebenen Blutuntersuchung bei den auf die Versteigerungen aufgetriebenen Rindern sein. Ein weiterer Antrieb zur Schaffung und Erhaltung bangfreier Bestände beruht darin, daß auch die außerhalb des Bereiches der Landwirtschaftskammer Hannover und z. T. auch in anderen Bundesländern wohnenden Landwirte, die nicht Gefahr laufen wollen, sich durch Ankauf weiblicher Rinder den Abortus Bang in ihre bangfreien Bestände (Vorzugsmilchbetriebe) einzuschleppen, gern aus solchen Beständen ihre Käufe vornehmen. Vom Tiergesundheitsamt Hannover bekommen sie auf Anfrage sowohl die SIBF- als auch die BF-Herden zu wissen, daneben auch die Zeit, seit welcher die Bangfreiheit besteht. Vom Tiergesundheitsamt wird auch der Rat erteilt, tunlichst aus Beständen zu kaufen, die sich wenigstens seit 2 Jahren ununterbrochen als tuberkulosefrei und als bangfrei erwiesen haben.

Für die Ausrottung der Bangschen Verkälbesuche ist es am wünschenswertesten, daß weit mehr noch als bisher ganze Körperschaften, wie Stierhaltungsge-

nossenschaften, Molkereieinzugsgebiete, Milchkontrollverbände sich die Tilgung des Leidens angelegen sein lassen. Um die Bestände und Genossenschaften bei der Bekämpfung der Krankheit mit dem Ziele ihrer Tilgung richtig beraten zu können, ist es wichtig, den Stand der Verseuchung in den einzelnen Herden und Gemeinden zu wissen. Diese Kenntnis vermittelt uns am besten die Blutuntersuchung. Sie wird bereits auf unser Anraten alljährlich 1mal in vielen bangfreien Beständen vorgenommen, die auf diese Weise erneut von der noch bestehenden Bangfreiheit Kenntnis erhalten oder auf etwaige eingetretene Gefahren aufmerksam gemacht werden. Dies geschieht besonders im Rahmen des Rindergesundheitsdienstes, der in den Rinderzuchten des Südens und um Hannover herum in größerem Umfange zur Durchführung gelangt als im Norden. Auf die Föhrung des Zeichens „BF“ wurde von diesen Züchtern bisher kein Wert gelegt. Plötzlich auftretende positive Blutreaktionen in bisher bangfreien Beständen sind stets ernste Warnungszeichen; hierfür ein Beispiel:

„In einer etwa 90 Milchkühe umfassenden sich durch eigenen Nachwuchs ergänzenden Herde hatte im Jahre 1925 das seuchenhafte Verkälben in ganz akuter Form mit schwersten Verlusten geherrscht; in den anschließenden Jahren war durch allmähliche Ausmerzung der positiv reagierenden Tiere die Bangfreiheit ohne Vornahme der Jungtierimpfung erreicht worden, etwa seit 1930/31. Bei der alljährlich zuerst 2mal, dann 1mal erfolgenden Blutuntersuchung aller Kühe und Färsen wurden positive Blutreaktionen viele Jahre hindurch nicht ermittelt, bis zur Herbst 1943. Jetzt zeigten überraschenderweise etwa 15 % der Tiere positive und meist sogar recht hohe Blutreaktionen, so daß, zumal eine Ausmerzung der Reagenten in der damaligen Zeit nicht in Frage kam, keine prophetische Gabe dazu nötig war, um dem Besitzer das erneute Auftreten von Fehl- und Frühgeburten infolge Banginfektionen vorauszusagen. Das geschah dann auch einige Monate später in großem Umfange. Die Einschleppung des Leidens war durch bestandseigene Färsen erfolgt, die vorübergehend auf 200 km entfernte Weiden zum Grasen verschickt waren. Daß in einem solchen Falle die Schutzimpfung der Jungtiere im 1. Lebensjahre und evtl. sogar der Kühe kurz nach dem Abkalben mit lebender Bangkultur (Bangstamm X) schon vom Zeitpunkt der Erkennung der drohenden Gefahr notwendig erscheint, um die Verluste zu mildern, braucht wohl nicht weiter begründet zu werden. Wenn dies nicht erlaubt ist, so gehen die Besitzer zur Selbsthilfe über, die in der Hildesheimer Gegend zur Zeit des Verbots der Schutzimpfung mit lebender Kultur darin bestand, Jungtindern und evtl. auch nicht tragenden Kühen das Wasser einzugeben, mit dem die Nachgeburten von Kühen, die abortiert hatten, gespült oder ausgewaschen waren.“

Heute ist die Zahl der Bestände, die sich mit Hilfe der Jungtierimpfungen vom Abortus Bang befreien, so daß sie schon seit Jahren ohne spezifische Fehlgeburten sind, beachtlich. In solchen Beständen wird auch vielfach die einmalige Blutuntersuchung jährlich durchgeführt und von uns empfohlen, im übrigen aber die Schutzimpfung der Jungtiere mit Bangstamm X weiterhin fortgesetzt. Damit ist eine neue Lage geschaffen, nämlich die eines bangfreien Bestandes (sämtliche Rinder von 2 Jahren ab ohne positive Blutreaktion), aber mit Schutzimpfung der Jungtiere im 1. Lebensjahre; die offizielle Einführung dieses Baugriffes ist in Deutschland bisher nicht erfolgt. In den USA besteht er bereits. Einige Herdbuchgesellschaften Niedersachsens dürften ihn gleichfalls dranzücht in Anwendung bringen, da mit lebender Bangkultur schutzgeimpfte Färsen für die Einstellung in manche Herden Vorzüge besitzen.

Eine andere Kategorie von Zuchtbeständen ist die, bei welcher die Jungtierschutzimpfungen seit Jahren durchgeführt werden, aber noch Kühe mit positiven

und zweifelhaften Blutwerten vorhanden sind, deren Prozentsatz schwankt. Fälle von Fehl- und Frühgeburten oder von Totgeburten oder von Festsitzen der Nachgeburten bestehen entweder überhaupt nicht oder erscheinen tragbar, selbst zumeist dann, wenn in diese Bestände ungeimpfte weibliche Tiere zur Zucht laufend eingestellt werden. Werden in solche Herden hochtragende Färsen zugekauft, so ist ihre Nachimpfung mit Bangstamm X 1--2 Wochen nach dem Abkalben durchaus am Platze. Auch hier gibt die jährliche Blutuntersuchung ein Bild über den Stand der Banginfektionen; die Besitzer verzichten aber zumeist darauf mit der Begründung, daß sie ja wissen, daß sie den Abortus Bang haben und deshalb ja dagegen Schutzimpfen lassen. Für solche Bestände, die bei der heutigen Wirtschaftslage, insbesondere bei den günstigen Schlachtviehpreisen, zum Teil sogar wieder zur Abmelkwirtschaft, wenn zumeist auch nicht 100%ig, übergehen, wäre der Rat, sich einen bangfreien Bestand, d. h. ohne Tiere mit positiver Blutreaktion zu bilden, völlig fehl am Platze. Für diese Betriebe war ja in erster Linie das Verbot der Schutzimpfungen mit lebender Kultur durch die Erlasse vom 1.3. 1935 und vom 7. 10. 1936 eine Fehlmaßnahme, die nicht wieder vorkommen darf. Was hier vom Abortus Bang gesagt ist, gilt sinngemäß natürlich auch für die Tuberkuloseimpfung. Für diese Bestände muß vorläufig die Ausmerzungen von Kühen mit Euter- und Gebärmuttertuberkulose sowie von vorgeschrittener Lungentuberkulose genügen.*)

Bei dieser Art von Beständen kann man auch auf die jährliche Blutuntersuchung auf Abortus Bang deshalb verzichten, weil wir in der Milchuntersuchung, insbesondere in der Anwendung der Ringprobe, einen hinreichenden und einfachen Ersatz haben.

Damit ist die Frage angeschnitten, in welchem Umfange sich die Blutuntersuchung auf Abortus Bang durch die Milchuntersuchung ersetzen und in den Dienst der Seuchenbekämpfung stellen läßt. Hierüber wird von unserem Tiergesundheitsamt in einer besonderen Arbeit berichtet werden. Es gerät hier mitzuteilen, daß bei positiver Blutreaktion (Diernhoferwert 49,5 und darüber) die Milchuntersuchung fast immer positiv anzeigt, die Übereinstimmung beider Verfahren verringert sich bei zweifelhaften Blutreaktionen zuungunsten der Milchuntersuchungen und die Abweichung ist bei Spuren von Bangantikörpern im Blut am größten. Bei schwerwiegenden Entscheidungen, wie z. B. bei Ankaufstieren, wird man daher auf die Blutuntersuchung nicht verzichten können. Um einen orientierenden Überblick über den Stand der Banginfektionen in einem Bestände zu erlangen, genügt aber die Untersuchung der Milch jeder einzelnen Kuh. Was liegt daher näher, als die Eutergesundheitskontrolle, wie sie so erfolg- und umfangreich seit Jahren in Schleswig-Holstein und jetzt auch im Bereiche der Landwirtschaftskammer Hannover zur Durchführung gelangt, in den Dienst der Abortus-Bang-Bekämpfung zu stellen? Alles Nähere darüber ist aus dem Merkblatt Nr. 186 des Tiergesundheitsamtes zu ersehen, das Interessenten auf Wunsch übersandt wird. Für Bestände, welche sich bei 2 bzw. 3 Untersuchungen der Milch jeder einzelnen Kuh im Abstände von 6 bzw. 3 Monaten bangfrei erwiesen, genügt der völlig negative Ausfall einer anschließenden Blutuntersuchung aller Kühe und gedeckten Färsen, um den Bestand auf Wunsch des Besitzers in die Liste der im Tiergesundheitsamt geführten bangfreien Bestände aufzunehmen, wobei Voraussetzung ist, daß im letzten Jahre ein

*) Rindertuberkulose und Abortus Bang stimmen also darin überein, daß man bei ihrer Bekämpfung und Tilgung nicht alle Bestände und Gegenden über einen Kamm scheren darf. Bei der Rindertuberkulose ist dies erkannt und durch Schaffung tuberkulosefreier Inseln in die Tat umgesetzt worden, beim Abortus Bang wird dies gleichfalls geschehen müssen.

Fall von seuchenhaftem Verkalben nicht aufgetreten ist. Die nächste Blutuntersuchung hat dann in spätestens einem Jahre zu erfolgen, um in der Liste zu verbleiben. Unabhängig davon laufen die Milchuntersuchungen weiter. Dem evtl. Einwand, daß diese Bangfreiheit nicht hinreichend gewährleistet sei, ist entgegenzuhalten, daß sie immerhin vielmehr besagt, als der alleinige einmalige negative Ausfall einer Blutuntersuchung bei einem zu Zuchtzwecken verkauften Rinde. Dem Besitzer steht es ja außerdem frei, seinen Bestand „staatlich bangfrei“ anerkennen zu lassen, wenn er sich hierdurch besondere Vorteile verspricht.

Daß dieser Weg der Registrierung bangfreier Bestände auch anderswo als gangbar erkannt ist, zeigt z. B. das Vorgehen Dänemarks, wo Bestimmungen über die „Registrierung der Rinderbestände, welche frei von seuchenhaftem Verkalben sind, durch die dänischen Molkereivereinigungen“ erschienen sind.

Darauf hingewiesen sei, daß auch die Kämmernmilchkontrolle und die Bestandesmilchkontrolle in den Dienst der Bangbekämpfung gestellt werden können; aber auch sie machen die anschließende Untersuchung der Milch jeder einzelnen Kuh erforderlich, sobald man den Umfang der Banginfektion in einem Bestände wissen will; z. B. um sich zu entscheiden, ob die evtl. Ausmerzungen der positiven Rinder oder die Schutzimpfung der Jungkühe den Vorzug verdient. Ist es da nicht richtiger, gleich mit der Eutergesundheitskontrolle, d. h. mit der Untersuchung der Milch, jeder einzelnen Kuh zu beginnen, zumal hierdurch auch die sonstigen Euterleiden bei den einzelnen Kühen erkannt und einer evtl. Behandlung zugeführt werden?

Zusammenfassung:

1. Die Bekämpfung des seuchenhaften Verkalbens, der Brucellose abortus Bang, muß dem sich weitgehend aus den bestehenden Verhältnissen ergebenden Verseuchungsgrade der Rinderbestände und Gegenden angepaßt sein.
2. Am günstigsten sind die nur gering verseuchten Gegenden ohne nennenswerte Einfuhr von Zuchttieren daran, in denen eine restlose Tilgung der Seuche möglich und z. T. bereits erfolgt oder eingeleitet ist und eine laufende Überwachung der Bangfreiheit, insbesondere durch die Blutuntersuchung, genügt. Hier ist auch die Bildung größerer bangfreier Inseln wie bei der Ausrottung der Rindertuberkulose möglichst bald in Angriff zu nehmen.
2. Wo dies z. Z. nicht möglich ist, ist den Besitzern bangfreier Herden eine Untersuchung des Blutes aller Kühe und gedeckten Färsen wenigstens einmal im Jahre anzuraten, um eine Bestätigung der noch bestehenden Bangfreiheit zu erhalten oder die durch inzwischen eingetretene Banginfektionen drohenden Gefahren frühzeitig zu erkennen und zu bekämpfen.
Dies gilt auch für die durch die Schutzimpfung der Jungkühe und die Ausmerzungen der Kühe mit positiver Blutreaktion bangfrei gemachten Bestände, welche diese Schutzimpfungen noch weiterhin vornehmen lassen.
4. Für bangverseuchte Bestände mit häufiger oder laufender Einstellung weiblicher Rinder zur Zucht ist die Schutzimpfung der bestandeigenen Jungkühe mit lebender Bangkultur sowie evtl. auch der Ankaufstiere nach dem Abkalben nicht zu entbehren, um die Verluste wesentlich herabzusetzen. In solchen Beständen gibt die Untersuchung der Milch jeder einzelnen Kuh einen hinreichenden Aufschluß über den bestehenden Umfang der Banginfektionen.
5. Es wird gezeigt, wie auch die Milchuntersuchungen, insbesondere durch die Eutergesundheitskontrolle, in die Bekämpfung des seuchenhaften Verkalbens, darunter in die Tilgung des Leidens eingebaut werden können.

Überreich
vom Verfasser**Sonderdruck**aus „Deutsche Tierärztliche Wochenschrift“, 57. Jahrgang, 1951, Heft Nr. 11/12, 13/14 u. 15/16
Verlag M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20 · Druck: Gebr. Gerstenberg, Hildesheim**Über das Auftreten der Brucellose suis in deutschen Schweinezuchtbeständen
und seine Ursache**

(Mit 6 Abbildungen)

Von Prof. Dr. Karsten, Direktor des Tiergesundheitsamtes der Landwirtschaftskammer Hannover

Vorläufige Mitteilung

Von den 3 Typen von Brucellakelmen, welche bei unseren Haustieren vorkommen, hat in Deutschland bisher lediglich die *Brucella abortus* Bang oder der sogenannten bovine Typ eine Rolle gespielt. Mit der Möglichkeit, daß auch die *Brucellose melitensis* und die *Brucellose suis* nach Deutschland eingeschleppt werden und hier größere Verbreitung finden könnten, hat man bisher nicht gerechnet. Wie gering die Kenntnisse über die *Melitensis*- und die *Suis*-infektion tatsächlich in Deutschland waren, zeigt kennzeichnend die Tatsache, daß die Anfang der dreißiger Jahre für die Bangsche Krankheit aufkommende Bezeichnung *Brucellose abortus* Bang im deutschen Schrifttum wiederholt als Pleonasmus abgelehnt wurde, während sie in Wirklichkeit sehr treffend ist. Karsten (22) hob wiederholt, so noch 1947, die Bedeutung veterinärpolizeilicher Maßnahmen zur Verhinderung der Einschleppung und Einnistung landfremder Brucellosen hervor, wies als warnendes Beispiel auf das Auftreten und Umsichgreifen der *Brucellose suis* in Dänemark in den Jahren 1929—1932 hin und hielt selbst die Einschleppung der *Brucellose mel.* in das Reichsgebiet, nämlich von der Westgrenze über das Rhonetal und Elsaß-Lothringen her, für durchaus möglich. Hatte doch, wie Dubois (8) mitteilte, die Einfuhr einer einzigen infizierten Ziege in Franqueraux in Südfrankreich genügt, um eine schnelle Ausbreitung des Maltafiebers bei den Haustieren und beim Menschen in einem bisher seuchenfreien Gebiete herbeizuführen.

Das Auftreten bisher in Deutschland unbekannter Brucellosen hat leider nicht lange auf sich warten lassen. Die *Brucellose mel.* ist im Rheinlande bei Schafen festgestellt worden und hat insbesondere zur Erkrankung von Schilfern geführt; sie scheint aber keine größere Verbreitung angenommen zu haben, so daß mit ihrer baldigen Ausrottung, wenn sie nicht inzwischen bereits erfolgt sein sollte, zu rechnen ist. Hierüber dürfte von anderer Seite berichtet werden. Daß *Brucella*-Infektionen seit langem schon in Deutschland gelegentlich bei Ziegen und Schafen vorkommen, ohne daß sie irgendwelchen Schaden verursachten oder auch nur Beachtung fanden, wurde im Jahre 1937 anlässlich der Abnahme von Zuchtschafen durch eine russische Kommission offenkundig, als diese auf Grund der von ihr vorgenommenen allergischen Probe von 2000 abzunehmenden Schafböcken 81 Tiere als brucellainfiziert zurückwies. Als daraufhin W. Schmidt

(42) vom Tiergesundheitsamte in Halle eine Blutuntersuchung bei den zurückgewiesenen Böcken ausführte, stellte es sich heraus, daß ein kleiner Teil der Tiere *Brucellaagglutinine* im Blute enthielt, die selbstverständlich aber nicht durch *Bruc. mel.*, sondern durch *Bruc. abortus* Bang hervorgerufen waren. Das Vorkommnis gab Karsten Veranlassung, durch eine Dissertation Tettenborns (49) feststellen zu lassen, wie oft und in welchen Mengen *Bangagglutinine* im Blute von Schafen, die auf Gehöften mit *Bang*-verseuchten Rinderherden untergebracht waren, angetroffen werden. Die Untersuchungen zeigten, daß geringe Mengen von *Agglutininen* (bis zum Titer von 1:100) im Blute von *Bang*-infektionsgefährdeten Schafen bisweilen auftreten können, ohne daß irgendwelche klinische Erscheinungen, insbesondere Fälle von Verkrüppelungen, wahrgenommen werden. Bei Ziegen ist dies nach den nicht sehr umfangreichen Feststellungen von Gminder und Schumann genau so. In Deutschland sind bisher nur ausnahmsweise, wenn überhaupt, spontane Verkrüppelungen durch den *Bang*-schen Erreger bei Ziegen oder Schafen (7, 59) beobachtet worden.

Die Frage nun, ob und in welchem Umfange die *Brucellose suis* in Europa, besonders aber in Deutschland, bisher aufgetreten ist, ist für uns jetzt von großer Bedeutung geworden.

Vorausgesetzt sei, daß von der *Brucellose mel.* mit ihrer breiten Pathogenität für alle Haussäugetiere und sogar für das Hausflegel auch Schweine ergriffen werden können, wie dies schon die britische Maltafieberskommission (37) vor mehr als vier Jahrzehnten feststellte. Wenn *Melitensis*-infektionen bei Schweinen im allgemeinen aber verhältnismäßig selten wahrgenommen werden, so beruht dies einmal darauf, daß in den warmen, besonders subtropischen Ländern, wo das Maltafieber in der Hauptsache zu Hause ist, nur wenig Schweine gehalten werden, und zweitens darauf, daß dieses Haustier sich in den angestellten Infektionsversuchen nicht besonders stark anfällig für das Leiden erwiesen hat (55).

Darüber, daß die *Brucella mel.* im Schweinekörper besondere Merkmale annimmt und zu schweinespezifischen pathologischen Veränderungen Anlaß gibt, wie dies die *Brucella suis* tut, ist bisher nichts Sicheres bekannt geworden. Die weiter unten angeführten Fälle von Urbanov und Bohl (52) im Nordkaukasus und Rebouillou, Placidi und Verge (39) im Rhonetal geben dieser Vermutung Raum, sind aber nicht hinreichend beweisend. Mit dieser Möglichkeit muß jedenfalls aber in Gegenden mit zahlreichen *Melitensis*-infektionen bei Ziege, Schaf oder Rind und stärkerer Schweinehaltung, wie z. B. in Mexiko, durchaus gerechnet werden. In diesem Lande

kommt, wie José Zozaya mitteilt, die Brucellose mel. bei Schweinen anscheinend durchaus nicht selten vor.

Die dem Schweine eigentümliche Brucellose ist die *Brucella suis*. Sie hat bekanntlich in Nordamerika in den im großen Ausmaße Schweinezucht treibenden Gegenden eine gewaltige Ausbreitung angenommen. In den USA wurde seit der von Traub (51) im Jahre 1914 gemachten ersten Feststellung des Leidens bei Schweinen, die vererbt hatten, die Ursache derselben bei *Brucella ab. Bang* gesehen, obwohl der Erreger, wie bald festgestellt wurde, von vornherein rein aerob wuchs und bei Meerschweinchen besondere recht typische Veränderungen hervorrief (5, 11). Seit 1928 trennte man aber die *Brucella suis* von der *Brucella ab. Bang* scharf ab, nachdem in diesem Jahre Huddleson (12) hinreichend sichere bakteriologische Untersuchungsverfahren angegeben hatte, durch welche beide Typen sich unterscheiden lassen. Heute hat sich in den USA die von verschiedenen amerikanischen Forschern, besonders aber von Huddleson, wiederholt zum Ausdruck gebrachte Auffassung, daß alle natürlich vorkommenden Brucellainfektionen beim Schweine lediglich durch die *Brucella suis*, niemals aber durch die *Brucella ab. Bang* hervorgerufen werden, allgemein durchgesetzt. Um so überraschender wirkt jetzt die im Oktoberheft 1949 des Am. Journ. of Vet. Med. Assoc. wiedergegebene Mitteilung, daß bei 8 Schweinen aus verschiedenen Beständen in kurzer Zeit eine natürliche *Bruc. ab.-Bang*-Infektion festgestellt wurde.

Für die Bedeutung der Rolle, die heute die *Brucella suis* in den Schweinezuchtgebieten (Wisconsin, Minnesota, Iowa, Kansas usw.) der USA spielt, sei nur auf die hohe Zahl der blutpositiven Schlachtschweine (am Chicagoer Schlachthofe bis zu 9-15%) und die vielen durch *Brucella suis* hervorgerufenen Erkrankungen beim Menschen (14) hingewiesen. Am aufschlußreichsten scheint aber eine im November 1949 gemachte Mitteilung von Spink (46), daß jetzt in den USA die durch *Brucella ab. Bang* jährlich verursachten Verluste auf 92 Millionen Dollar geschätzt werden, die durch *Brucella suis* aber auf über 100 Millionen Dollar.

Fest steht ferner, daß die *Brucella suis* im Jahre 1929 in Dänemark auftrat, sich hier auf 240 Schweinebestände, aber auf keinen einzigen Rinderbestand ausbreitete und nach 4jähriger taktvoller Bekämpfung völlig ausgerottet wurde. Über diese Epidemie sind wir durch die schöne, ausführliche Arbeit von Thomsen (50) vorzüglich unterrichtet worden, insbesondere auch über die bei ihr beobachteten Eigentümlichkeiten, so namentlich der pathologisch-anatomischen Veränderungen (milare Brucellose des Uterus).

Ein europäisches Land, in welchem die *Brucella suis* seit langem (Hulyra 1909) vorgekommen ist, zur Zeit noch herrscht und starke Verbreitung gefunden hat, ist Ungarn, wo bekanntlich Schweinezucht und Schweinemast sehr hoch stehen. Manning (10) nimmt allerdings an, daß in diesem Lande die Brucellose der Schweine in der Hauptsache durch *Bruc. ab. Bang* hervorgerufen wird, was, insbesondere aus der wechselseitigen Übertragung von Rindern auf Schweine und umgekehrt zu schließen sei. Die Mitteilungen über die Art des Auftretens der Brucellose bei Schweinen in Ungarn lassen m. E. gar keinen Zweifel darüber, daß doch zum wenigsten zu einem sehr erheblichen Teile der beschriebenen Fälle das Leiden durch die *Brucella suis* hervorgerufen wurde. Leider sind die ursächlichen Erreger nicht genügend oft eingehend mit dem neuesten Differenzierungsverfahren geprüft worden. Wenn aber z. B. Marci (29) 1931 mitteilt, daß Abortusinfektionen in Schweinebeständen unter auch bei jungen, zur Zucht noch nicht verwendeten Ebern in großer Ausbreitung vorkommen, daß beispielsweise in einer Wirtschaft von 120 jungen Ebern bloß 27 Tiere negative Blutwerte aufwiesen, so spricht dies genau so für eine Suisinfektion, wie die mitgeteilte Tatsache, daß die große Ausbreitung des Leidens dazu zwingt, bei bereits „abotierten Sauen“ auch Eber mit positiven Blutwerten zu verwenden, falls bei ihnen eine Hodenentzündung nicht festgestellt werden kann. Zur Zeit steht aber nicht einwandfrei fest, in wieviel Prozent der Erkrankungsfälle in Ungarn es sich um *Brucella suis* und in wievielen um *Brucella ab. Bang* gehandelt hat und jetzt noch handelt. Von Übergangsformeln ist nichts mitgeteilt worden.

Auch in den westlichen Teilen Rumaniens tritt nach Pop (34) die „Bangkrankung“ des Schweines in großem Umfange auf. Die Fehlgewürten erfolgten hauptsächlich zwischen der 6. und 8. Woche der Trächtigkeit,

aber auch früher und später. Die ursächliche *Brucella* ist auch hier anscheinend nicht näher geprüft worden; m. E. ist aber an dem Vorliegen der *Brucella suis* in diesem Lande nicht zu zweifeln.

Nach den Mitteilungen von Bianchini (1) ist in der Lombardei die Zahl der Fälle von Verferkeln bei Sauen verhältnismäßig gering, obwohl hier auf etwa 20% der Güter die Bangsche Verkalbesuche unter den Rindern herrscht. Die Ursache dieses Verferkelns muß nach dem beobachteten klinischen und pathol.-anatom. Bilde die *Brucella suis* gebildet haben. Bianchini spricht aber eindeutig von Banginfektionen, die oft in den Gehöften sowohl beim Rinde als auch beim Schweine zu Aborten führten. Die von ihm aus Schweinen gezüchteten Erreger hält Bianchini für Bangkeime, welchen eine besondere Virulenz innewohnt, auf welcher eine besondere Virulenz innewohnt, auf welcher eine besondere Virulenz innewohnt, auf welcher eine besondere Virulenz innewohnt. Nur solche Bangstämme sollen eine Gefahr für das Schweine bilden. So beobachtete er auch, daß in 2 Fällen sich Eber durch Auffressen von Nachgeburten von Kühen, die verworfen, infizierten. Die Stämme wuchsen von vornherein aerob und waren sehr pathogen für Meerschweinchen und Kaninchen, die nach intraperitonealer und subkutaner Verimpfung nach wenigen Tagen eintrugen. Miris (32) Untersuchungen in 2 Schweinebeständen mit seuchenhaftem Verferkeln und schweren Erkrankungen des Geschlechtsapparates, sowie in einem Falle sogar der Nieren in der Gegend von Mailand sind eine Bestätigung von Bianchinis Befunden.

Um Suis-Infektionen muß es sich auch in den von Frei (9) und von Nagel (33) aus der Schweiz im Jahre 1932 mitgeteilten Fällen von Verferkeln gehandelt haben. Von 110 Mutterschweinen eines Dorfes verferkelten 60-70 ein- oder mehrmals; in 10 Fällen wurden Übertragungen auf den Menschen beobachtet. Vier weitere Fälle von Brucelloseerkrankungen beim Menschen in der Schweiz, die vom Schwein aus ihre Entstehung genommen haben müssen, beschreibt 1931 Bischofsberger (2). Auffällig ist also die große Pathogenität der ursächlichen *Brucella* für Menschen, die gleichfalls auf den Suisstyp hinweist. Frei teilt ferner mit, daß auch aus anderen Gegenden der Schweiz in den letzten 2 Jahren über infektiöses Verwerfen beim Schweine berichtet wurde und daß die von ihm beschriebenen Seuchenausbrüche viel zu spät Beachtung fanden. Direkt pathogenomisch für das Vorliegen der Suisinfektion sind aber die von Saxer (40) in der Schweiz beobachteten Erkrankungen, die in Nekrose der Zwischenwirbelscheiben, namentlich im Gebiete der Lendenwirbel, bestanden. In einer einzigen Herde erkrankten 5 Mutterschweine an „Wirbelsäulenfraktur“ und mußten „otgeschlachtet“ werden. In dem nekrotisch-ertrig eingeschmolzenen Wirbelscheibenmaterial mit starker fibröser Abkapselung fanden sich Brucellen in großer Menge. Bei 60% der Schweine wurden positive Agglutinationswerte nachgewiesen. Eine genaue Typenfeststellung ist anscheinend nicht erfolgt.

Wie Rudolf (1933) berichtete, kommt der „Banginfektion des Schweines“ in Österreich noch keine große wirtschaftliche Bedeutung zu. Sie tritt nur sporadisch auf. Das Leiden ist anscheinend von ihm erstmalig in diesem Lande nachgewiesen worden. Er hat die mit stärkeren Verlusten einhergehende Krankheit 1924, 1926 und besonders 1931 in je einem großen Zuchtbestande festgestellt und führt sie auf Ansteckung vom Rinde zurück. Die ursächliche *Brucella* wurde aus Mageninhalt von mehreren Feten gewonnen, aber nicht näher auf Typenzugehörigkeit geprüft. Auch in nekrotischen Herden des Nebenrudens eines Ebers wurden „Bangkeime“ durch den Meerschweinchen (positive Blutreaktion) nachgewiesen. Wichtig ist folgende Mitteilung von Rudolf: „Der Kulturversuch aus der Milz des Meerschweinchens mißlingt, obwohl bei der Verimpfung von Rinderabortusmaterial bei vorausgegangenem positiven Ausfall der Blutprobe des geimpften Meerschweinchens die Kultur aus den Meerschweinorganen bei der in unserem Institut üblichen Methode stets gelingt.“

Makka weyski, Karakadnowskaja und Michew (25) berichteten 1933 über Abortusfälle in einer Reihe von Schweinebeständen von Weißrussland, von denen man ziemlich sicher annehmen darf, daß sie durch *Bruc. suis* hervorgerufen wurden. Die Autoren geben auch an, die „*Bruc. suis*“ aus Abszessen isoliert zu haben, teilen aber nähere Angaben über sie nicht mit, wofür sie eine spätere Veröffentlichung in Aussicht stellen. Diese ist anscheinend nicht erschienen. Von 5112 Blutproben von Sauen und Ebern im Alter von 1/2 bis 2 Jahren und älter wiesen 2345 eine positive Reaktion auf, die anderen 2767 reagierten negativ oder zweifelhaft. Aus Rußland liegt ferner über „Abortus infectiosus nach Bang bei Schweinen“

eine Arbeit von Uranow und Bohl (52) aus dem Jahre 1931 vor. Hiernach trat im Nordkaukasus der Schweineabortus in Form einer Mutterschweineerkrankung unter Lähmung der Hinterhand, erholten sich nach einigen Wochen wieder, bei der Zerlegung geschlechter Schweine wurden Veränderungen am Geschlechtsapparat, darunter Sklerose der Gebärmuttergefäße und der Gebärmutterwände, nachgewiesen. M. E. sieht nicht einwandfrei fest, ob hier tatsächlich eine Banginfektion vorgelegen hat. Da im Nordkaukasus die Melitensisinfektion bei Schafen große Verbreitung gefunden hat, könnten diese Abortusfälle auch durch die Bruc. mel. bzw. durch eine aus dieser hervorgegangenen porzinen Form derselben verursacht worden sein.

Aus Frankreich wird von Reboulleau, Placidi und Verge (33) über das Auftreten von Fehl- und Frühgeburten bei Schweinen berichtet, deren Ursache eine porzine Varietät der Bruc. ab. Bang gebildet haben soll. Da dieses Verferkeln sich in der Gegend der Rhonemündung abspielte und die Einschleppung der Seuche durch frisch eingeführte Sauen aus der Nachbarschaft von Marseille, wo gleichfalls die Melitensisinfektion vorkommt, erfolgt sein soll, könnte auch hier wohl die Bruc. mel. über diese Verferkelung gebildet haben. Das mir vorliegende kurze Referat läßt eine Entscheidung nicht zu.

Im Deutschen Reich sind die Mitteilungen über ein durch Brucellen hervorgerufenen Leiden beim Schweine, insbesondere über durch diese Keime bedingtes Verwerfen recht spärlich gewesen, namentlich in Anbetracht der unzähligen Veröffentlichungen über den Abortus Bang des Rindes und dessen außerordentliche Verbreitung in vielen Gebieten.

Die ersten Feststellungen darüber machte Schlegel (41) im Jahre 1910 in Baden. Bereits seit einigen Jahren kam in einem Bezirke, in welchem der Abortus Bang bei Rindern verbreitet war, das Verwerfen bei Mutterschweinen öfters vor. Die Sauen verferkelten zwischen der 12. und 15. Woche, in anderen Beständen zwischen der 6. und 8. Woche der Trächtigkeit. Sie zeigten 2 oder 3 Tage lang Durchfall, Fehlmilch und Euterödem. Sie lagen viel, machten sich ein Nest und erwarteten dann plötzlich, worauf sie sich schnell erholten. Später nahmen die Sauen wieder auf und ferkelten normal ab. In anderen Fällen wurden die Mutterschweine aber alle 3 Wochen brünstig und mußten wegen Nichtaufnehmens geschlachtet werden. In der Leber der Ferkelföten wurden Brucellen ziemlich zahlreich nachgewiesen, die aber „relativ dick und rottaubhellig“ waren. In der Schlegelschen Mitteilung heißt es: „Der Bangsche Abortusbazillus verursacht, wie festgestellt wurde, nicht nur bei Rindern, sondern auch bei Schweinen das seuchenhafte Verwerfen.“

Im deutschen Schrifttum finden sich von 1910 an zahlreiche herbeigeführte Verferkelungen oder Umsausen. So berichtet die Reichszentrale zur Bekämpfung der Aufzuchtfrankheiten (38a) im Jahre 1910, daß das Bakteriell. Institut der Landwirtschaftskammer in Königsberg viermal, das in Bonn neunmal Bangkeime als Ursache des Verwerfens nachweis. Sontjen betonte auf dieser Tagung in Stuttgart, daß dem Bangschen Bakterium als Abortusursache beim Schweine eine Bedeutung zukomme. Im Jahre 1935 berichtete die Reichszentrale (38b), daß von 300 den Instituten eingesandten Schweineföten in 18 Fällen oder 5,9% „Brucellen“ festgestellt wurden. Das Tiergesundheitsamt Breslau fand 4 Föten brucelleninfiziert, das hygienische Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover gleichfalls 4 und das Dr. Schreiberische Institut in Landsberg 7 von 100 eingesandten Früchten. Das Tiergesundheitsamt Breslau und das hygienische Institut der Tierärztlichen Hochschule Hannover stellten einen Zusammenhang mit dem seuchenhaften Verkalben des Rindes in Abrede und machten Zukaufstiere als Einschleppungsquelle verantwortlich. Neben Fehlgeburten wurde auch Umsausen als Symptom des Leidens wahrgenommen, das in der Regel durch den Deckakt übertragen wurde. Ferner konnte auch Eickmann in zwei Eihäuten Brucellen nachweisen. Im Jahre 1937 teilt die gleiche Reichszentrale (38c) mit, daß der Präventivnutz der durch Brucellen hervorgerufenen Fälle von Fehlgeburten auf 10,1% gestiegen ist, d. h. von 320 den Instituten eingesandten Schweineföten wurden in 33 Brucellen festgestellt. Die Föten stammten aus den verschiedenen Gegenden des Reiches, nämlich aus den Provinzen Schleswig-Holstein, Hannover, Sachsen, Sachsen-Anhalt, Ostpreußen und dem Lande Mecklenburg. Krause wies auf die erhebliche Zunahme der Brucelleninfektionen des Schweines in Ostpreußen hin, die er auf die Ver-

fütterung brucellenhaltiger Milch zurückführte. Aus einer kürzlichen schriftlichen Mitteilung von ihm konnte ich entnehmen, daß die alljährlich mehrmals im Tiergesundheitsamt Königsberg aus Schweineföten gezüchteten Brucellastämme anfänglich stets nicht aerob wuchsen, also vom Bangtyp waren. Den Erkrankungsfall wurde keine besondere Bedeutung beigegeben, sie wurden daher nur in den Jahresberichten des Institutes veröffentlicht, zumal sie stets schnell zum Verschwinden kamen. Auf die Schwierigkeit des Nachweises der Brucellen in den Föten machten Schumann in Breslau und Spiegl in Halle aufmerksam und hielten hierfür die Verimpfung des Meerschweinchens für erforderlich. Zur Bekämpfung der Brucellose beim Schweine wurden Vakzinierung und hygienische Maßnahmen empfohlen.

Im Jahre 1933 berichteten Miessner und Köser (31) über das schaulte Auftreten von Verferkeln in einem mittelgroßen Zuchtbetriebe und in einer Zuchtgenossenschaft einer Gemeinde. Im ersten Bestande hatten von 30 Zuchtsauen 13 verferkelt, als 2 Föten dem hygienischen Institute der Tierärztl. Hochschule Hannover eingesandt wurden. Die Frühgeburten traten in der 7. bis 14. Woche der Trächtigkeit auf, die verferkelten Sauen zeigten keine sonstigen klinischen Erscheinungen. Es verferkelten nur Sauen, die von einem zugekauften klinisch vollkommen unverdächtigen Eber ge deckt waren, aber nicht die sonstigen Sauen. Das Blutserum des Ebers agglutinierte gegenüber Bruc. suis bis 1:1000. Im Rinderbestande waren Fehl- und Frühgeburten nicht aufgetreten. Im zweiten Falle waren in einer Gemeinde Mitteldeutschlands unter den etwa 100 von 30 Besitzern gehaltenen Zuchtsauen in den letzten Monaten „bis dem größten Teil der Sauen Aborte vorgekommen“. Die Fehlgeburten traten nach 2monatiger Tragzeit auf, zeichenhafte Verkalben unter den Kühen der Gemeinde war nicht aufgetreten. Die weiblichen Tiere waren zum Teil munter, die Sauen gingen aber vielfach stark lahm. Neben Frühgeburten kamen ebenso häufig Totgeburten zu normaler Abferkeltermin bzw. Geburten lebensschwacher Ferkel vor, die sehr bald nach der Geburt eingingen. Dem Institute wurden 2 Ferkelföten zur Untersuchung eingesandt. Es gelang Miessner und Köser aus 3 der insgesamt 4 eingesandten Föten die Erreger des Verferkelns kulturell, aus dem 4. Fötus durch den Meerschweincherversuch in Reinkultur zu bringen. Die Auffassung der Autoren, daß die Bruc. suis das Verwerfen in beiden Fällen verursacht hat, paßt nicht zu der Mitteilung, daß das Wachstum der aus den Föten isolierten Brucellen erst in der 3. bzw. 4. Passage aerob erfolgte. Diese Eigenschaft ist nach unseren heutigen Kenntnissen das sicherste Erkennungsmittel für die Brucella ab. Bang. Welche Brucelleninfektion hat nun eigentlich vorgelegen? Hier tritt das Problem der Ätiologie der Brucellose des Schweines ganz klar in Erscheinung. Diese beiden Seuchengänge mit ihren klinischen Erscheinungen sprechen für Brucellose suis, die mitgeteilten Eigenschaften des Erregers für Brucellose ab. Bang.

Köbe (56) teilte 1935 mit, daß in einem großen Schweinebestande die Brucellose zu Totgeburten oder Lebensschwache der neugeborenen Ferkel führte, worauf die Blutuntersuchung vorgenommen wurde, bei welcher 9 Schweine bis zum Agglutinationsstiter von 1:50, ein Tier bis 1:100 und 1 Tier bis 1:1000 reaktivierten. Köbe ist der Auffassung, daß die Infektionen bei den Schweinen durch Ansteckung vom Rinde her ihre Entstehung nahmen und daß Vorsichtsmaßnahmen (Unterlassung der Verfütterung von roher Milch, scharfe Trennung der Schweine von den Rindern) zum Schutze der Schweine für erforderlich, die ursächliche Brucella hat Köbe trotz angestellter Meerschweincherversuche nicht gewinnen können.

Um eine Sausinfektion muß es sich in einem von Steffens (47) im Jahre 1937 mitgeteilten Falle gehandelt haben. In einem Hochzuchtbestande in der Nähe von Halle trafen 1934 und im Frühjahr 1935 die ersten Fälle von Verferkeln auf, deren Ursache durch die Untersuchung des Blutes der Mutterschweine, der Eihautteile und der Föten nicht zu ermitteln war. Von Mai bis September 1935 verferkelten 15 Sauen nach durchschnittlich 1-2 1/2 Monaten Tragzeit. Bei 5 Sauen traten in und unter der Haut spontan apud- bis knospenförmige Abszesse auf, außerdem wurde Lahmheit durch Gelenkerkrankungen der vorderen und hinteren Extremitäten wahrgenommen. Erst bei der dritten im Oktober 1935 ausgeführten Blutuntersuchung wurde die Brucelleninfektion nachgewiesen, und jetzt wurden auch die ursächlichen Brucellen aus abortierten Föten über den Meerschweincherversuch gezüchtet. Auch aus mehreren Uteri von positiv reagierenden Sauen

mit schleimig-trigem Sekret und kleinen gelblichen Knotchen in der Schleimhaut (Mikrobrucellose nach Thomassen) konnten „Abortus-Bang-Bakterien“ herausgezuechtet werden. Ein aeheres Studium der gewonnenen Brucellastamme unterblieb. Durch die ergriffenen Bekampfungsmassnahmen wurde erreicht, dass die Seuche nach zweijahrigem Bestehen im Bestande erlosch und fremde Bestaende nicht angesteckt wurden.

Bei der im groen und ganzen doch recht untergeordneten Bedeutung, welche die Brucellose bisher beim Schweine in Deutschland spielte, ist es befreulich, dass planmaessige Untersuchungen von Schweineblutproben auf Brucellaantikoerper nur ganz selten und nur in geringem Umfange ausgefuehrt wurden. Nach den Untersuchungen von Knoth (23) wiesen von 624 Blutproben nicht tragend gewesener, etwa 8 Monate alter Schweine 1 Probe eine positive Agglutinationsreaktion auf und von 376 Serumproben von Mutterschweinen 5 Proben. Die Schweine stammten aus Schleswig-Holstein und Ostpreussen, also aus ziemlich stark mit Abortus Bang verseuchten Gegenden und wurden im Schlachthof in Zwitkau geschlachtet. Aufklaerend ist ferner die Mitteilung von Doyle (57), dass in England, wo ueber Brucellaerkrankungen beim Schweine nichts bekannt geworden ist, in betreff des Abortus Bang aber etwa analoge Verhaeltnisse wie in Deutschland bestehen, von 10.474 Blutproben von Schlachtsauen, welche zur Zucht gedient hatten, nur 25 gefunden wurden, welche zur Zucht in der Verdunnung von 1:25 und darueber agglutinierten, und 4 bis zur Verdunnung von 1:100. Den Herlaertz, Untersuchungsanstalten in Deutschland ist es ferner wohl bekannt, dass die anfaellig von Verferkeln, Totgeburten und Umrauschen aus den Zuchtbestaenden eingesandten Blutproben von Sauen Brucellaantikoerper nur recht selten enthalten. Somit kann man als festgestellt ansehen, dass das Schweinefer in der Bang-Infektion allgemein wenig empfaenglich ist, da sonst bei der reichlichen Gelegenheit des Schweines zur Aufnahme von Bangkeimen (Milch und Milchruetstaende aus dem Kuhstalle und aus Sammelmolkereien, Fressen von Kalbsfoeten und Nachgeburten, Wuehlen im Kuhmist usw.) positive Blutreaktionen und auch Erkrankungsfaelle haeufiger haeufig auftreten muessen. Hiermit stimmt ueberein, dass in kuenslichen, besonders in den USA. ausgefuehrten Infektionsversuchen mit Bangkeimen es zumeist nicht gelungen ist, Schweine zum Verferkeln zu bringen (6; Conna way, Du rant und Newman (3) konnten aber durch Einspritzung von Bangkeimen bei 4 Sauen 2 zum Verferkeln bringen, die dritte Sau warf 4 normale und 1 toetes Ferkel und die vierte normale Ferkel. Diese Autoren sind der Ansicht, dass das Schweinefer in der Banginfektion empfaenglich ist und dass Vorsichtsmaessnahmen zur Verhuenderung des Uebergreifens des Leidens vom Hund auf das Schweine nicht unbeachtet bleiben sollten. Auch Hadley und Beach (1) vermochten durch intravenoese Einspritzung und Good und Smith (10) durch Verfuetterung von Bangkulturen bei Sauen Aborte hervorzuerufen. Im Reichsgesundheitsamt hat Stockmayer (1933 (4)) an Schweinen im Gewichte von etwa 25 Kilogramm geprueft, ob mit verschiedenen Brucellastammen vom Rinde eine Infektion erzielt werden kann. Stockmayer fand, dass die Mehrzahl der Schweine zumeistens in diesem jugendlichen Alter — eine ziemliche Resistenz gegen eine Infektion mit Rinderbrucellen besitzt. Auch eine 3 1/2—4 Monate lang vorgenommene Verfuetterung von natuerlich bangkeimhaeltiger Milch wurde von den Schweinen reaktionslos vertragen, obgleich mit dieser Milch jedes Schweine im Tagesdurchschnitt etwa 333.000 bis 2 Mill. Bangkeime aufnahm. Die bovinen Brucellastamme erfuehren durch die Schweinepassage keine Umwandlung ihrer biologischen Eigenschaften.

Aus meinen vorstehenden Ausfuehrungen ist der Schluss berechtigt, dass bisher in Deutschland eine besaetigende, sich auf viele Zuechterden erstreckende und die ganze Schweinezucht gefaehrdende Brucellose, wie es die Brucellose sonst in manchen Laendern, wie z. B. in den USA., sicherlich ist, bisher nicht beschrieben, also auch nicht aufgetreten ist. Da es aber der Anfang zu einer solchen Seuche wiederholt vorgelegen hat (Miebn er und Ko eser, Steffens), sollte m. E. nicht uebersehen werden, weil daraus u. a. wichtige Schluesse fuer ihre Bekampfung gezogen werden muessen.

Es bildete jedenfalls eine starke Ueberraschung, als im Tiergesundheitsamte Hannover im Sommer 1949 in Schweinezuchtbestaenden von Sudhannover-Braunschweig eine Brucellose festgestellt wurde, ueber deren Boesaetigkeit, Ausbreitungstendenz und wirtschaftliche Bedeutung nicht der geringste Zweifel bestehen konnte.

Hieruber sei im folgenden wenigstens das Wichtigste mitgeteilt.

Bestand 1. Aus einem groen Schweinezuchtbestande, in welchem hauptsaechlich das Deutsche Wildschweine, daneben auch Edelschweine fuer die Erzeugung von zur Mast bestimmten Absatzferkeln gehalten wurden, wurden dem Tiergesundheitsamte am 19. 4. 1949 4 Blutproben von 22 Sauen zur Untersuchung auf „Abortus Bang“ eingeschickt. Drei Blutproben enthielten keine Bangantikoerper, die 4. Probe zeigte eine stark positive Membranreaktion und positive Agglutination (mittlerer Agglutinationswert nach Diernhofer 70,75). Da die 4 Blutproben bei der Ankunft im Institute bereits etwas haemolytisch waren, wurde eine erneute Einsendung von Blutproben dieser Eber empfohlen. Daraufhin wurden dem Tiergesundheitsamte am 10. 6. 1949 4 Blutproben von Zuchtsauen und 4 Blutproben von Ebern eingeschickt. Alle 4 Blutproben der Sauen und eine Eberblutprobe reagierten positiv oder zweifelhaft. Die mittleren Agglutinationswerte der Blutproben der Sauen betragen bis 233,0, die Eberblutprobe reagierte mit 70,75. In seinem Antwortschreiben betonte das Tiergesundheitsamt, dass eine auferordentliche Ausbreitung der Brucellose in dem fraglichen Schweinebestande angenommen werden muesse, falls nicht eine Schutzimpfung mit Bangimpfstoffen stattgefunden haette. Dies war aber, wie wir spaeter erfuehren, bei den weiblichen Zuechtern analog der jetzigen Abortus-Bangbekampfung des Rindes geschehen. Von weiteren 42 am 16. 9. 1949 eingesandten Schweineblutproben reagierten 27 positiv, waehrend die meisten uebrigen Blutproben Spuren von „Bangantikoerpern“ aufwiesen. Naehere mit Unterstuetzung des zustaeendigen prakt. Tierarztes nunaehr angestellte Nachforschungen ergaben, dass sich Mitte April der Schweinebestand aus 68 Zuchtsauen, 5 Ebern und etwa 10 Mastschweinen zusammensetzte. Im April 1949 verferkelte eine 2—4 Jahre alte Sau, welche zum dritten Male tragend war. Dann verwarfen Mitte Mai 6 Sauen kurz hintereinander und einige Wochen spaeter weitere 4 oder 5 hochtragende Sauen.

Im Juni kamen 8 Faelle von Verferkeln vor; waehrend im Juli kein Fall von Verwerfen sich ereignete, stieuen im August noch 2 Sauen vorzeitig die Frucht aus, 1 Sau kurz vor dem Abferkeln und die andere etwa in der Mitte der Traechtigkei. Dann traten Fehl- und Fruhgeburten nicht mehr auf. Im ganzen haben von April bis August 1949 24 von den damals vorhandenen 68 Zuchtsauen verferkelt, also ein recht hoher Prozentsatz, besonders wenn man beruecksichtigt, dass nicht alle Sauen tragend waren und evtl. niedertragende Sauen unberuehrt verferkelt haben koennen. Von den vorhandenen Ebern war nur einer klinisch unter nicht schweren Erscheinungen (leichte Hodenschwellung) erkrankt. Bei den Zuchtsauen wurden aufer Verwerfen klinische Erscheinungen ueberhaupt nicht beobachtet. Der zustaeendige Schweinezuechter hatte auf Anraten des Tiergesundheitsamtes bereits am 4. 5. 1949 den Verkauf von Zuchtschweinen gesperrt. Aber auch im April 1949 wurden Zuchtschweine mit Ausnahme des Deutschen Wildschweinebers Nr. 847 (s. Bestand 2) nicht abgegeben. Der Besitzer sah die vom Tiergesundheitsamte in Vorschlag gebrachte Abschlichtung aller positiv reagierenden Zuchtschweine als richtig an und hielt auch die vorgeschlagene Abgabe von zur Mast bestimmten Ferkeln und Laefern nur in kastriertem Zustande fuer durchfuehrbar. Bestandsfremde Sauen wurden Ebern dieses Bestandes nicht zuegefuehrt. Unter den Rindern des Betriebes hatte der Abortus Bang geherrscht und die Schweine hatten Gelegenheit gehabt, im Mist des Kuhstalles zu wuehlen. In der Milch einer der noch wenigen bangverseuchten Koehue wurden durch Meerschweinerversuch Bangkeime nachgewiesen, aber nicht in Reinkultur gebracht. Die diesbezuglichen Untersuchungen werden fortgesetzt.

Bestand 2. Aus dem Bestande 1 wurde am 11. 4. 1949 der 11 Monate alte Wildschweineber Nr. 847 zuegekauft, der das Leiden in die Herde einschleppte. Der Eber maechte bei seiner Einstellung einen vollaegenden Eindruck, muess aber „den Keim der Krankheit“ bereits in sich tragen, d. h. sich im Inkubationsstadium befinden haben. Dies ergibt sich einwandfrei aus den Deckergebnissen. Die

*) Ein mittlerer Agglutinationswert nach Diernhofer (6) von 70,75 entspricht einer Agglutination von 1:25 xxx, 1:50 xx, 1:100 x. In diesem Artikel werden der Einfachheit und der Genauigkeit wegen stets nur die mittleren Agglutinationswerte nach Diernhofer angegeben, wobei zu beachten ist, dass wir beim Schweine einen mittleren Agglutinationswert von 224 und darueber als stark positiv von 40,5 bis 223 als positiv, von 20,5 bis 40,4 als zweifelhaft ansehen. Agglutinationswerte von 10,6 bis 20,4 zeigen Spuren von Brucellaantikoerpern an.

von diesem Eber vom 20. 4. 1949 bis zum 20. 4. 1949 gedeckten 5 Sauen haben sämtlich aufgenommen, ausgetragen und gesunde, lebensfähige Ferkel zur Welt gebracht. Alle vom 30. 4. 1949, also 21 Tage nach der Einstellung, bis Mitte Mai 1949 gedeckten 4 Sauen verferkelten in der Zeit vom 20. 7. 1949 bis 25. 8. 1949, demnach etwa 13-16 Wochen nach dem Deckakte. Die anschließend am 26. 5. 1949, 27. 5. 1949 und 31. 5. 1949 von dem Eber gedeckten 3 Sauen wurden tragend und ferkelten am 16. 9. 1949, 17. 9. 1949 und 21. 9. 1949 normal ab. Die vom 5. 6. 1949 bis 23. 7. 1949 vom Eber 847 noch gedeckten 5 Sauen haben umgerauscht, sind nicht tragend geworden und wurden abgeschlachtet.

Der am 11. 4. 1949 in den Zuchtbestand 2 eingesetzte Weidenschweineber 847 erkrankte am 20. 7. 1949 an rechtsseitiger Hodenschwellung, als deren Ursache zunächst eine mechanische Verletzung angenommen wurde. Die Schwellung nahm aber sehr bald einen recht großen Umfang an (s. Abb. 1). Der Eber wurde am 7. 9. 1949 kastriert, die Hoden dem Tiergesundheitsamt eingesandt. Es ergibt sich somit die Tatsache, daß dieser Eber erst am 20. 7. 1949 klinisch sichtbar erkrankte, aber bereits bei den Deckakten vom 30. 4. 1949 bis Mitte Mai 1949 alle 4 Sauen ansteckte, dann kurze Zeit normal befruchtete, um dann völlig impotent zu werden.



Abb. 1

Schwere Hodenschwellung des Ebers 847



Abb. 2

Schwere Hodenschwellung des Ebers 5

Der Weidenschweineber 847 steckte nun mittelbar den Edelschweineber Nr. 5 des Bestandes an. Die vom Eber 847 am 5. 6. 1949 gedeckte Sau 93 rauschte am 9. 8. 1949 um und wurde an diesem Tage dem Edelschweineber Nr. 5 zugeführt. Dieser Eber erkrankte am 30. 8. 1949, also nach 21 Tagen an einer schweren linksseitigen, dann auch rechtsseitigen Hodenschwellung (s. Abb. 2). Gleichzeitig war etwa 3 Tage lang das Allgemeinbefinden schwer gestört, der Eber lag dauernd und fraß kaum. Er wurde am 20. 9. 1949 kastriert; auch die Hoden dieses Ebers wurden dem Tiergesundheitsamt eingeschickt. Bei einigen Sauen waren Lähmungserscheinungen in der Nachhand festgestellt worden, die einige Tage so stark waren, daß z. T. die Notschlachtung erwogen wurde; diese Erscheinungen verschwanden aber dann allmählich. Aus dem Bestande, in welchem Abortus-Bang-Impfstoffe nicht zur Anwendung gebracht waren, wurden dem Institut am 2. 9. 1949 61 Schweineblutproben zur Untersuchung auf „Abortus Bang“ eingesandt. Von ihnen reagierten 29 positiv, darunter 9 stark (mittlere Agglutinationswerte zum Teil 283,0), 4 zweifelhaft; 13 Proben zeigten Spuren von Antikörpern und 13 Proben reagierten vollkommen negativ. Es stand somit fest, daß die Brucellose auch in diesem Bestande eine sehr starke Ausbreitung gefunden hatte, wenn auch die Zahl der beobachteten Fälle von Verferkeln bis zum 4. 10. 1949 nicht so groß war wie im Bestande 1.

Die Feststellung dieser Brucellose, ganz gleich, welcher Art sie sein mochte, in zwei großen Zuchtschweinebeständen ließ keinen Zweifel über die der deutschen Schweinezucht hier drohende außerordentliche Gefahr. Diese Seuche mußte im Keime ausgerottet werden, ehe sie sich einnistete und evtl. zu einer Ausbreitung wie 1929-1932 in Dänemark führte oder vielleicht sogar zu einer Geißel der Schweinezucht wurde wie in den USA. Die Bekämpfung des Abortus Bang des Rindes hat ja auch in Deutschland zur Genüge die Schwere dieses Kampfes und die Größe der Verluste gezeigt. Es mußte auch von vornherein

angenommen werden, daß nur tatkräftige veterinärpolizeiliche Maßnahmen die sofortige Tilgung dieser neuen Zuchtseuche sichern konnten. Deshalb teilte die Landwirtschaftskammer Hannover unter dem 14. 10. 49 die Feststellungen ihres Tiergesundheitsamtes der Veterinärverwaltung beim Niedersächs. Ministerium f. Ern., Landw. u. F. mit und brachte die sofortige Anwendung folgender Bekämpfungsmaßnahmen in Vorschlag:

1. Einführung der Anzeigepflicht für jeden Fall einer Brucellainfektion beim Schweine.
2. Verkehrs- und Nutzungsbeschränkungen, darunter auch vorübergehende Decksperrung über jeden von der Brucellose ergriffenen Zuchtbestand, evtl. Abschachtung und staatl. Entschädigung aller infizierten Bestände bzw. Schweine.
3. Gesundheitliche Überwachung der Deckeier und der großen Zuchtbetriebe in den von Brucellose beim Schweine ergriffenen Gegenden.
4. Blutuntersuchung auf Brucelloseinfektion aller zur Schlachtung kommenden Schweine in verseuchten Gegenden.
5. Verbot der Impfung von Schweinen mit Brucella-Impfstoffen, um die Tilgungsmaßnahmen nicht zu erschweren.
6. Unsichere Beseitigung aller ausgestoßenen Früchte und der Abgänge bei Fehl- und Frühgeburten, Desinfektion der Stallungen usw.

Das Tiergesundheitsamt hielt es aber für angebracht, wenigstens bis zum Erlassen dieser veterinärpolizeilichen Bestimmungen seine begonnenen Feststellungs- und Forschungsarbeiten über die neue Seuche fortzusetzen und fand hierbei wirksame Unterstützung bei den Schweinezüchtern und deren Organisationen, welche die Notwendigkeit der sofortigen Ausrottung des Leidens sogleich einsahen und ihre Mitwirkung zusagten. Es dürfte von Interesse sein, hier kurz noch einige weitere Fälle mitzuteilen.

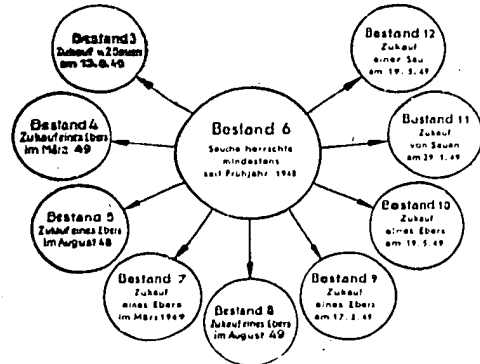
Bestand 3. In einem größeren Schweinezuchtbestande wurde seit Winter und Frühjahr 1949 ein schlechteres Aufnehmen der Sauen beobachtet, die oft umräuschten; dagegen wurden Fälle von Verferkeln oder sonstige klinische Erscheinungen bei den Sauen und Ebern nicht wahrgenommen. Als Ursache der schlechten Fruchtbarkeit wurden Fütterungs- und Haltungsfelder angesehen, die man nun abzustellen sich bestrebt. Der mit den entstandenen Verlusten unzufriedene Besitzer vermutete ein ansteckendes Leiden, und da unter den Rindern das seuchenhafte Verkalben herrschte, wurde am 20. 9. 1949 von einer nichttragenden Sau die Blutprobe eingesandt, welche einen Agglutinationswert von 79,75 zeigte. Daraufhin wurden am 6. 10. 1949 dem Tiergesundheitsamt 23 Schweineblutproben eingeschickt, von welchen 9 positiv, 9 zweifelhaft und 5 negativ reagierten. Es wurde dem einsendenden Tierarzt und dem Besitzer die Müstung und Abschachtung aller Zuchtschweine empfohlen, was inzwischen auch geschehen ist. In diesen Zuchtbestand waren vom 15. 8. 1949 bis 23. 2. 1949 7 Zuchtsauen und 2 Zuchteber eingesetzt worden. Die Einschleppung der Seuche muß mit der Einstellung von 2 Zuchtsauen am 15. 8. 1949 aus dem Bestande 6 erfolgt sein.

Bestand 4. In dem mittelgroßen, erstklassigen Zuchtbetrieb waren im Mai 1949 15 Zuchtsauen und im ganzen 70 Schweine einschl. der Ferkel vorhanden. Ende März 1949 wurde der Deckeier 2484 aus dem Bestande 6 zugekauft; andere Zukäufe hatten sonst nicht stattgefunden bis auf den Erwerb des Zuchtebers 5 im April 1949, gleichfalls aus dem Bestande 6. Dieser Eber 5 muß noch gesund und nicht ansteckungsfähig gewesen sein. Der Eber 2484 deckte von Mitte April ab 7 Jungsaunen, von denen sechs 4-14 Wochen nach dem Deckakte verferkelten. Im Juli 1949 sollen Blutproben an eine tierärztliche Untersuchungsstelle eingeschickt sein, wo eine Reihe von Proben eine positive Reaktion aufwies. Der Eber 2484 erkrankte im Mai 1949 unter starken Lähmungserscheinungen, die auf die Verfütterung von amerikanischem Mais zurückgeführt wurden. Aber auch die Sauen zeigten ein eigenartiges Lahmgehen, wobei nur die Zehen belastet wurden. Am 5. 11. 1949 sollen in der bereits erwähnten tierärztlichen Untersuchungsstelle in der Agglutinationsprobe 30 Schweine bis 1:100, 5 bis 1:50 und 2 bis 1:25 reagiert haben. Am 9. 11. 1949, als der Besitzer den Rat unseres Institutes

einholte, waren in der Herde u. a. noch 13 hochtragende Jungsaugen vorhanden, deren normales Abferkeln in einigen Wochen zu erwarten war. Der Besitzer entschloß sich aber überraschenderweise, den ganzen, sehr wertvollen infizierten Zuchtbestand einchl. der hochtragenden Jungsaugen sofort der Schlachtung zuzuführen. Bei der am 12. 12. 1949 im Tiergesundheitsamte vorgenommenen Blutuntersuchung von 11 Proben wurden positive Reaktionen nicht mehr festgestellt. Durch Verkauf des Zuchtebers C 2414 aus diesem Bestande im April 1949 ist höchstwahrscheinlich das Leiden in den großen Zuchtbestand in A. verschleppt worden, über den hier nähere Angaben nicht mehr gemacht werden konnten.

Bestand 5. In den durchschnittlich aus etwa 5 eingetragenen und 10 Jungsaugen sich zusammensetzenden Zuchtbestand wurde im August 1948 1 Eber aus dem Bestande 6 eingestellt. Von Oktober bis November 1948 verferkelten 7 Saugen, was aber zunächst nicht bemerkt wurde, sondern erst, als die Saugen kurz vor dem Abferkeln wieder umrauschen. Nun wurden von den Saugen einem Institut Blutproben zur Untersuchung eingesandt, die aber negativ ausgefallen sein sollen. Im Mai 1949 wurde eine Sau von einem Eber des Bestandes 4 gedeckt; sie verferkelte nach 5-6 Wochen. Die am 12. 12. 1949 im Tiergesundheitsamte ausgeführten Blutuntersuchungen ergaben, daß von 21 Proben 8 stark positiv (Agglutinationswerte 293,0 bis 566,0), 4 Proben positiv, 2 zweifelhaft und 8 Proben vollkommen negativ reagierten. 1 Probe enthielt Spuren von Antikörpern. Der Bestand war also noch stark verseucht. Der Rinderbestand des Gehöftes war mit Abortus Bang behaftet.

Bestand 6. In diesem mittelgroßen Zuchtbestande sollen von Frühjahr 1948 bis Frühjahr 1949 Saugen verferkelt haben. Blutuntersuchungen seien in anderen Instituten ausgeführt worden sein, der Rinderbestand soll abortusfrei sein. Aus der Zuchtherde wurde eine Reihe von Ebern und Saugen abgegeben, was zur Verbreitung der Seuche führte. Hierüber liegen keine lückenlosen Unterlagen vor; immerhin ergibt sich folgende Übersicht:



Aus dem Bestande wurden am 10. 2. 1950 dem Tiergesundheitsamte 40 Schweineblutproben eingesandt, von denen 8 positiv und 2 zweifelhaft reagierten; von den uns am 22. 2. 1950 aus dem gleichen Bestande eingesandten 10 Blutproben reagierten 8 positiv und 1 zweifelhaft.

Bis zum 8. März 1950 stellten wir fest, daß die Seuche durch Verkauf von Zuchtschweinen unmittelbar oder mittelbar in 5 weitere Bestände eingeschleppt wurde; in 3 dieser Bestände kam es nicht zu einer weiteren Ausbreitung des Leidens. Die eingestellten Schweine reagierten positiv, zweifelhaft oder enthielten Spuren von Antikörpern.

Bestand 7. Aus diesem Bestande wurden dem Tiergesundheitsamte am 18. 11. 1948 vier und am 2. 1. 1950 erneut 7 Blutproben eingesandt, von denen 9 positiv (Agglutinationswerte 70,75 bis 293,0) und zwei negativ reagierten. Die Seuche wurde in diesen Bestand durch den Ankauf eines Ebers im März 1949 aus dem Bestande 8 eingeschleppt. Da der zugekaufte brucellainfizierte Eber auch Saugen der Nachbarschaft gedeckt hatte, wurden, wie durch Blutuntersuchung festgestellt wurde, auch von diesen 3 infiziert.

Bestand 8. Am 5. 12. 1949 holte sich ein Schweinezüchter außerhalb des Landes Niedersachsen beim Tiergesundheitsamte Rat über Bekämpfungsmaßnahmen der in seiner Herde aufgetretenen Brucellose und bat insbesondere um Stellungnahme zu dem ihm von tierärztlicher Seite gemachten Vorschlage einer Bekämpfung des Leidens mit lebenden Kulturen bei den noch nicht infizierten und noch nicht geschlechtsreifen Jungsaugen. Dem Besitzer wurde der Rat erteilt, von der Anwendung von Brucellainpfstoffen vollständig Abstand zu nehmen, da hierdurch die Ausrottung der Seuche erschwert würde, und ferner angeraten, der zuständigen Veterinärpolizei von dem Tatbestand Kenntnis zu geben, was auch geschehen ist. Die Einschleppung der Seuche geschah durch den Ankauf eines Altebers im August 1949 aus dem Bestande 6. Wenige Wochen später trat bei einzelnen Tieren Lahmheit, zumeist an einem Hinterbein ein; dann verwarf eine Sau, was zunächst unbeachtet blieb. Auf Anraten von befreundeten niedersächsischen Schweinezüchtern ließ der Besitzer die Blutproben der Zuchtschweine untersuchen mit dem Ergebnis, daß die Hälfte des Schweinebestandes positiv reagierte. Der Besitzer entschloß sich, sofort die ergriffenen Schweine abzuschlachten.

Bestand 9. Am 20. 12. 1949 sandte der Tierarzt K. 2 Blutproben von den Ebern „Hans“ und „Peter“ mit dem Bericht ein, daß von den 10 Saugen des Bestandes 1 verworfen hätte und die restlichen 9 Tiere dauernd umgelauscht hätten. Die Blutprobe des Ebers „Hans“ zeigte einen mittleren Agglutinationswert von 141,5 und die des Ebers „Peter“ von 70,75. Von der Einsendung von Blutproben der gedeckten Saugen wurde Abstand genommen, da sie sofort geschlachtet werden sollten. Die Einschleppung des Leidens war durch den Ankauf eines der beiden Eber aus dem Bestande 6 am 17. 3. 1949 erfolgt. Von Ebern des Bestandes 9 wurden nun auch Saugen in anderen Gehöften gedeckt und angesteckt, so auch in dem Bestande W. Aus diesem wurde dem Tiergesundheitsamte am 25. 1. 1950 ein Ferkelfetus eingesandt, aus welchem durch den Meerschweinchenversuch die ursächliche Brucella suis am 28. 2. 1950 in Reinkultur gewonnen werden konnte.

Der zuständige Schweinezüchterverband ließ nun von allen über 3 Monate alten Zuchtsaugen seiner Mitglieder Blutproben auf Brucellose im Tiergesundheitsamte untersuchen. Das Ergebnis bis zum 15. 3. 1950 war, daß von 118 untersuchten Herden in 89 Beständen alle Blutproben negativ reagierten; in 29 Beständen waren positive Reaktionen vorhanden, und zwar reagierten 196 Proben positiv, 55 Proben zweifelhaft, 329 Proben negativ. Weitere Blutproben aus 12 Beständen wurden in anderen Instituten untersucht. Davon waren 17 Proben aus 12 Beständen positiv, 5 zweifelhaft und 255 negativ. Nach den bisherigen Feststellungen hat es sich um zwei voneinander unabhängige Infektionsquellen gehandelt (Bestände 1 und 6).

Faßt man die bisher beobachteten und oben z. T. bereits mitgeteilten klinischen Erscheinungen zusammen, so bestanden sie in Fehl- und Frühgeburten, Umräuschen, Nichttragendwerden, Lahmheiten, insbesondere auf den Hinterbeinen, vorübergehende Störung des Allgemeinbefindens, wie Festliegen, Appetitmangel; bei Ebern wurden schwere Hoden- und Nebenhodentzündungen wahrgenommen. Alle diese Merkmale sind nach den Erfahrungen in den USA. und in Dänemark der Brucellose suis eigen. Andere seltener auftretende, diesem Leiden eigentümliche Erscheinungen, wie Erkrankungen der Sehenscheiden, Spondylitiden, Nekrose der Zwischenwirbelscheiben, Knochenbrüche und Abmagerung wurden nicht wahrgenommen, was nicht ausschließt, daß sie bei diesem Seuchengange hier und da aufgetreten sein können.

Recht dürftig sind die bisher festgestellten pathologisch-anatomischen Veränderungen, da Organe brucellainfizierter, geschlachteter Schweine, insbesondere die Geschlechtsapparate einschließlich der Uteri, nicht zur Untersuchung kamen.

Wichtig war aber, daß dem Tiergesundheitsamte die stark veränderten Hoden der beiden schwer erkrankten Eber des Bestandes 2 zur Untersuchung eingesandt wurden, und zwar deshalb, weil so Gelegenheit gegeben wurde, die ursächliche Brucellaart zu gewinnen. Die Hodenveränderungen selbst stellten nichts Neues dar. Es handelte sich um längst bekannte destruktive Veränderungen, die von allen drei Brucellatypen verursacht werden können, besonders oft allerdings von der Brucella suis. Ich gebe daher nur eine ganz kurze Beschreibung.

Der rechte Hoden des Weideschweinebers 847 (s. Abb. 3) war zwar noch vergrößert, befand sich aber bereits im letzten Stadium der Erkrankung, dem der Atrophie mit völligem Untergang des eigentlichen Hodengewebes und dessen Ersatz durch festes, schwer schneidbares Bindegewebe. Der stark vergrößerte, höckerige Nebenhodenkopf enthält erbsen- bis haselnußgroße Abszesse mit rahmartigem Inhalt, in welchem mörtelartige, nekrotische

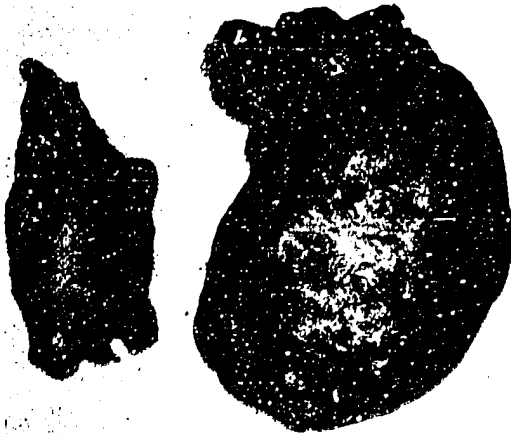


Abb. 3
Rechter Hoden des Ebers 847
a) unaufgeschnitten, b) Schnittfläche



Abb. 4
Linker Hoden des Ebers 847

Klumpen lagen. Der linke sehr stark vergrößerte Hoden dieses Ebers (s. Abb. 4) wog 1345 Gramm, wies eine sehr stark verdickte, mit dem Hoden fest verwachsene Tunica vaginalis auf, von der dicker Faserewebszüge in das Innere zogen; das eigentliche Hodengewebe war noch erkennbar, aber mit bis haselnußgroßen Kavernen durchsetzt, die rahmigen Eiter und Detritusmassen enthielten. Auch in dem stark vergrößerten und wandverdickten Nebenhoden waren ähnliche, eitrig eingeschmolzene Nekroseherde und Abszesse vorhanden.

Bei dem Edelschweineber 5 zeigte der stark vergrößerte rechte Hoden, der 1985 Gramm wog, auf der ganzen Schnittfläche (s. Abb. 5) das Bild einer viertelrunden trockener Nekrose mit tuberkuloseähnlichem Aussehen, während der Nebenhodenkopf verdickt und mit nekrotischen, z. T. eingeschmolzenen Herden durchsetzt war. Der linke Hoden und Nebenhoden wiesen dagegen nur geringgradige Veränderungen auf.

Hochwahrscheinlich haben bei diesen beiden Ebern noch andere Veränderungen, besonders an den Geschlechtsanhangsdrüsen, wie den Samenblasen, bestanden. Dies festzustellen, bestand keine Möglichkeit.

Der Nachweis der ursächlichen Brucellen aus den Hoden der beiden Eber gelang nicht im Ausstrichpräparat und durch das Kulturverfahren, sondern nur über den Meerschweinerversuch. Von dem mit Material des Hodens und Nebenhodens des Ebers 847 geimpften zwei Meerschweinchen zeigte nur ein Versuchstier Agglutinine im Blute, die mit dem gleichen Material des Ebers 5 geimpften 8 Meerschweinchen sämtlich bereits nach 3 Wochen. Zum Teil recht typisch waren die nach der Tötung der Meerschweinchen festgestellten Veränderungen an den Organen, besonders an den Hoden und in der Milz. Die Hoden waren nämlich stark vergrößert und enthielten mohnkorn- bis kleinerbsengroße, graugelbe Herde, die z. T. eingeschmolzen waren und einen dicklichen Eiter aufwiesen (s. Abb. 6). Die Milzen waren durchweg vergrößert und mit bis stecknadelkopfgroßen, grauen, vorgewölbten Follikelherden durchsetzt; auch in der Leber fanden sich z. T. graugelbe, miliare Herde in mäßigen Mengen. Bei einem Meerschweinchen waren auch die Nebennieren stark vergrößert.

Bei diesen typischen hochgradigen Veränderungen war es eine große Überraschung, daß der kulturelle Nachweis der Brucellen Schwierigkeiten machte und nur bei einem geringen Teil der Meerschweine gelang, was bei Banginfektionen dieser Versuchstiere bisher so gut wie immer der Fall war. Es wurde also die gleiche Beobachtung gemacht, wie sie auch von anderen Forschern, so z. B. von Rudolf, berichtet wurde. Als Hauptursache des relativ geringen Aufganges von Brucellakolonien bei der Eratzüchtung aus dem Meerschweinchenkörper wurde bald von uns der Zusatz von Malachitgrün und Gentianaviolett zur 10prozentigen Serumglyzerinagarplatte erkannt. Die Brucellen wuchsen von vornherein rein aerob ebenso gut oder sogar besser als in einer Atmosphäre mit Kohlensäurezusatz. Beide Stämme ließen sich auf gewöhnlichem 3%igen Glycerinagar ohne Schwierigkeiten fortzüchten; sie wuchsen sogar ziemlich üppig. Da war es wieder eine Überraschung, daß der Stamm des Ebers 847 bei seiner Weiterzüchtung schon nach 2 bis 3 Wochen nicht weiterwuchs, also eingegangen war. Die gleiche Feststellung machte ein anderes Institut, das diesen Stamm am 19. Nov. 49 von uns erhalten hatte und ihn am 5. 12. 49 nicht weiterzüchten konnte. Bei dem aus dem Eber 5 gezüchteten Brucellastamm wurde diese Beobachtung eigenartiger Weise nicht gemacht. Jetzt bleiben beide Stämme bei Weiterzüchtungen 4 Wochen auf Agarnährböden am Leben. Sie bilden H₂S in etwa gleichen Grade wie unsere Bruc. ab. Bang-stämme und werden vom spez. Serum des Bundes und des Schweines ebenso gut agglutiniert wie Bangstämme. In Ausstrichpräparaten aus 5 Tage alten Bouillonkulturen sind die Brucellen vielfach in Haufen gelagert. Es kann keinem Zweifel unterliegen, daß es sich bei den aus den Hoden der beiden Eber in Reinkultur gebrachten Brucellastämmen um Suis-

typen handelt. Das gleiche trifft, wie jetzt bereits feststeht, auf den aus dem Ferkelfötus aus dem Bestande W. (s. Bestand 9) am 28. 2. 1950 gezüchteten Brucellastamm zu. Das Tiergesundheitsamt ist also im Besitze der ursächlichen Stämme aus beiden Infektionsquellen. Über die weiteren Eigenschaften der Stämme wird später berichtet werden.

Von außerordentlicher Bedeutung ist nun die Frage, wie das Auftreten dieser heimtückischen und die deutsche Schweinezucht stark gefährdenden

Entstehung genommen und waren typische Bangkeime; in anderen Fällen aber, wird ausdrücklich hervorgehoben, daß sie vom Schweine stammen. Bei den von Mießner und Köser berichteten Fällen handelte es sich um eine Brucellose mit der Tendenz der Weiterausbreitung, aber durch Erreger verursacht, welche die Kennzeichen der Bruc. ab. Bang trugen. Schon bei diesen Brucellainfektionen war genau so wie bei den von Steffens mitgeteilter Erkrankungen eine größere Gefährdung der Schweinebestände unverkennbar.



Abb. 5

Rechter stark veränderter und linker nur wenig veränderter Hoden des Ebers 5.

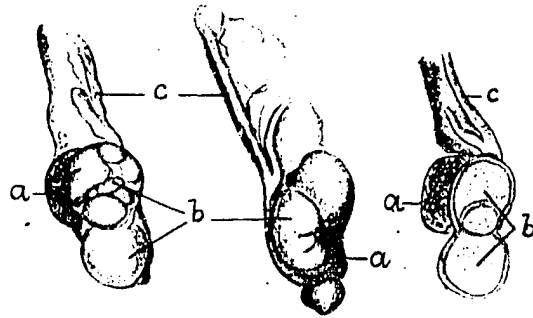


Abb. 6

Linker und rechter Hoden sowie Schnittfläche des linken Hodens vom Meerschweinchen mit Abszessen nach Infektion mit *Brucella abortus suis* aus Hoden des Ebers 5. Nat. Gr. a Hoden; b Abszesse; c Duct. deferens im Samenstrang.

Brucellainfektion zu erklären ist. Der nichtstiller Gedanke ist natürlich der einer Einschleppung aus dem Auslande. Thomson gab auf Grund umfangreicher Erhebungen und Erwägungen der Auffassung den Vorzug, daß die von 1929/32 in Dänemark erstmalig aufgetretene und stark verbreitete Suisinfektion aus den USA. eingeschleppt sein müsse, und zwar wohl durch die Einführung von Futtermitteln. Dabei war ihm bekannt, daß die Stämme aus den USA. sich von den dänischen unterscheiden, insbesondere durch die Bildung von H₂S und durch die geringe Pathogenität für den Menschen, die bei den amerikanischen Stämmen bekanntlich recht groß ist. Thomson hatte aber auf Grund der Studien von K. F. Meyer u. Zobel (58) über intermediäre Brucellastämme in den USA. die Möglichkeit erwogen, daß die dänischen Schweinebrucellastämme „innerhalb der Grenzen des Landes“ aus solchen intermediären Stämmen ihren Ursprung genommen haben. Er teilte auch eine sehr wichtige, von Andersen im Jahre 1925, also 4 Jahre vor Beginn der dänischen Suisenzootie gemachte Beobachtung mit. Dieser Forscher stellte nämlich in den Epithelzellen der Nachgeburt einer Sau, die verfeckelt hatte, die charakteristischen Brucellenhaufen fest und kulturell gleichzeitig eine *Brucella* mit dem bekannten zonalen Wachstum, also die *Brucella abort. Bang*. Die einige Tage später vorgenommene Untersuchung des Blutes der Sau fiel negativ aus. Hier lag also ein typischer Fall eines durch Bangkeime verursachten Verfeckens vor, von dem aber eine weitere Verbreitung des Leidens nicht ausging. Die Mitteilungen über die inmanern nicht ganz vereinzelt Banginfektionen bei Schweinen im Deutschen Reich, und zwar in den verschiedensten Gegenden desselben, in der Zeit von 1929 bis 1939 verdanken wir Mießner und seiner Rechtszentrale für die Bekämpfung der Aufzuchtkrankheiten. Diese Infektionen haben einmal direkt vom Rinde her ihre

Der Infektionsfaden riß aber glücklicherweise ab. Auch in Österreich waren in drei verschiedenen Jahren „Banginfektionen“ zu verzeichnen, welche z. T. größere Verluste hervorriefen, aber gleichfalls zum Erlöschen kamen. Die von Bianchini und Mirri mitgeteilten „Bangfälle“ bei Schweinen in der Lombardei unterscheiden sich von typischen Suisinfektionen nicht. Bianchini hat sehr richtig die Ursache dieser Erkrankungen erkannt, wenn er die Ansicht vertritt, daß nur gewisse Bangstämme mit einer besonderen Virulenz Schweine krank zu machen vermögen. Um eine solche porcine Varietät der *Brucella ab. Bang* muß es sich auch in den in der Schweiz von Frei und besonders von Saxer mitgeteilten Fällen gehandelt haben, die mit typischen „Suisinfektionen“ völlig übereinstimmen, ja direkt charakteristisch dafür waren. (Wirbelscheibennekrose.) Genau so ist es mit den „Banginfektionen“ bestellt, von denen Makkajewsky und Mitarbeiter aus Weißrußland berichten. Für Ungarn muß man nach den vorliegenden Mitteilungen von Marcsis und Manning annehmen, daß neben ausgesprochenen Suisinfektionen auch Infektionen mit mehr oder weniger echten Bangstämmen, die natürlich auch wieder auf das Rind übergehen und krank machen können, oft auftreten. Eine scharfe Grenzziehung wird oft gar nicht möglich sein. Man darf auch hierbei nicht verkennen, daß alle Unterscheidungsmerkmale zwischen *Brucella abortus Bang* und *Bruc. suis* nur gradueller, nicht aber prinzipieller Art sind. Es ist daher eine oft sehr mißliche Sache, eine Typendifferenzierung auf solchen unterschiedlichen Merkmalen aufzubauen, die obendrein nicht immer bestehen bleiben, also vorübergehender Natur sind. Man muß auch bestimmt damit rechnen, daß die porcinen Bangstämme, also Stämme, welche vom Rinde kommen, im Schweinekörper sesshaft und dann krank-

machend wurden, aus den verschiedensten Gegenden und Ländern durchaus nicht immer föhlig in ihren bakteriologischen Eigenschaften übereinstimmen werden. Man prüfe sie daher eingehend gleich nach ihrer Erstzüchtung aus dem Schweinekörper. Zweifellos sind die Unterschiede in der Pathogenität bei den drei Brucellatypen weit größer, als dies bislang bekannt gewordene bakteriologische Unterschiede in den Kulturen zum Ausdruck bringen (21).

Die USA. sind ohne Frage das klassische Land der Suisinfektionen. Das geht soweit, daß man eine Infektion bei Schweinen durch Bangkeime seit Jahren überhaupt in Abrede stellt, da eine solche Infektion unter natürlichen Bedingungen noch nie nachgewiesen sei. Daß die Brucella suis dagegen gelegentlich auf Rinder überzugehen vermag, weniger um Fehl- und Frühgeburten hervorzurufen, als mit der Milch der infizierten Kühe ausgeschieden zu werden, ist allerdings nicht selten wahrgenommen worden. Nun sind aber im letzten Jahre auch in diesem Lande in kurzer Zeit wiederholt aus Schweinen verschiedener Bestände typische Bangkeime gezüchtet worden. Was liegt näher als die Annahme, daß bei der gewaltigen Ausbreitung der Suisinfektion in diesem Lande die Schweine in der Regel durch die Brucella suis infiziert werden, daß aber daneben in selteneren Fällen sich aus der Brucella ab. Bang auch porcine Varietäten dieses Erregers von neuem entwickeln, was sich aber bisher dem Nachweis entzog. Dabei wird auch bei der typischen Suisinfektion in diesem Lande immer wieder die Tatsache betont, daß sie „a self limiting disease“ ist, was allerdings nicht gehindert hat, daß sie alljährlich einen Schaden von über 100 Millionen Dollar verursacht. Das Wort „a self limiting disease“ will also richtig verstanden sein, es bezieht sich in der Hauptsache auf den ergriffenen Bestand oder die Gemeinde, weniger auf die Seuche im ganzen.

Zusammenfassend läßt sich somit sagen, daß die Brucella ab. Bang im allgemeinen bei Schweinen nicht oder nur schwer haftet. Kommt es aber bei starker Aufnahme dieser Erreger oder aus anderen, vielleicht noch unbekanntem Gründen doch dazu, so kann sich, wenn auch wiederum nicht immer, im Schweinekörper eine porcine Varietät mit zunehmender Virulenz für das Schwein und mit abweichenden biologischen Eigenschaften entwickeln, die dann bald mit der Bruc. suis identisch wird. Bei dieser Sachlage wäre es durchaus vertretbar, wenn auch zunächst nicht unbedingt notwendig, den Begriff der Brucella suis überhaupt fallen zu lassen und nur von einem porcinen Typ der Bruc. ab. Bang zu sprechen. Wir wären dann ungefähr wieder da angekommen, wo wir uns bei den ersten Feststellungen des seuchenhaften Verferkelns durch Brucellen, also 1909 in Ungarn, 1913 in den USA, und 1916 in Deutschland befanden, und wo wir einfach von festgestellten Banginfektionen beim Schweine sprachen. Für die Annahme, daß es nun außer einer porcinen Varietät der Brucella ab. Bang auch eine porcine Varietät der Bruc. mel. gibt, reichen die bislang vorliegenden Mitteilungen (Nordkaukasus, Südfrankreich) nicht aus, mit einer solchen Möglichkeit muß aber durchaus gerechnet werden.

Die Tatsache, daß sich aus der Bruc. ab. Bang jederzeit, wenn auch sicherlich relativ selten, im Körper des Schweines eine porcine Varietät entwickeln kann, ist natürlich von großer praktischer Bedeutung, was hier nur angedeutet zu werden braucht. Makajewsky und Mitarbeiter wendeten sich auf Grund ihrer Erfahrungen mit Recht gegen die Überzeugung vieler prakt. Tierärzte^{*)}, daß der infektiöse Abortus der Rinder für die Schweine überhaupt nicht gefährlich ist, und daß man deshalb irgendwelche Maßnahmen gegen die Infektionen der Schweine mit dem Erreger des seuchenhaften Verferkelns nicht zu treffen braucht. Es muß vielmehr selbstverständlich sein, Schweine am Auf-

fressen von Föten und Nachgeburten, am Wühlen im Mist des Rinderstalles zu hindern, sowie die Verfütterung von unerhitzter, bangkeimhaltiger Milch, Magermilch und Molke zu unterlassen.

Es kann ferner nicht nur unsere Aufgabe sein, die jetzt in Westdeutschland bestehende Suisinfektion völlig auszurotten, was bei der tatkräftigen Mitwirkung der Schweinezüchter ohne besondere Schwierigkeiten recht bald gelingen dürfte, sondern es müssen künftig auch alle im Entstehen begriffenen porcinen Banginfektionen erkannt und unschädlich gemacht werden. Was jetzt in Deutschland in den Schweinebeständen sich ereignet hat und relativ spät erkannt ist, hätte auch schon früher eintreten können, so insbesondere bei den von Mießner und Köser sowie von Steffens beschriebenen Fällen. Dasselbe kann sich natürlich auch in Ländern mit stärkerer Banginfektion des Rindes, aber ohne bisherige Erkrankungen beim Schweine, wie in England, Holland, Belgien usw., jederzeit zutragen^{*)}. Die Suisinfektion läßt sich zu Beginn und selbst bei mäßiger Ausbreitung ausrotten, wofür nicht nur Dänemark, sondern auch die Schweiz und andere Länder Belege bilden. Ungarn und die USA. sind ihr aber nicht mehr Herr geworden.

Nicht immer leicht wird beim Nachweis von Brucella-Antikörpern im Blute von Schweinen die Entscheidung sein, ob ein veterinärpolizeiliches Eingreifen notwendig ist oder nicht. Die Brucella-Antikörperbildung erfolgt beim Schweine anders als beim Rinde, besonders nicht so frühzeitig, ja oft recht spät. Die einzelnen Forscher haben hierüber unterschiedliche Erfahrungen gemacht, wie z. B. Marcsis in Ungarn und Steffens in Deutschland einer- und Rudolf in Osterreich andererseits. Die Unterschiede beruhen z. T. darauf, daß erst bei stärkerer Vermehrung der Brucellen im Körper und bei Durchbruch der beim Schwein besseren Schutz bietenden lymphatischen Schranken die Antikörper im Blute auftreten oder höhere Werte annehmen. Dann wird die Diagnose leicht und sicher. Werden aber nur geringe Mengen von Suiskeimen aufgenommen und bleibt die Infektion örtlich und auf die Lymphknoten beschränkt, so sind die Antikörper im Blute nicht oder nur in geringen Mengen vorhanden.

Das geht aber noch weiter. In dem von Steffens (47) mitgeteilten Falle reagierten die Sauen trotz der eingetretenen Fehlgeburten und sonstigen klinischen Erscheinungen monatelang völlig negativ, um erst bei der dritten Blutuntersuchung positive Reaktionen zu zeigen. Nach der Aufnahme von echten Bangkeimen dürfte aber die Antikörperbildung oft noch unsicherer werden. In wievielen Fällen mögen demnach wohl in der Praxis bei Auftreten von Fehl- und Frühgeburten oder von Umräuschen bei Sauen Brucellainfektionen vorgelegen haben, trotzdem die Blutuntersuchung negativ ausfiel und der Verdacht darauf damit als beseitigt galt! Wer nahm in solchen Fällen wiederholte Blutuntersuchungen vor?

Wäre das Haften der echten Bangkeime und das Auftreten von spezifischen Antikörpern nicht so schwer, so müßten bei planmäßigen Untersuchungen der Blutproben von in stark bangverseuchten Gegenden gehaltenen Schweinen Antikörper oft nachgewiesen werden. Das ist aber nicht der Fall. Es muß aber zugegeben werden, daß hierüber planmäßige Untersuchungen in Deutschland in nicht hinreichendem Umfang ausgeführt wurden. Das wird nachgeholt werden müssen. Im Tiergesundheitsamt Hannover wurden im Januar/Februar 1950 auf Schlachthöfen entnommene Schweineblutproben auf Brucellaanti-

^{*)} Während der Drucklegung erfuhr ich, daß im Jahre 1942, also 10 Jahre nach der Tilgung der Suisinfektion, wieder ein Fall von Brucellose bei Schweinen in Dänemark festgestellt wurde. Auch er dürfte wohl von neuem aus der Brucella abortus Bang des Landes seinen Ursprung genommen haben und mit der seit 10 Jahren erloschenen Suisinfektion in keinem ursächlichen Zusammenhang gestanden haben.

Körper untersucht; von 180 Proben reagierten 178 negativ, nur 2 zeigten Spuren von Antikörpern. Es interessieren hier die Mitteilungen von Thomsen aus Dänemark, der aus Gegenden, in denen die Suisinfektionen nicht aufgetreten war, 817 Blutproben von Schlachtsauen und Ebern untersuchte. Von ihnen agglutinierten 50 Proben bis zur Verdünnung von 1:20 und 2 bis 1:50. Thomsen hält solche Agglutinationswerte und selbst noch bis 1:100, wenn sie bei Schweinen aus für die Suisinfektion völlig unverdächtigen Beständen festgestellt werden, für unspezifisch. Melnes Erachtens dürfte es sich hierbei aber kaum einmal um unspezifische Reaktionen, sondern um auf der Aufnahme von Bangkeimen beruhende, spezifische Bangagglutinine gehandelt haben. Das gleiche gilt von den von Doyle (57) mitgeteilten Agglutinationswerten bei Schweinen in England.

Bei dieser Sachlage werden sich für die Veterinärpolizei bei Feststellung von Brucellaantikörpern im Blute von einem oder einigen Schweinen eines Bestandes ergänzende Untersuchungen (Wiederholung der Blutuntersuchung, klinische Erscheinungen, Seuchelage der Gegend usw.) oft nicht vermeiden lassen. Große Schwierigkeiten für die Tilgung dürften hieraus aber nicht entstehen, zum Glück ist die Suisinfektion „a self limiting disease“.

Ist nun, wie gezeigt wurde, die Brucellose suis ein zuerst zu Beginn des 20. Jahrhunderts aufgetretener Sprößling aus der Brucella ab. Bang, so drängt sich sofort die Frage auf, in welchem verwandtschaftlichen Verhältnis die Bruc. ab. Bang zu der Bruc. mel. steht. Nun, die Bruc. ab. Bang wird die Tochter der Bruc. mel. sein, die schon Hypokrates gekannt haben soll. Diese Frage ist aber schwieriger zu beantworten und vielleicht auch noch nicht ganz spruchreif. Es spricht aber vieles dafür, daß es sich bei der Bruc. ab. Bang um einen nach kälteren Zonen Europas verschleppten Melitensiskeim handelt, der bei der verstärkten Rinderhaltung in der 2. Hälfte des 19. Jahrhunderts im Rinderkörper spez. Eigenschaften annahm und zum

klassischen Verkälberer wurde, wobei er über seine Pathogenität für den Menschen und andere Haustiere (Pferd, Schwein usw.) nicht völlig einbüßte.

Zusammenfassung.

1. Es wird über das Auftreten einer als Enzootie verlaufenen Brucellose bei Schweinen berichtet, die unter den Erscheinungen der Suisinfektion verlief, und deren Erreger die Eigenschaften der Brucella suis aufwies.

2. Diese Brucellose ist nicht aus dem Auslande eingeschleppt worden, sondern hat aus der Brucellose ab. Bang des Inlandes ihre Entstehung genommen. Die einzelnen Phasen des Überganges der Bruc. ab. Bang in die Bruc. suis werden an Hand der in Deutschland und in anderen Ländern Europas aufgetretenen Fälle von Brucelloseerkrankungen bei Schweinen aufgezeigt. Die Brucella suis kann daher auch als porcine Varietät der Brucella ab. Bang aufgefaßt werden. Ob es außerdem eine porcine Varietät der Brucella mel. gibt, ist noch nicht erwiesen.

3. Die Tilgung der Brucellose suis ist zu Beginn ihrer Entstehung oder solange sie nur eine geringe Ausbreitung gefunden hat, in Deutschland und in allen Ländern mit einer gut organisierten Veterinärpolizei und bei verständnisvoller Mitarbeit der Schweinebesitzer ohne besondere Schwierigkeiten möglich. Hierbei darf die Tatsache, daß sie jederzeit aus der Brucellose ab. Bang hervorgehen kann, nicht unberücksichtigt bleiben. Die Mittel und Wege zur Tilgung der Brucellose suis sind bekannt; Schutz- und Heilimpfungen gegen das Leiden müssen unterbleiben.

4. Es wird die Vermutung ausgesprochen, daß die Brucellose ab. Bang im 19. Jahrhundert aus der Brucellose mel. ihren Ursprung genommen hat.

Schrifttum.

Das Schrifttum kann von Interessenten beim Verf. angefordert werden.

Sonderdruck

aus „Deutsche Tierärztliche Wochenschrift“, 58. Jahrg., 15. Okt. 1951, Nr. 39/40, u. 1. Nov. 1951, Nr. 41/42
 Verlag M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20 · Druck: Gebr. Gerstenberg, Hildesheim

Über die Notwendigkeit, die Beurteilung der Ergebnisse der serologischen Blutuntersuchung auf Brucella-Infektionen bei den Haustieren zu ändern

Von Prof. Dr. Karsten, Direktor des Tiergesundheitsamtes der Landwirtschaftskammer Hannover

Ohne Zweifel sind manche heute bestehenden Auffassungen über die Brucellose-Erkrankungen der Haustiere als überholt zu betrachten und daher entsprechend zu ändern. Die Notwendigkeit hierzu ist bei solchen Fragen, auf die sich die Bekämpfung oder gar die restlose Tilgung der Leiden aufbaut, naturgemäß am vordringlichsten. Was wäre aber für die Bekämpfung wichtiger als die möglichst frühzeitige und einwandfreie Erkennung derselben? Bei allen 3 Arten der Brucellose spielt für die Diagnose bekanntlich die größte Rolle die Blutuntersuchung, bei der die Agglutinationsprobe das wichtigste diagnostische Verfahren bildet. Sie wird hierzu in manchen Ländern, wie z. B. in den USA, sogar ausschließlich angewandt, in anderen an erster Stelle neben zusätzlichen serologischen Reaktionen, wie z. B. der Meinickeschen Kuppenreaktion in Deutschland.

Das mit den Blutproben von Rindern auszuführende Agglutinationsverfahren zur Feststellung der Brucellose abort. Bang ist seit Jahrzehnten Gegenstand der Erörterung und Aussprache gewesen, wozu in erster Linie die unterschiedlichen Ergebnisse an verschiedenen Untersuchungsstellen Anlaß gaben und auch heute immer noch geben. Der technische Teil, d. h. die Ausführung der Agglutinationsprobe, wurde in Deutschland durch die „Anweisung über die serologische Feststellung des seuchenhaften Verkälbers (Bang-Infektion des Rindes)“ des R.u.P.M.I. d. I. — IV Vet. 10480/2230/30 — vom 22. Dezember 1936 auf eine einheitliche Grundlage gestellt.* Weitere Mittel für eine einheitliche Ausführung der Agglutinationsprobe bildet die Anwendung eines standardisierten Trockenantigens nach Lerche und Roots (15), sowie nach Grau (23). Auch die von Stableforth (25) und von Willems (31) mitgeteilten weitgehenden Standardisierungsvorschläge dienen dem

* Während der Drucklegung erhielt Verf. durch einen Zufall davon Kenntnis, daß diese Anweisung durch einen Erlaß des R.M.d.I. (Ca 3134/44 233 e) v. 30. 6. 1944 abgeändert wurde. Dieser Erlaß oder die Abänderungen darin wurden nicht veröffentlicht und auch nicht den Tiergesundheitsämtern zugestellt. Das Grundsätzliche meiner Ausführungen wird durch den Erlaß v. 30. 6. 1944 nicht berührt.

Ziele, in allen Instituten die gleichen Untersuchungsergebnisse zu erhalten.

Die Technik der Ausführung der Agglutinationsprobe ist aber nur ein Teil des Problems. Selbst wenn alle Institute, welche dieselben Rinderblutproben mit völlig einheitlicher Technik untersuchen, zu den gleichen Ergebnissen gelangen würden, braucht damit noch nicht erreicht zu sein, daß diese Ergebnisse auch richtig sind. Es bestünde somit die Möglichkeit, eine Einheitlichkeit in der Abgabe unrichtiger serologischer Diagnosen zu erlangen. Hierfür ein Beispiel. Eine von einem Deckbullen entnommene Blutprobe wird 10 Instituten übersandt, die übereinstimmend eine negative Agglutination in der Verdünnung 1:50 feststellen. Gemäß der amtlichen Anweisung für die serologische Feststellung des seuchenhaften Verkälbers vom 22. Dezember 1936 würde dieses Ergebnis der Agglutinationsprobe als negativer Ausfall derselben anzusehen und herauszugeben sein. In Wirklichkeit aber kann bei dem fraglichen Bullen nicht nur eine Banginfektion vorliegen, sondern er kann sogar Ausscheider von Bangkeimen mit dem Sperma sein und die von ihm gedeckten Kühe anstecken. Bendixen (1) berichtet z. B. von einer Reihe von Bullen, die bei der künstlichen Besamung Verwendung fanden, durch ihr Sperma die Banginfektion auf viele Kühe in nicht wenigen Beständen übertrugen und Agglutinationstiter des Blutes nur von 1:40 aufwiesen, ja z. T. nur von 1:10. So zeigte ein Bulle, dessen Blut vom 25. Januar bis 19. Oktober eines Jahres mit Zwischenräumen von Wochen achtmal untersucht wurde, nie einen Agglutinationstiter von über 1:10; im Sperma dieses Bullen wurden wiederholt durch das Kulturverfahren und den Meerschweinchenversuch die Bruc. ab. Bang nachgewiesen. Solche und ähnliche Fehlurteile, auch bei weiblichen Rindern, können nun dadurch zustande kommen, daß die positive Agglutination überhaupt nicht ermittelt wird, weil sie nur in einem solch schwachen Verdünnungsgrade des Serums besteht, der bisher als unverdächtig angesehen und daher nicht in das Untersuchungsverfahren einbezogen wurde, oder dadurch, daß die vorliegende Agglutination zwar beobachtet und verbucht,

aber entsprechend den geltenden Bestimmungen falsch, d. h. negativ, ausgelegt wurde. Praktisch müssen beide Möglichkeiten darauf hinauslaufen, daß man künftighin die Agglutinationsprobe, wie das übrigens vielfach bereits geschieht, mindestens bei einer Serumverdünnung von 1:25 und bei Bullen sogar bei 1:10 beginnen läßt und das Vorliegen oder den Verdacht auf eine Brucella-Infektion schon bei geringeren Agglutinationswerten als bisher nachgewiesen ansieht.

Es ist damit erneut die alte Streitfrage nach den Grenzwerten einer positiven, einer zweifelhaften und einer negativen Blutsrumagglutination angeschnitten. Die Tatsache, daß im Blute banginfizierter Rinder Agglutinine auftreten und zu diagnostischen Zwecken Verwendung finden können, ist fast ebenso alt wie die Entdeckung des Erregers des Leidens selbst. Bang und Striebold, McFadyean und Stockman, Zwick und Zeller haben sich damit bereits vor 4 bis 5 Jahrzehnten befaßt. Aber noch im Jahre 1925 waren die Auffassungen über den positiven Grenztiter (2) bei den einzelnen Instituten äußerst verschieden und wurden teils mit 1:100, teils 1:200, teils 1:300 und teils sogar mit 1:400 angegeben, wobei die Art des Ablesens, die z. T. noch mit dem Agglutinoskop oder der Lupe erfolgte, eine Rolle mitgespielt hat. In Schlesien wies man in diesem Jahre von 220 auf die Versteigerung aufgetriebenen weiblichen Rindern 10 Stück zurück, da sie einen Blutagglutinationstiter von 1:200 hatten. Daß hierbei nur ein Bruchteil der banginfizierten Rinder erfaßt wurde, ist selbstverständlich. Auch die Tatsache, daß in dieser Zeit, gleichfalls in Schlesien, bei Bullen „ohne positive serologische Reaktion“ eine Ausscheidung von Bangkeimen mit der Samenflüssigkeit festgestellt wurde, kann bei dieser Auslegung der Agglutinationstiter nicht wundernehmen.

Der Erlaß der „Anweisung für die serologische Feststellung des seuchenhaften Verkälbens“ vom 22. Dezember 1936 legte bereits einen schärferen Maßstab an, indem bestimmt wurde:

1. Ein verneinendes Ergebnis liegt vor, wenn das Blutserum in der Verdünnung von 1:50 keine Agglutination der Testflüssigkeit bewirkt.
2. Ein zweifelhaftes Ergebnis liegt vor, wenn das Blutserum in der Verdünnung von 1:50 eine Agglutination der Testflüssigkeit bewirkt.
3. Ein bejahendes Ergebnis liegt vor, wenn das Blutserum in der Verdünnung von 1:100 oder in höheren Verdünnungen eine Agglutination der Testflüssigkeit bewirkt.
4. Zweifelhafte Agglutinationsergebnisse sind mit der Meinicke-Reaktion weiter zu prüfen. Das bejahende oder verneinende Ergebnis der Meinicke-Reaktion ist in diesen Fällen entscheidend.

In der gleichen Anweisung heißt es, daß als positiv zu werten sind Proben mit vollständiger Agglutination, d. h. solche, die grobe Flocken und völlige Klärung der Flüssigkeit zeigen (+ + + und + + + +), als zweifelhaft solche Proben, die in nicht völlig geklärter Flüssigkeit mit bloßem Auge deutlich erkennbare kleine Flocken aufweisen (+ und + +), während als negative Proben solche zu beurteilen sind, die in einer gleichmäßig getrübbten Flüssigkeit einen kleinen knopfartigen Niederschlag, der sich beim Schütteln auflöst, wahrnehmen lassen.

Wenn diese Beurteilung auch an sich nicht unrichtig ist, so gibt sie doch zu unterschiedlichen Ergebnissen in den einzelnen Instituten Anlaß und wird dem tatsächlichen Sachverhalt nicht gerecht. Blutproben, welche in einer bestimmten Verdünnung völlige Ausfällung der Bangkeime und totale Klärung der Flüssigkeit bewirken, zeigen in der nächst höheren nur einen teilweisen Niederschlag der Bangkeime, der zumeist noch erheblich ist, und in der nächstfolgenden zumeist einen geringeren, bis schließlich die Ausfällung ganz aufhört. Das Gefälle in der Agglutination kommt somit nicht hinreichend, wenn überhaupt zum Ausdruck,

wenn man sich auf die Bewertung einer Agglutinationsstufe beschränkt und nicht alle Stufen berücksichtigt, also eine Gesamtablesung und Beurteilung vornimmt. Wie soll z. B. eine Blutprobe mit den Agglutinationstiter

1	1	1	1	1
25	50	100	200	400
+++	++	+	±	-

bewertet werden? Nach der Anweisung vom 22. 12. 36 würde die vollständige Agglutination zugrunde zu legen sein, also die bei 1:25 und evtl. die bei 1:50, die geringere bei 1:100 und die angedeutete bei 1:200 blieben ohne Anrechnung. In Wirklichkeit müssen aber auch die teilweisen Ausklumpungen in den höheren Serumverdünnungen eine Berücksichtigung erfahren. Eine Blutprobe, welche bei 1:25 = + + +, bei 1:50 = ++ und bei 1:100 = - reagiert, hat offenbar einen Agglutinationswert, der weder bei 1:25 noch bei 1:50 liegt, sondern dazwischen. Es kommt also darauf an, eine Bewertung zu finden, die dem Gefälle in den Agglutinationstitern in den einzelnen Serumverdünnungen gut Rechnung trägt. Eine solche Beurteilung hat außer der Genauigkeit den Vorteil, die Agglutinationswerte von mehreren Blutproben sofort und einwandfrei vergleichen zu können, auch die Blutproben bei ein und demselben Rinde, die zu verschiedenen Zeiten entnommen werden.

Diese Sachlage ist außer von Saxer (22), von Vellisto (40) und anderen bereits 1936 von Diernhofer (3) richtig erkannt und für die Praxis verwertet worden. Mit dem von ihm angegebenen Bewertungsschlüssel läßt sich einwandfrei und ohne Zeitverlust arbeiten. Andere Bewertungsschlüssel sind natürlich möglich, wie z. B. der nach Vellisto (39, 40), aber nicht unbedingt erforderlich. Wer über diese Bewertungsskala genau unterrichtet sein will, muß schon die Arbeit von Diernhofer lesen; hier kann aus räumlichen Gründen nur kurz auf das Prinzip eingegangen werden. Nehmen wir an, eine Blutprobe agglutiniert folgendermaßen:

1:200 = + + + +, 1:400 = + + +, 1:800 = +, 1:1600 = -, so summieren sich, entspr. einer geometrischen Reihe mit dem Quotienten $3\sqrt[3]{2}$, die Agglutinationswerte etwa folgendermaßen:

$$\begin{aligned}
 1:200 \quad + + + + &= 100 \cdot 3\sqrt[3]{2^3} = 100 \cdot 2 = 200,0 \\
 1:400 \quad + + + &= 100 \cdot 3\sqrt[3]{2^2} = 100 \cdot 1,587 = 158,7 \\
 1:800 \quad + + &= 100 \cdot 3\sqrt[3]{2^1} = 100 \cdot 1,260 = 126,0 \\
 1:1600 \quad - &= 100 \cdot 3\sqrt[3]{2^0} = 100 \cdot 1 = 100,0 \\
 &= 584,7
 \end{aligned}$$

Aber auch die zwischen diesen Agglutinationsstufen gelegenen Werte, nämlich (+ + +), (+ +), (+), (-) finden noch eine Berücksichtigung; sie betragen

$$3\sqrt[3]{2,5} = 1,782 \quad 3\sqrt[3]{1,5} = 1,414 \quad 3\sqrt[3]{0,667} = 0,885 \quad 3\sqrt[3]{0,33} = 0,693$$

Selbstverständlich sind die sich ergebenden endgültigen Agglutinationswerte in einer Tabelle zusammengefaßt, aus der man sie sofort ohne Zeitverlust ablesen kann.

Diernhofer hat nun eine Beurteilung der nach seiner Methode gefundenen Agglutinationswerte nicht angegeben; nach den im Tiergesundheitsamt Hannover seit Jahren gesammelten Erfahrungen hat sich folgende Beurteilung bewährt:

stark positiv sind Werte von 224,0 und darüber,
 positiv " " " 49,5 bis 223,0,
 zweifelhaft " " " 26,5 bis 49,4;
 als Spuren von Agglutininen sind Werte von 10,6 bis 26,4 anzusehen.

Für die Zweckmäßigkeit dieses Beurteilungsvorgangs seien ein paar Beispiele aus der Untersuchungspraxis angeführt:

Tabelle I

	Agglutinationstiter										Agglutinationswert nach Diernhofer	Auslegung der Werte im Tiergesundheitsamt Hannover
	1/25	1/50	1/100	1/200	1/400	1 800	1/1600	1/3200	1/6400	1-12800		
1.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	9056,0	st. positiv
2.	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	-	-	-	1132,0	st. positiv
3.	+++	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	283,0	st. positiv
4.	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	141,5	positiv
5.	+++	++	(++)	+	-	-	-	-	-	-	105,0	positiv
6.	+++	++	+	-	-	-	-	-	-	-	70,75	positiv
7.	+++	++	-	-	-	-	-	-	-	-	50,0	positiv
8.	+++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	44,5	zweifelhaft
9.	++	+	-	-	-	-	-	-	-	-	39,75	zweifelhaft
10.	++	-	-	-	-	-	-	-	-	-	26,5	zweifelhaft
11.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	18,75	Spur
12.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	negativ

Bei zweifelhaften Agglutinationsbefunden und beim Nachweis von Spuren von Bangagglutininen ist eine erneute Agglutinationsreihe in der Verdünnung von 1:10 ab neben den anderen serologischen Feststellungsverfahren (Meinckesche Kuppenreaktion) anzusetzen. Auch hierüber einige Beispiele:

Tabelle II

	Agglutinationstiter					Endgültiger Agglutinationswert	Beurteilung
	1/10	1/20	1/40	1/80	1/160		
1.	+++	+++	++	-	-	53,4	positiv
2.	+++	+++	++	-	-	44,8	zweifelhaft
3.	+++	++	+	-	-	41,2	zweifelhaft
4.	+++	+	-	-	-	17,8	Spur
5.	+++	-	-	-	-	14,1	Spur
6.	++	+	-	-	-	13,4	Spur
7.	+	-	-	-	-	6,3	negativ
8.	+	-	-	-	-	4,7	negativ

Selbstverständlich besteht die Möglichkeit, die Grenzen der Beurteilungsgruppen, insbesondere die positive Grenzzahl, herabzusetzen; es dürfte aber zweckmäßig sein, hier vorsichtig vorzugehen. Es seien nun hier auch einige Beispiele aus der täglichen Untersuchungspraxis angeführt, die zeigen, wie man sich auf Grund der gewonnenen Diernhoferschen Zahlen sofort ein gutes Bild über den Verseuchungsgrad der Bestände machen kann:

Tabelle III

	Anzahl der untersuchten Blutproben	Anzahl der stark positiven Blutproben	Anzahl der positiven Blutproben	Anzahl der zweifelhaften Blutproben	Anzahl der Blutproben mit Spuren von Aggl.	Anzahl der nicht reagierenden Blutproben
1.	25	10	6	4	2	3
2.	15	7	2	-	3	3
3.	20	8	-	1	4	7
4.	40	14	5	2	6	19
5.	13	-	2	-	-	11
6.	15	7	2	-	3	3
7.	43	5	3	4	14	17
8.	54	1	2	4	26	21
9.	134	3	2	3	6	120
10.	22	2	5	3	7	3
11.	17	8	2	1	5	1

Als sehr stark verseucht kann man bestimmt Bestände verzeichnen, in denen 1/4 oder mehr der Blutproben eine stark positive Reaktion oder 1/3 oder mehr Blutproben stark positive oder positive Reaktionen aufweisen, während Bestände mit Reaktionen, wie sie unter 7 und 8 gefunden wurden, einer besonderen Auf-

merksamkeit bedürfen (Impfbestände). Aber auch in der Herde 5 wurden seit Jahren die Jungtierimpfungen mit Bangstamm X ausgeführt und die 2 positiv reagierenden älteren Kühe stellen den Rest der von früher her infizierten Tiere dar. Sie schieden jahrelang beständig Bangkeime mit der Milch aus.

Besondere Bedeutung verdient die Tatsache, daß es in stärker bangverseuchten Beständen fast immer einen Prozentsatz von Rindern gibt, deren Blutproben zweifelhaft reagieren oder nur Spuren von Bangagglutininen enthalten. Solche Blutproben blieben bisher zumest unbeachtet. Die Frage, was von diesen Blutproben zu halten ist, ist natürlich sehr wichtig.

Alle die Bullen mit einem Agglutinationstiter von 1:40, welche Bendixen als Ausscheider von Bangkeimen mit dem Sperma und als Überträger des Leidens auf die von ihnen besamten weiblichen Rinder herausfand, hätten nach Diernhofer einen Agglutinationswert gehabt, dessen Höhe sich natürlich nach dem Grade der Ausflockung in der Verdünnung von 1:40 richtet und etwa zwischen 28,3 und 56,4 liegen würde, somit als positiv oder zweifelhaft zu bewerten wäre. Die von Bendixen herausgegebenen Bullen mit einem Agglutinationstiter von 1:10 würden, falls die Reaktion vollständig (+++) war, einen Agglutinationswert von 14,1 nach Diernhofer besitzen, also nur noch unter die Spuren von Bangagglutininen enthaltende Gruppe fallen. Wir sehen also, daß Bullen, deren Bluttitel eine zweifelhafte Agglutination geben oder nur Spuren von Agglutininen enthalten, durchaus gefährliche Bangüberträger sein können.

Wie ist nun die Sachlage bei den weiblichen Rindern? Nicht viel günstiger. Zunächst kann man annehmen, daß die in stärker bangverseuchten Rinderbeständen neben einem großen Prozentsatz von stark oder einwandfrei positiv reagierenden Blutproben herausgefundenen Proben mit zweifelhafter Agglutinationsreaktion gleichfalls auf eine Banginfektion zurückzuführen sind, also spezifische und nicht unspezifische Bangantikörper enthalten. Aber auch die Blutproben, welche nur Spuren von Bangkeimen ausschelden, dürfen auf keinen Fall einfach unberücksichtigt bleiben, d. h. als unspezifisch oder zum mindesten als bestimmt ungefährlich abgetan werden. Dies ergibt sich einmal schon außer den von Bendixen bei Bullen gesammelten Erfahrungen aus der Tatsache, daß wir diese Blutproben mit Spuren von Bangagglutininen gerade in bangverseuchten Beständen antreffen, und zwar fast regelmäßig. Wir wissen ferner, daß mit Abklingen der Banginfektion auch höhere Agglutinationstiter stark zurückgehen und dann Werte erreichen können, die zwar nur gering sind, immerhin doch noch über dem Nullpunkt liegen, aber bisher unberücksichtigt blieben. So entstehen eben oft die Blutproben mit Spuren von Bangantikörpern. Man findet sie gelegentlich bei Kühen, die Bangkeime mit einem Euter Viertel ausschelden, deren Milch dann höher agglutinieren kann als das Blut. In diesen Fällen haben wir es mit rein lokalen Bangherden im Euter bei Kühen mit weit zurückliegendem Infektionsbeginn zu tun, gewissermaßen mit Residuen des Leidens, genau so, wie dies z. T. auf die von Bendixen beschriebenen Bullen mit Ampullitis zutrifft. Über Kühe, die nur geringe Mengen von Bangagglutininen, also Spuren, im Blut aufwiesen und doch Bangkeime mit der Milch ausschelden, haben auch andere Forscher berichtet (33, 34, 35, 36).

Eine zweite Kategorie von weiblichen Rindern mit Spuren von Bangagglutininen im Blute betrifft die, welche mit nur geringen Mengen von Bangkeimen angesteckt wurden und daher erst spät oder nur schwach reagieren. Sind solche Rinder nicht tragend und werden sie es auch nicht in den nächsten Monaten, so sind und bleiben sie zumelst infektionsuntüchtig. Anders ist dies bei tragenden Rindern. Hierüber sind wir durch die Arbeiten von McEwen, Priestley und Paterson (19) und von Hutchings (9) gut unterrichtet. Die ersten steckten u. a. z. B. mit 146 000 Bangkeimen über den Lidsack 10 sicher bangfreie tragende Färsen an, von denen 5 infiziert wurden, so daß 3 davon Fehl- und Frühgeburten erlitten. Von diesen 10 infizierten Färsen zeigten 6 nie Agglutinine im Blute, dagegen die restlichen 4, aber erst nach etwa 65—123 Tagen, eine sogar nach 156 Tagen nach der Infektion, und die Agglutinationstiter waren z. T. gering; von 10 mit 1460 Bangkeimen angesteckten tragenden Färsen verkalbte keine, und nur 2 wiesen erst spät, nämlich erstmalig am 142. bzw. 205. Tage nach der Infektion, geringe Agglutininmengen im Blut auf, wobei die Forscher einen Agglutinationstiter von 1:40 als positiv annahmen.

Nun ist bekannt, daß nicht gerade selten bei Rindern, bei denen eine negative Agglutinationsreaktion festgestellt ist, bald darauf eine Fehl- oder Frühgeburt eintritt, und daß spätestens 2 Wochen danach die Blutagglutinationsprobe dann positiv wird. Hierüber hat erst kürzlich Lührs (16) berichtet. Wir wissen ferner, u. a. aus den Untersuchungen von Hayes und Barger (7), daß monatelang vor dem Auftreten spezifischer Antikörper im Blute oder in der Milch Brucellen im Tierkörper durch das Kulturverfahren nachgewiesen werden konnten. Lehrreich sind auch die Fälle, in denen man die von verseuchten Sammelweiden im Herbst abgetriebenen tragenden Färsen mit geringen Bangagglutininmengen in die Ursprungsbestände zurücknahm, wo sie nach einigen Wochen oder Monaten verkalbten, und so die Bangseuche einschleppten. Bei auf Versteigerungen aufgetriebenen, aus bangverseuchten Beständen stammenden tragenden Färsen, von denen der Kläufer nichts Böses argwöhnt, ist dies nicht selten genau so. Daher die Berechtigung der

Besitzer bangfreier Herden, weibliche Zuchttiere nur aus Beständen zu kaufen, die 2 Jahre lang ununterbrochen sich als bangfrei erwiesen haben.

Würde man künftig bei der Blutuntersuchung auch Spuren von Bangagglutininen berücksichtigen, so würde die Anzahl dieser unangenehmen Fälle sich sicherlich verringern lassen, besonders dann, wenn bei solchen Tieren des öfteren die Blutuntersuchung durchgeführt würde; denn das Auftreten von geringen Mengen von Agglutininen vor dem Verkalben kann vorübergehend sein, aber auch bestehenbleiben und bisweilen selbst höhere Werte erreichen. Ein stärkerer Anstieg der Agglutinationswerte ist in solchen Fällen aber ein ernstes Warnungszeichen!

Nun würde man die Blutproben mit zweifelhaften Agglutinationswerten oder mit nur Spuren von Bangagglutininen sicherheitshalber, besonders bei der Schaffung bangfreier Rinderbestände, die jetzt in Niedersachsen wieder zunehmende Bedeutung annimmt, einfach als positive Reaktion bewerten können, wenn es feststände, daß mit unspezifischen Bangagglutininen im Blute des Rindes nicht zu rechnen ist.

Daß das Blut von Menschen durch die Infektion mit Cholera-Bakterien oder durch die Impfung mit daraus hergestellten Vakzinen agglutinierende Eigenschaften gegenüber Brucellen enthält, steht fest (5, 18). Weitere Überschneidungen, besonders bei Personen, die mit Pasteurellen oder Typhusbakterien infiziert waren, sind bekanntgeworden (14). Tatsache ist ferner, daß das Blutserum von Menschen und Haustieren, die mit dem Bact. tularensis infiziert sind, Brucellakeime agglutiniert. Diese Tatsachen spielen beim Rinde bei uns keine Rolle. Wir kennen z. Zt. auch keine Infektionskrankheiten beim Rinde, durch welche das Blut desselben agglutinierende Eigenschaften gegenüber Brucellakeimen erhält, wie dies z. B. bei Erkrankungen an Tuberkulose, an Paratuberkulose, an Enteritismykosen usw. denkbar wäre. Gilman und Cameron (6) untersuchten Rinderseren auf Mitagglutinine irgendeiner anderer Bakterien, wie Bact. proteus, Pasteurellen, Salmonellen, Colibakterien und 10 anderer Bakterienarten, und kamen zu dem Schluß, daß niedrige Bangbluttiter nicht auf Mitagglutination beruhen, sondern spezifisch sind. Trifft dies nun tatsächlich zu oder mit anderen Worten, wie hoch ist beim Rinde der Normal-Bangagglutinationswert anzusetzen?

Hierüber liegen Untersuchungen von verschiedenen Forschern vor. Aus der Schweiz berichtet Saxer (22), daß in bangverseuchten Herden Blutproben mit einem Agglutinationstiter von 1:10 nicht vorkommen und jede Agglutination auch bei geringgradiger Serumverdünnung als spezifisch zu bewerten ist. Auch Sven Wall (22, 37) teilt aus Schweden mit, daß Tiere mit einem Serumagglutinationstiter von 1:10 als brucellose infiziert anzusehen sind. In Dänemark wo man seit 1910 einen Agglutinationstiter von 1:20 als untersten positiven Grenzwert ansieht, hat Thomson (30) die Frage der Normalagglutinine im Blute des Rindes erneut überprüft, und zwar an 100 einwandfreien Tieren in Grönland, wo es Brucellosen nicht gibt. Er stellte fest, daß Normalagglutinine im Blute der dortigen Rinder bis zum Titer von 1:10 vorkommen. Nach Seelenmann und Pfeffer (38) agglutinieren einwandfreie Tiere höchstens bei 1:10; bei 1:40 soll dies sehr selten vorkommen. Nach Vallisto (39) in Estland wird die Verdünnung von 1:20, nach Gilbert (41) in Palästina von 1:25 als positiv gewertet. In den USA wurde auf der Tagung der „Official Research Workers in Animal Diseases of North America“ im Jahre 1932 die Auslegung der Agglutinationstiter beim Rinde dahin verschärft, daß eine völlige Agglutination in der Verdünnung 1:25 als verdächtig anzusehen ist (8). Vielleicht legt man heute auch hier bereits einen noch schärferen Maßstab an eine Tendenz, die seit 1—2 Jahrzehnten überall unverkennbar ist.

Nach unseren Erfahrungen im Tiergesundheitsamt in Hannover wird im Blutserum von Rindern aus seit langem bangfrei anerkannten Beständen auch in der Verdünnung von 1:10 eine Agglutination nicht nachgewiesen. Ausnahmen hiervon kommen gelegentlich insofern einmal vor, als in dieser Verdünnung eine geringe Flockung (+) auftreten kann, niemals aber eine solche, die mit ++ oder gar mit +++ zu bezeichnen wäre. Dies ist der Grund, warum im Tiergesundheitsamt Hannover die Spuren von Bangantikörpern erst von der Diernhofer-Zahl 10,6 - einer Agglutination von ++ bei 1:10 in Anrechnung kommt. Immerhin ist es der Überlegung wert, ob man nicht auch bereits Spuren von 7,5 an den Einsender mitteilen soll und nicht einfach als negativ registriert. Solche Blutproben zeigen bei der von uns gehandhabten Einstellung des Systems immer auch einen positiven Ausfall der Meirickeschen Kuppenreaktion, die sehr scharf, aber zum Teil zu weitgehend anzeigt. Wahrscheinlich wird man es aber bald wagen können, die bisher als zweifelhaft bezeichneten Agglutinationswerte von 26,5-49,4 als positiv zu werten und die von 10,0-26,4 als zweifelhaft.

Mit diesen Feststellungen müssen wir uns vorläufig begnügen und dürfen, da es für die Bangbekämpfung, insbesondere für die Bangtilgung, sehr wichtig ist, nie vergessen, daß durch eine einmalige Blutuntersuchung, wie z. B. bei Auktionsrindern, selbst wenn sie völlig negativ ausfällt, die Ungefährlichkeit des betreffenden Rindes nicht erwiesen ist, daß aber durch den verschärften Maßstab, wie er hier gezeigt wurde, die Zahl der zu erfassenden infizierten oder infektionsverdächtigen Rinder wesentlich erhöht wird. Daß eine solche Bewertung von Blutproben für das betreffende Institut und auch für den einsendenden Tierarzt Nachteile haben kann, liegt auf der Hand. So teilte uns eine Rinderabsatzgenossenschaft mit, daß sie Mitteilungen über die Feststellung von Spuren von Bangantikörpern nicht wünsche, da die Käufer hierdurch vom Kaufe dieser Rinder Abstand nähmen. Dies darf aber kein Grund sein, grundsätzlich die Blutproben nur mit positiv oder mit negativ zu bewerten.

Erwähnt sei, daß im Blute von Junggrindern, welche im Alter von 5 bis 12 Monaten schutzgeimpft wurden, nach Ablauf von spätestens 6 Monaten die Bangagglutinine im Blute bis auf geringe Ausnahmen verschwunden sind, bei älteren Färsen und besonders bei geschwunden Kühen bleiben öfter Spuren davon zurück. Bei Schutzimpfungen mit vollvirulenten Bangkeimen kommt dies noch häufiger vor. Wenn in so schutzgeimpften Bangbeständen nun noch Tiere verkalben, wie dies bei zugekauften Färsen und Kühen öfter beobachtet wird, entsteht hier durch Neuinfektion der im Bestände im ersten Lebensjahre geimpften Tiere, die allerdings zumeist austragen, ein eigenartiges Bild zahlreicher Blutproben mit zweifelhaften und Spuren aufweisenden Agglutinationswerten. So reagieren z. B. in der unter Nr. 8 (Tabelle II) aufgeführten Herde von 54 Kühen und Färsen nur 3 positiv, aber 4 Tiere hatten zweifelhafte Agglutinationswerte, und 26 wiesen nur Spuren von Agglutininen auf. Die gleichen oder ähnliche Agglutinationsstiter kann man evtl. auch in chronisch verseuchten Rinderbeständen wahrnehmen, wo nicht geimpft wurde.

Schließlich darf die Tatsache nicht unbeachtet bleiben, daß, in allerdings seltenen Fällen, auch bei der Brucellose ab. Bang es Kühe gibt, die bei dauernden oder über lange Zeiträume hindurch bestehender negativer Blutreaktion Bangkeime beherbergen und in die Außenwelt abgeben. Hierfür ein Beispiel:

In einem ohne Anwendung der Jungtierschutzimpfung mit lebender Bacillusart verseucht gemachten, früher schwer bangverseuchten Bestände wurden, wie von allen Kühen, auch von der Kuh 798 am 2. 11. 36, 19. 4. 37, 17. 7. 37, 20. 8. 37, 30. 10. 37, 6. 12. 37, 24. 2. 38, 4. 5. 38, 30. 6. 38, 2. 9. 38, 4. 11. 38, 20. 12. 38, 13. 2. 39, 25. 4. 39, 10. 7. 39, 27. 10. 39, 20. 12. 39 Blutproben untersucht und Bangantikörper nicht nachgewiesen. Die am 8. 1. 35 geborene Kuh 798 kalbte am 22. 6. 37, am 23. 11. 38 und am 7. 2. 40 normal ab. Beim Abkalben am 7. 2. 40 ging die Nachgeburt innerhalb von 6 Stunden ab. Sie wurde, wie

die Nachgeburt aller Kühe in jener Zeit, zur Untersuchung eingesandt, wobei an einzelnen Stellen feine Nekrosen oder Chorionzellen nachgewiesen wurden. Nach längerem Wässern wurde das Zottenmaterial mit sterilem Quarzsand im Mörser verrieben und Serumglyzerinagglutinationsplatten angelegt, auf denen etwa 100 Bangkeime sich entwickelten. Im Ausstrichpräparat aus den Zotten ließen sich bereits bangverdichtete Keime nachweisen. Von dieser Kuh wurden anschließend am 12. 2. 40 und am 16. 3. 40 erneut Blut- und Milchproben auf Bangantikörper untersucht, die aber nicht ermittelt wurden. Die im Isolierstall untergebrachte Kuh wurde trotzdem ausgemerzt. Hier liegt also einer der von uns festgestellten seltenen Fälle vor, daß eine Kuh Bangkeime beherbergt und sogar nach außen ausscheidet, ohne daß die Blutprobe dies anzeigt oder einen Verdacht aufdeckt.

Solche Fälle bilden beim Abortus-Bang des Rindes nach unseren jetzigen Kenntnissen bestimmt große Seltenheiten, während sie bei der Suisinfektion des Schweines nicht so selten vorkommen und bei der Meitensinfektion des Schafes wohl am häufigsten sind. Wenn daher Körnlein (12) auf Grund seiner Untersuchungen zu dem überraschenden Ergebnis kommt, daß Kühe mit negativer Blutreaktion fast ebenso oft Bangkeime ausscheiden wie Kühe mit positiver Blutreaktion, so liegt hier ein schwerer Irrtum vor. Er beruht darauf, daß dieser Autor die in der amtlichen Anweisung über die Feststellung des seuchenhaften Verkalbens vom 22. 12. 1936 festgelegten Agglutinationsstiter von 1:100 erst als positive Reaktionen ansah, also viele Ausscheider von Bangkeimen mit der Milch usw. zu Unrecht als negativ reagierend vorbuchte. „Die Korrelation von Erregerausscheidung mit den Agglutinationswerten“ ist also nicht, wie Körnlein meint, „nur mäßig“, sondern in Wirklichkeit beim Rinde sehr weitgehend.

Bei der Brucellose-suis, die bekanntlich in den USA eine außerordentliche Verbreitung gefunden hat, wird nach Huddleson (8) eine Blutagglutination von 1:100 und darüber als beweisend für eine „aktive“ Infektion angesehen und eine solche von 1:25 an als eine Infektion anzeigend. Hiergegen ist an sich nach den deutschen Erfahrungen nicht viel einzuwenden, immerhin ist ein noch schärferer Maßstab auch hier angezeigt, und es empfiehlt sich, wie bei der Untersuchung von Blutproben des Rindes auf Abortus Bang statt der Einstufenablesung die Diernhofersche Allstufen-Agglutinationsbewertung anzuwenden, wobei die Beurteilung die gleiche wie die oben angegebene beim Rinde ist. In 2 verseuchten Brucellose-suis-Beständen wurden z. B. von uns folgende Feststellungen gemacht:

Anzahl der Blutproben	stark positiv	positiv	zweifelhaft	Spuren von Agglutininen	negativ
30	5	13	4	3	6
höchster Wert 1:1220					
18	—	1	4	5	9

Bei dem ersten Bestande handelte es sich um einen recht wertvollen, stark verseuchten, dessen Besitzer ihn gern sanieren wollte, und beim zweiten gleichfalls um eine sehr wertvolle, stark verseuchte Zuchtterde, aus der vor einigen Monaten die positiv reagierenden Schweine entfernt waren. Da bei der Suisinfektion in Deutschland nur eine restlose Tilgung der Seuche in Frage kommen kann, hat sich natürlich die Abschichtung auf alle Schweine des verseuchten Bestandes, auch auf die ohne Agglutination im Blute, zu erstrecken, da sie ansteckungsverdächtig sind. Beim Schweine kommen Bazillenträger ohne positive Blutwerte anscheinend häufiger vor als beim Rinde.

Im Blutserum vom Schweine dürften Brucellose-Normalagglutinine keine wesentliche Rolle spielen. So fand Saxer (22) in der Schweiz, daß unverseuchte Schweine bei der Serumverdünnung von 1:5 keine positive Agglutination zeigten. Doyle (4) untersuchte in England 10 474 Blutproben von Schlachtsauen, welche zur Zucht gedient hatten, und fand nur 25 Tiere her-

aus, welche Brucellen in der Verdünnung von 1:25 und darüber agglutinierten und nur 4 Blutproben bis zur Verdünnung von 1:100. Bei dieser ganz geringen Anzahl von Schweineblutproben mit Brucella-Agglutininen ist die Annahme naheliegend, daß die betreffenden Tiere Bangkeime vom Rinde aufgenommen hatten und infolgedessen geringe Mengen von Antikörpern gebildet hatten, denn die Suisinfektion ist in England unbekannt, die Banginfektion aber ziemlich verbreitet. In Dänemark prüfte Thomson (29) 817 Blutproben von Schlachtsauen und Ebern aus Gegenden, in denen die Suisinfektion nicht aufgetreten war, und fand 50 Blutproben, die bis zur Verdünnung von 1:20, und 2, die bis zu 1:50 agglutinierten. Auch hier dürfte die nachgewiesene Brucellainfektion wohl auf einer Ansteckung mit Bangkeimen beruht haben. In Deutschland wiesen nach den Untersuchungen von Knoth (13) von 624 Blutproben nicht tragend gewesener etwa 8 Monate alten Schweine eine Probe eine positive Agglutinationsreaktion auf und von 376 Serumproben von Mutter-schweinen 5 Proben. Die betreffenden Schweine stammten aus Schleswig-Holstein und Ostpreußen, also aus ziemlich bangverseuchten Gegenden.

Alle diese Tatsachen und die im Tiergesundheits-amte gesammelten Erfahrungen haben uns veranlaßt, die Bewertung der bei der Blutuntersuchung von Schweinen gewonnenen Diernhoferzahlen genau so vorzunehmen, wie wir es beim Rinde tun, nur mit dem Unterschied, daß zweifelhafte Reaktionen und Spuren von Brucella-Antikörpern im Blute der Schweine nicht artspezifisch (Bruc. suis) zu sein brauchen, sondern auf der Aufnahme von Bangkeimen beruhen können. Wichtig ist ferner, daß es bei brucella-suis-infizierten Schweinen lange Zeit dauern kann, bis Agglutinine im Blute in die Erscheinung treten, wie dies insbesondere aus den Arbeiten von Marais (17) in Ungarn und von Steffens (20) in Deutschland hervorgeht.

Bei der Blutuntersuchung von Ziegen und Schafen auf eine Brucellose-melitensis-Infektion spielen die Proben mit einer zweifelhaften Agglutinationsreaktion oder mit Spuren von Agglutininen die weitaus größte Rolle, namentlich in stark verseuchten Herden, wo bei der Haltung der kleinen Wiederkäuer es oft vorkommt, daß bei zahlreichen Fehlgeburten alle Tiere den Ansteckungsstoff in recht verschieden großen Mengen aufnehmen und daher auch je nach der Reaktionslage (tragend oder nicht) verschieden hoch reagieren. Hier gibt es zwischen stark positiven und völlig negativen Reaktionen alle Übergänge. Hier nur positive und negative Reaktionen gelten lassen zu wollen, ist noch abwegiger als bei der Brucellose ab. Bang des Rindes. Die russische Kommission zur Erforschung der Schaf-brucellose (32) kommt zu einem ziemlich abfälligen Urteil über das Agglutinationsverfahren zur Feststellung und besonders zur Tilgung der Brucellose in den Schafherden und gibt bei weitem der allergischen Hautreaktion mit dem von ihr hergestellten „Brucellysat“ den Vorzug. Die Kommission bewertet die Agglutination einer Schafblutprobe in der Verdünnung von 1:20 in brucellaverseuchten Schafherden als positiv, sonst als zweifelhaft. Sie hebt besonders hervor, daß Blutproben von Schafen mit hohen Agglutinationstitern in der Folgezeit schwanken und oft bald zweifelhaft oder negativ werden. Das Agglutinationsverfahren wird als ungeeignet zum Herausfinden der gesunden Schafe aus einer brucellainfizierten Herde angesehen.

Auch Mirri (21) bezieht auf Grund seiner umfangreichen Erfahrungen auf Sizilien die Agglutinationsprobe als ein nicht hinreichend sicheres Verfahren zur Erkennung melitensisinfizierter Ziegen und Schafe und hält die allergische Augenlidprobe mit der von ihm hergestellten „Brucellina“ für weit geeigneter. Andere Forscher, wie Taylor, Lisbonne und Hazemann (27), halten wiederum auf Grund ihrer Erfahrungen in Südfrankreich die Agglutinationsprobe für ein zuverlässigeres Mittel, um eine aktive Malta-infektion bei Schaf und Ziege zu erkennen, als die intradermale „Melitensisprobe“, auf welche allerdings mehr Tiere reagieren sollen, darunter aber auch solche mit abgeheilter Melitensisinfection. Karsten (10) hat

sich bei seinen Forschungen über die Brucellose bei allen Haustieren in Südwestafrika eingehend mit dem Problem der Bewertung der festgestellten Brucella-Agglutinine befassen müssen. Bei einer Bewertung einer vollständigen Agglutination in der Verdünnung von 1:20 als positiv und von 1:10 als verdächtig, zeigten 14,1% der untersuchten Rinder, 12,5% der untersuchten Schafe und 14% der untersuchten Ziegen einen positiven Ausfall der Reaktion, während die Prozentsätze der verdächtigen Proben 13,7 bzw. 10,37 bzw. 10,0 betragen; es wurden also bei dem angelegten Maßstabe ebenso viele verdächtige wie positive Ergebnisse festgestellt. In Wirklichkeit dürften die verdächtigen Reaktionen auch auf einer Melitensis-Infektion beruht haben, also spezifisch gewesen sein. Die verdächtigen Blutproben zeigten nämlich bei dem sogenannten Schnellagglutinationsverfahren eine sofortige Ausflockung, die bereits damals als auffällig vermerkt wurde und heute wieder erneut einer Nachprüfung bedarf, und zwar bei allen 3 Brucellosearten. Die der Agglutinationsprobe zur Feststellung der Melitensis-Infektion bei Ziege und Schaf zur Last gelegte Unsicherheit würde wesentlich gemildert werden, wenn der Beurteilungsmaßstab auch hier geändert würde, insbesondere eine Allstufenablesung und Bewertung erfolgte mit der gleichen Beurteilung, wie sie bei der Bruc. ab. Bang angegeben wurde. Daneben müßte auch bei der Blutuntersuchung auf die Melitensis-Infektion bei Ziege, Schaf, Rind und anderer Haustiere auch die Melnickesche Kuppenreaktion Anwendung finden, was heute anscheinend nirgends der Fall ist.

Das Problem hat auch für deutsche Verhältnisse nicht nur theoretische Bedeutung. So lehnte z. B. im Jahre 1937 eine ausländische Abnahmekommission die Übernahme von 81 deutschen Merinolfeischschafböcken mit der Begründung einer Brucella-Infektion (melitensis) ab. Die Nachuntersuchung von Schmidt (24) vom Tiergesundheitsamt in Halle ergab, daß von den 81 Böcken bei 23 eine Agglutination in der Verdünnung von 1:25 nicht vorlag, wohl aber bei 56 der übrigen Tiere. Daraufhin untersuchte Tettenborn (28) 1780 Schafblutproben aus 18 Beständen, auf deren Gehöften bei Rindern die Banginfektion bestand, serologisch auf Brucellaantikörper und fand, daß geringe Mengen von Brucella-Agglutininen im Blute solcher Schafe auftreten können. Nach Mentons (20) Untersuchungen in England reagierten von 575 Schafblutproben 21 positiv, davon 3 bis 250, 7 bis 50, 9 bis 25 und 2 bis 10. Auch hier dürfte die Aufnahme von Bangkeimen die Reaktionen hervorgerufen haben. Über Brucella-Normalagglutinationstiter bei Ziegen liegen in Deutschland bisher ausführliche Untersuchungen nicht vor.

Schließlich bleibe nicht unerwähnt, daß es zweckmäßig ist, auch bei der Untersuchung von Milchseren auf Brucella-Agglutinine die Allstufenablesung und Bewertung einzuführen. Strich- oder Einzelgemelkproben würden etwa folgendermaßen zu beurteilen sein:

stark positiv	=	28,3 und darüber.
positiv	=	8,0 bis 28,2.
zweifelhaft	=	5,3 bis 7,95.

Als zweites, ergänzendes Untersuchungsverfahren ist für die Milch die Ringprobe nach Fleischhauer sehr empfehlenswert.

Es ist naheliegend, die Allstufenablesung und Bewertung auch bei der Blutuntersuchung auf andere Infektionskrankheiten der Haustiere, so insbesondere der Paratyphus-Enteritis-Gruppe, in Anwendung zu bringen.

Zusammenfassung

Die bisherige Beurteilung der bei den Brucellosen der Haustiere festgestellten Agglutinationstiter wird den wirklichen Tatbeständen nicht gerecht und bedarf der Abänderung. Statt einer Einstufen- ist eine Allstufenablesung bis zu der Verdünnung mit völlig negativer Agglutination zweckmäßig und alle hierbei gefundenen Agglutinationsgrade sind zu bewerten. Hierbei ist der von Diernhofer angegebene Bewertungsschlüssel geeignet. Für die Beurteilung der nach der Diernhoferschen Methode gefundenen Agglutinations-

zahlen werden Richtlinien angegeben, nach denen eine Eingruppierung der Blutproben in stark positiv, positiv, zweifelhaft und solche mit Spuren von Brucella-Antikörpern erfolgt.

Blutproben mit einer zweifelhaften Agglutination und mit Spuren von Agglutininen müssen mehr als bisher Beachtung finden, da sie für die Bekämpfung der Brucellosen, insbesondere bei der Tilgung dieser Leiden, bedeutungsvoll sind. Geringe Mengen von Brucella-Agglutininen oder Spuren davon finden sich in Blutproben von Haustieren mit Residuen des Leidens oder bei schwachen oder abgeklungenen Infektionen, sowie bei Impflingen. Nur aus Beständen, die sich 2 Jahre ununterbrochen als bangfrei erwiesen haben, in denen auch alle Blutproben in dieser Zeit völlig negativ reagieren, kommt der Ankauf von sicher bangfreien Zuchtrindern in Frage.

Die Zuverlässigkeit der Agglutinationsprobe ist bei der Bruc. ab. Bang des Rindes am größten, bei der

Bruc. suis geringer, insbesondere in der ersten Zeit nach Beginn schwacher Infektionen, und am umstrittensten bei der Melitensis-Infektion der Ziege und namentlich des Schafes. Es empfiehlt sich neben dem Agglutinationsverfahren auch die Meinicke'sche Kuppenreaktion, welche bei richtiger Einstellung des Systems sehr scharf, aber zu weitgehend anzeigt, mit in Anwendung zu bringen. Der positive Ausfall der Meinicke'schen Kuppenreaktion allein genügt aber nicht, um eine Brucella-Infektion als nachgewiesen anzusehen.

Die Allstufenagglutinationsbewertung ist auch bei Milchseren, die auf Abortus-Bang zu untersuchen sind, vorteilhaft, desgleichen zum Nachweis anderer Infektionskrankheiten der Haustiere, wie z. B. aus der Paratyphus-Enteritis-Gruppe.

Schrifttum

Das Schrifttum kann von Interessenten beim Verfasser angefordert werden.

Sonderdruck

aus „DER LEBENSMITTELTIERARZT“, 3. Jahrgang, Nr. 7, Juli 1952
 Verleg M. & H. Schaper, Hannover-Waldhausen, Grazer Straße 20 - Druck: Geb. Gerstenberg, Hildesheim

Ist der Runderlaß des Reichsministers des Innern vom 15. 2. 1943 - 3b 3360/42/4500 über die Beanstandung von Milch wegen Abortus-Bang-Infektion abänderungsbedürftig?

(Aus dem Tiergesundheitsamt der Landwirtschaftskammer Hannover)
 Von Tierarzt Dr. Klaus Karsten

Bekanntlich ist die Brucellose abortus Bang auf den Menschen übertragbar. Wenn diese Gefahr auch verhältnismäßig gering ist im Vergleich zu anderen Brucelosen, insbesondere zur Bruc. melit., so sind amtliche Vorschriften doch durchaus erforderlich, um diese Gefahr möglichst zu verhindern. Dieser Tatsache ist im Deutschen Reich bereits beim Inkrafttreten des Milchgesetzes vom 31. 7. 1930 Rechnung getragen worden. Nach § 4 Ziff. 3 der I. Verordnung zur Ausführung des Milchgesetzes vom 15. 5. 1931, darf „Milch von Kühen, die infolge einer Infektion mit dem Abortusbazillus Bang erkrankt sind oder diesen Bazillus mit der Milch ausscheiden“, nicht in den Verkehr gegeben werden, sofern sie nicht gemäß § 13 dieser Verordnung erhitzt ist.

Bei der praktischen Durchführung dieser Vorschrift zeigte sich bald, daß mit ihr nicht hinreichend einfach und sicher, insbesondere aber nicht schnell genug zu arbeiten ist; infolgedessen erschien eine Abänderung derselben für die Milchüberwachung erforderlich. Diese brachte der Rd. Erlaß des Reichsministers d. Innern vom 15. 2. 1943 (Min. Bl. i. V. 1943 S. 331). Hiernach ist ein Bangagglutinationstitler von 1:5 bei Mischmilch und von 1:10 bei Einzelmilch als Nachweis anzusehen, daß Bangkeime in der Milch enthalten sind. Sicherlich läßt sich mit dieser Bestimmung schnell, ohne großen Aufwand und weitgehend sicher arbeiten, sie bedeutet gegenüber den Vorschriften in § 4, Ziffer 3 der I. Verordnung zum Milchgesetz einen wesentlichen Fortschritt und bedeutende Erleichterung.

Den veterinärmedizinischen Instituten, die sich mit der Milchüberwachung zu befassen haben, dürfte aber bereits aufgefallen sein, daß ein anderes Milchuntersuchungsverfahren zum Nachweis von Banginfektionen mehr leistet als die Agglutination, nämlich die Abortus-Ringprobe nach Fleischhauer (3). Vom Tiergesundheitsamt der Landwirtschaftskammer Hannover wird daher seit Jahren diese Probe neben dem Agglutinationsverfahren gem. dem Erl. vom 15. 2. 1943 regelmäßig angewandt, und zwar mit bestem Erfolge. Hierfür konnten sehr viele Beispiele angeführt werden; ein wahllos herausgegriffenes sei hier wiedergegeben.

Eine am 4. 6. 51 dem Tiergesundheitsamt zur Untersuchung eingesandte Verkehrsmilchprobe wies einen positiven Ausfall der Ringprobe und einen Agglutinationstitler von 20 : 40 auf. Daraufhin wurden von

uns aus dem Ursprungsbestande von 26 in Laktation stehenden Kühen 52 Milchproben entnommen, und zwar je 1 Probe aus den beiden vorderen und eine 2. Probe aus den beiden Hintervierteln. Verkaufbefälle sollen in dieser Herde nie aufgetreten sein, sie wird aber laufend durch Milchkuhe einer etwa 45 km entfernten 2. Herde des Besitzers ergänzt, wo früher Fehl- und Frühgeburten aufgetreten sein sollen. Das Untersuchungsergebnis war, daß 10 von 5 Kühen stammende Milchproben eine positive Ringprobe aufwiesen, 42 Proben von 21 Tieren reagierten dagegen negativ. Die 10 Proben mit positiver Ringprobe zeigten außerdem positive Agglutinationswerte. Die am gleichen Tage wiederum entnommene Gesamtmilchprobe wies eine positive Ringprobe und eine Agglutination von 40 : 40 - 160 auf. (Dierhoferzahl also 113,2) auf. Die Vermischung der Milch von 5 banginfizierten Kühen mit der Milch von 21 bangfreien Kühen ließ also die Banginfektion der Herde noch sehr gut erkennen, und zwar sowohl mit dem Bunttest als auch durch die Agglutination.

Um nun die Grenzen der Reichweite der Ringprobe, des üblichen Röhren-Agglutinations-Verfahrens und der Objektträger-Agglutination, dem sog. Schnelltestes, zu bestimmen und miteinander zu vergleichen, wurde die Milch banginfizierter Kühe mit der Rohmilch einer bangfreien Kuh verdünnt und die so entstandene Mischmilch mit den 3 Untersuchungsverfahren geprüft. Die Verdünnung erfolgte in Art einer geometrischen Reihe, d. h. zu 2, 4, 8, 16 Teilen Normalmilch wurde je ein Teil der positiv reagierenden Milch hinzugesetzt. War festgestellt, daß die Grenze des Nachweises zwischen 2 bestimmten Werten lag, beispielsweise zwischen den Mischverhältnissen 1:16 und 1:32, so wurde durch weitere Untersuchungen der genaue höchste Verdünnungsgrad mit einer einwandfrei positiven Reaktion ermittelt. Das Ergebnis der 4 Viertelmelkproben einer hochgradig reagierenden Kuh zeigt nachstehende Zusammenstellung der Tabelle 1.

Diese Übersicht zeigt klar die Überlegenheit der Ringprobe, insbesondere bei Milch mit hohem Agglutiningehalt, außerdem die geringe Unterlegenheit der Objektträger-Agglutination gegenüber dem Röhrenverfahren. Die Milch des vorderen rechten Viertels der Kuh ließe noch bei Zuzug der Milch von wenigstens 126 bangfreien Kühen

einen stark positiven Bunttest ergeben und weit über diesen Verdünnungsgrad hinaus, bis zu 256, eine verlässliche Reaktion, die gleichfalls zu Nachuntersuchungen Anlaß gegeben hätte, während das Agglutinationsverfahren gemäß der Verfügung vom 15. 2. 1943 höchstens bis zu einer Verdünnung von 1:16 gereicht hätte.

Tabelle I
Kuh Hse; Blutaggl. wert: 1122,00, nach Diernhofer

Milch: v. R.	ABR	Röhrchenaggl.	Schnellaggl.
unverdünnt	+++	160 +++ 320 +++ 640 +	n. 1 Min. +++
1: 1	+++	20 +++ 40 +++ 80 + 160 ±	n. 1 1/2 Min. +++
1: 2	+++	20 +++ 40 +++ 80 + 160 ±	n. 1 1/2 Min. +++
1: 4	+++	10 +++ 20 +++ 40 + 80 ±	n. 2 Min. +++
1: 8	+++	10 +++ 20 +++ 40 + 80 ±	n. 3 Min. +++
1: 16	+++	5 +++ 10 + 20 ±	n. 3 Min. ±
1: 32	+++	5 + 10 ±	n. 3 Min. -
1: 64	+++	5 ±	n. 3 Min. -
1: 128	+++	5 ±	n. 3 Min. -
1: 256	+	5 -	n. 3 Min. -
1: 512	-	5 -	n. 3 Min. -

Im Aufrahm wurden Bangkeime kulturell in großen Mengen festgestellt

Milch: h. r.	ABR	Röhrchenaggl.	Schnellaggl.
unverdünnt	+++	5 +++ 10 +++ 20 + 40 ±	n. 2 Min. +++
1: 1	+++	5 +++ 10 +++ 20 + 40 ±	n. 2 Min. +++
1: 2	+++	5 + 10 ±	n. 2 Min. +++
1: 4	+	5 ±	n. 3 Min. -
1: 8	±	5 ±	n. 3 Min. -
1: 16	-	5 -	n. 3 Min. -

Im Aufrahm wurden kulturell Bangkeime nicht nachgewiesen

Milch v. l.	ABR	Röhrchenaggl.	Schnellaggl.
unverdünnt	+++	160 +++ 320 +++ 640 +	n. 1 Min. +++
1: 1	+++	20 +++ 40 +++ 80 +	n. 1 1/2 Min. +++
1: 2	+++	20 +++ 40 +++ 80 +	n. 1 Min. +++
1: 4	+++	10 +++ 20 +++ 40 + 80 ±	n. 2 Min. +++
1: 8	+++	5 +++ 10 + 20 ±	n. 2 Min. +
1: 16	+++	5 + 10 ±	n. 3 Min. -
1: 32	+++	5 + 10 ±	n. 3 Min. -
1: 64	+++	5 ±	n. 3 Min. -
1: 128	+	5 -	n. 3 Min. -
1: 256	+	5 -	n. 3 Min. -
1: 512	-	5 -	n. 3 Min. -

Im Aufrahm wurden kulturell geringe Mengen von Bangkeimen ermittelt (7 Kol.)

Milch: h. l.	ABR	Röhrchenaggl.	Schnellaggl.
unverdünnt	+++	320 +++ 640 +++ 1200 +	n. 1 1/2 Min. +++
1: 1	+++	20 +++ 40 +++ 80 +	n. 1 Min. +++
1: 2	+++	20 +++ 40 +++ 80 +	n. 1 1/2 Min. +++
1: 4	+++	10 +++ 20 +++ 40 + 80 ±	n. 2 1/2 Min. +++
1: 8	+++	10 +++ 20 +++ 40 + 80 ±	n. 2 1/2 Min. +++
1: 16	+++	5 +++ 10 + 20 ±	n. 3 Min. ±
1: 32	+++	5 + 10 ±	n. 3 Min. -
1: 64	+++	5 ±	n. 3 Min. -
1: 128	+	5 -	n. 3 Min. -
1: 256	+	5 -	n. 3 Min. -
1: 512	-	5 -	n. 3 Min. -

Im Aufrahm wurden kulturell geringe Mengen von Bangkeimen ermittelt (5 Kol.)

Wenn man will, kann man den beim Bunttest bisher gerügten Nachteil, nichts über den Agglutinations-titer der fraglichen Milch auszusagen, dadurch ausgleichen, daß man durch Zusatz von normaler Rohmilch zu der Milch, welche eine positive Ringprobe aufweist, die Endverdünnung ermittelt, bis zu welcher der Bunttest noch positiv ausfällt. Milchsorten mit geringen Mengen von Agglutininen geben nur in schwachen Verdünnungen, solche mit großen Mengen noch in stärkeren Verdünnungen eine positive Ringprobe. So kommt es, daß die Milch von Kühen, die mit Bangimpfstoffen geimpft wurden und zumeist nur geringe Mengen von Agglutininen in der Milch enthält, nur in schwächeren Verdünnungen noch eine positive Ringprobe*) ergibt, die Milch von natürlich infizierten Kühen, besonders wenn sie gar infolge der Seuche ver-

kalbt haben, aber noch in stärkerem. Dies geht aber nicht so weit, wie es van Drimmeln (2) getan hat, auf dieser Tatsache ein Verfahren aufbauen zu wollen. Kühe mit natürlicher Banginfektion von Kühen zu unterscheiden, welche lediglich gegen Abortus Bang geschützt wurden, denn es gibt ja natürlich bang-infizierte Kühe, die nicht verkalben, keine Bangbakterien mit der Milch ausscheiden und im Blute und damit auch in der Milch nur geringe Mengen von Antikörpern, darunter auch Agglutinine aufweisen. Im übrigen wird bei positivem Ausfall der Ringprobe bei einer Milchprobe zur Feststellung der Agglutinmenge, also des Agglutinationstiter, das mit dem Milchserum angesetzte Röhrchenagglutinationsverfahren seine bisherige Bedeutung behalten.

Es steht fest, daß die mit der Milch ausgeführte Ringprobe auch im Auslande, so z. B. in der Schweiz, in Schweden, in Dänemark und in USA sich als brauchbar erwiesen und zum Nachweis von Banginfektionen weitgehend Anwendung findet. Durch sie kann die Untersuchung des Blutes einer Kuh auf Bangagglutinine weitgehend, aber nicht völlig ersetzt werden, nämlich da oft nicht, wo die Blutproben nur geringe Mengen oder gar nur Spuren von Agglutininen enthalten. Es lassen sich jedenfalls die Milchuntersuchungen in hervorragender Weise in den Dienst der Abortus-Bang-Tilgung stellen, wie dies vom Tiergesundheitsamt bereits geschehen ist und worüber alles Nähere aus dem Merkblatt Nr. 186 des Instituts zu ersehen ist.

Bisher keine Beachtung hat die Tatsache gefunden, daß die Ringprobe auch für die Prüfung von Blutproben auf Bangagglutinine geeignet ist, wie dies bereits 1939 von Fleischhauer (3) und von Canic (1) erkannt wurde. Das Verfahren hat den Vorzug großer Einfachheit und Schnelligkeit und den bereits erwähnten Nachteil, daß sich mit ihm die genaue Menge der vorhandenen Agglutinine nicht feststellen läßt. Ich verfuhr abweichend von der von Fleischhauer und von Canic angegebenen Methode einfach so, daß ich 0,1-0,5 ccm Blutserum zu 1 ccm roher Vollmilch von Zimmertemperatur zusetzte, das Gemisch gut schüttelte und evtl. 10-15 Min. stehen ließ. Dann wurden zu jedem Röhrchen 2 Tropfen Bunttest hinzugesetzt, die Röhrchen geschüttelt und anschließend 30 Min. in den Brutschrank gestellt; aber schon nach 15 Min. wurde erstmalig, nach 30 Min. endgültig abgelesen. In der nachfolgenden Tabelle II ist eine kurze Übersicht über die festgestellten Ergebnisse wiedergegeben.

Tabelle II

Ausfall der Ringprobe bei normaler Vollmilch, der Blutserum mit Bangagglutininen hinzugesetzt wurde. (1 ccm Rohmilch, verschiedene Mengen von Blutserum, 2 Tropfen ABR. test).

Blutserum stark positiv	Normale Rohmilch mit Zusatz von Blutserum			
	Aggl. wert des Blutes n. Diernhofer	0,1	0,25	0,5
Blutserum stark positiv	1122,00	+++	+++	+++
Blutserum stark positiv	1122,00	+++	+++	+++
Blutserum stark positiv	1122,00	+++	+++	+++
Blutserum stark positiv	566,00	+++	+++	+++
Blutserum positiv	141,5	++	++	+++
Blutserum schwach positiv	70,75	+	++	+++
Blutserum schwach positiv	70,75	+	++	+++
Blutserum zweifelhaft	39,75	-	++	+++
Blutserum zweifelhaft	39,75	-	++	+++
Spuren von Aggl. im Blutserum	20,3	-	+	+++
Spuren von Aggl. im Blutserum	15,9	-	+	+++
Blutserum negativ	-	-	-	-
Blutserum negativ	-	-	-	-

*) Eine Kuh, welche am 16. 6. 1951 eine völlig negative Reaktion des Blutes und der Milch aller 4 Euterviertel aufwies, wurde an diesem Tage mit 10 ccm thermisch abgetöteter Bangkultur subcutan geimpft. Daraufhin reagierte am 11. 7. 1951 das Blut hochpositiv (Diernhoferwert 267), während die Milch aller 4 Viertel nur Spuren von Agglutininen enthielt (2, 4; 6,3; 7,9; 13,55), aber auch positive Ringproben zeigten. Am 5. 9. 1951 war der Diernhoferwert des Blutes auf 288,3 abgesunken, die 4 Viertelgemelkproben enthielten keine Agglutinine mehr.

Es lassen sich also, wie die Tabelle II zeigt, Bangagglutinine im Blutserum durch die Ringprobe recht gut nachweisen, besonders wenn man den Blutserumzusatz von 0,5 ccm zu 1 ccm Vollmilch wählt*). Dann lassen sich sehr oft selbst noch Spuren von Agglutininen (Diernhoferwerte v. 10--15) im Blutserum feststellen. Es liegt nun nahe, in entsprechender Weise mit Magermilch zu verfahren. Bekannt ist, daß der mit der Milch angesetzte Bunttest unsicher wird, sobald die Vollmilchprobe einen Fettgehalt unter 1,5% hat. Hierauf hat besonders L e r c h e (5) hingewiesen. Wird dieser Tatsache nicht Rechnung getragen, so kann es bei der Einsendung der Anfangsmilch einer Kuh vorkommen, daß dieser Fettgehalt nicht erreicht ist und so Fehldiagnosen entstehen; allerdings sollte in solchen Fällen der geringe Aufraum bei den Proben nach dem Brutschrankaufenthalt solche Fehler verhindern. Setzt

Tabelle III
Vergleich des Ausfalles der Ringprobe bei Vollmilch, der daraus hergestellten Magermilch vor und nach Zusatz normaler Rohmilch

Aggl.wert der Voll- und Magermilch n. Diernhofer	Ausfall der Ringprobe:		
	bei Vollmilch	bei Magermilch	bei Magerm. mit Zusatz normaler Rohmilch
905,6	+ + +	—	+ + +
905,6	+ + +	—	+ + +
472,8	+ + +	—	+ + +
134,8	+ + +	—	+ + +
134,8	+ + +	—	+ + +
112,0	+ + +	—	+ + +
112,0	+ + +	—	+ + +
67,4	+ + +	—	+ + +
67,4	+ + +	—	+ + +
26,3	+ + +	—	+ + +
26,3	+ + +	—	+ + +
15,9	+ + +	—	+ + +

*) Weitere diesbezügliche Untersuchungen in der Zeit bis zum Erscheinen dieses Artikels ergaben, daß ein Zusatz von 0,2 ccm Blutserum zu 1 ccm Vollmilch am geeignetsten ist.

man nun zu je 1 ccm Magermilch 1 ccm normale Rohmilch hinzu, so ist der Fettgehalt von 1,5% gewährleistet und die Ringprobe ausführbar. Selbstverständlich kann man statt gewöhnlicher Vollmilch 6--8%igen Rahm verwenden und benötigt dann nur 1/2 ccm davon auf 1 ccm Magermilch. Die nachstehende Tabelle III zeigt das Verhältnis der Reaktionen der ursprünglichen Vollmilch zu der Magermilch vor und nach Zusatz von normaler Vollmilch bzw. von 6%igem Rahm.

Zusammenfassung:

1. Zum Nachweis von für Bangkeime in der Milch sprechende Banginfektion des Rindes ist die Ringprobe von einer bedeutend größeren Reichweite als die bei der Milchüberwachung vorgeschriebene Agglutinationsverfahren. Daher sollte die Ringprobe neben dem Agglutinationsverfahren bei der Milchüberwachung in Anwendung kommen, und es sollten die Bestimmungen in der Verordnung vom 15. 2. 1943 eine diesbezügliche Änderung erfahren.

2. Auch die mit normaler Rohmilch, der das zu untersuchende Rinderserum in ungefährem Verhältnis von 1:2 zugesetzt wird, ausgeführte Ringprobe ist ein einfaches, schnelles und weitgehend sicheres Nachweisverfahren von Bangagglutininen im Blute und damit der Abortus-Banginfektion des Rindes.

3. Setzt man der auf Bangagglutinine zu untersuchenden Magermilch gewöhnliche Vollmilch oder gewöhnlichen Rahm in solchen Mengen zu, daß ein Fettgehalt von über 1,5 gewährleistet ist, so ist die Ringprobe gleichfalls ein brauchbares Nachweisverfahren für Banginfektionen.

Schrifttum

1. C a u t e (1939): ABR-Probe bei Untersuchung von Blutproben auf Abortus Bang. Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr., 1939, 66. — 2. v a n D r i t t m a n n (1950): South-Africa Journal of Science, 1950, Nr. 7 (Ref.). — 3. F l e i s c h h a u e r (1937): a) Die Abortus-Bang-Ringprobe zur Feststellung von verdächtigen Vollmilchproben. Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr., 1937, 527. b) Über eine weitere Methode zur Untersuchung von Blutserum auf Abortus Bang. Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr., 1939, 399. — 4. F l e i s c h h a u e r u n d H e r r m a n n (1939): Über weitere Erfahrungen mit der Abortus-Bang-Ringprobe bei der Untersuchung von Milchproben auf Abortus Bang. Berl. u. Münch. tierärztl. Wschr., 1938, 393. — 5. L e r c h e (1949): Die Abortus-Bang-Ringprobe nach Fleischhauer und ihr diagnostischer Wert. Mon.-Hefte f. Vet.Med., 1949, 421.

Die Bekämpfung des seuchenhaften Verkälbens (Abortus-Bang)

Von Prof. Dr. Karsten,
Direktor des Tiergesundheitsamtes der Landwirtschaftskammer Hannover.

Nach wie vor kann das seuchenhafte Verkälben, der Abortus-Bang, sich für den Rinderzüchter äußerst verlustreich und lästig auswirken. Wird z. B. die Seuche in einem bislang völlig bangfreien Bestand mit vielen mitteltragenden Tieren frisch eingeschleppt, sei es durch Zukauf banginfizierter Färsen und Kühe oder sei es auf der Weide durch Verschleppung ausgestoßener Fruchte von Nachbarweiden, her oder auf andere Weise so pflegen die Verluste recht schwer zu sein. Viele Fehl- und Frühgeburten treten dann oft in wenigen Wochen auf!


Wir besitzen auch heute noch kein befriedigendes Mittel, um bei frisch angesteckten tragenden und mit Totgeburten oder mit Festsitzen der Nachgeburten, dem sich oft eine bleibende oder vorübergehende Unfruchtbarkeit anschließt. Die Versuche bei frisch angesteckten Rindern, die Bangkeime im Tierkörper durch die Anwendung von Arzneien, wie neuerdings durch Antibiotika, z. B. Penicillin, Streptomycin, Aureomycin usw., unschädlich zu machen, haben bislang noch zu keinem hinreichenden Erfolge geführt. Bei frisch an Abortus-Bang erkrankten Menschen ist die Sachlage bereits günstiger geworden.

Die frische und erstmalige Ansteckung tragender Tiere endet mit Fehl- und Frühgeburten oder dem Ausstreuen von vielen Bangkeimen bei den anscheinend normalen Geburten oder mit Totgeburten oder mit Festsitzen der Nachgeburten, dem sich oft eine bleibende oder vorübergehende Unfruchtbarkeit anschließt. Die Versuche bei frisch angesteckten Rindern, die Bangkeime im Tierkörper durch die Anwendung von Arzneien, wie neuerdings durch Antibiotika, z. B. Penicillin, Streptomycin, Aureomycin usw., unschädlich zu machen, haben bislang noch zu keinem hinreichenden Erfolge geführt. Bei frisch an Abortus-Bang erkrankten Menschen ist die Sachlage bereits günstiger geworden.

Somit verbleiben uns beim Rinde die alten Bekämpfungsmittel, um den Schäden durch die Seuche vorzubeugen oder sie doch wesentlich herabzusetzen. Sie bestehen in Folgendem:

I. Schaffung und Erhaltung bangfreier Bestände


- a) Staatliche Anerkennung als bangfreier Bestand. Hierfür ist u. a. vorgeschrieben, daß zweimal im Jahre die Blutproben aller über 1 Jahr alten Rinder auf Abortus-Bang untersucht werden und kein Tier positiv reagiert. Zwischen den beiden Blutuntersuchungen im Jahre muß eine Frist von mindestens 3 Monaten liegen. Rinder aus staatlich bangfrei anerkannten Herden führen in den Versteigerungskatalogen

das Zeichen 

Es wäre gut, wenn ganze Gemeinden, Siedlungsgenossenschaften usw. in den hierfür in Frage kommenden Gegenden sich noch mehr als bisher völlig bangfrei machen und anerkennen lassen würden.

- b) Bangfreier Bestand ohne Schutzimpfung der Jungtiere. Bei einem solchen Bestande erfolgt jährlich einmal die Untersuchung der Blutproben aller Kühe und zugelassenen Färsen auf Freisein von Abortus-Bang. Rinder aus

solchen Beständen sind in den Versteigerungskatalogen durch das Zeichen

 kenntlich gemacht. Die Besitzer

von solchen bangfreien Beständen, die auf die staatliche Anerkennung verzichten und eine zweimalige Blutuntersuchung im Jahre nicht wünschen, tun gut, gleichzeitig auch der Eutergesundheitskontrolle beizutreten, welche die Bangüberwachung in sich schließt und für welche die Kosten sehr gering sind. Ueber diese Eutergesundheitskontrolle gibt das vom Tiergesundheitsamte anzufordernde Merkblatt Nr. 194 Aufschluß. Auch diese bangfreien Bestände sollen dort, wo es möglich erscheint, gemeinde- oder genossenschaftsweise geschaffen, durch jährliche Blutuntersuchung auf weitere Bangfreiheit überwacht werden.

- c) Bangfreier Bestand mit Schutzimpfung der Jungtiere im Alter von 5 bis 12 Monaten. Es gibt viele Bestände, in denen früher das seuchenhafte Verkälben mehr oder weniger stark, d. h. in akuter oder chronischer Form herrschte, die sich aber durch Anwendung der Schutzimpfungen mit Bangstamm X oder Bangstamm Langenhagen 11 bei den Jungtieren im ersten Lebensjahre von dem Leiden befreiten. Manche Besitzer solcher Herden lassen nun die Blutproben aller Kühe und zugelassenen Färsen jährlich einmal auf Abortus-Bang untersuchen, um sich von der bestehenden Bangfreiheit der Herde zu überzeugen, setzen aber die Impfungen der Jungtiere im ersten Lebensjahre fort. Dies ist gerechtfertigt, wenn in der betr. Gegend, insbesondere in der Nachbarschaft, der Abortus-Bang verbreitet und mit Neueinschleppungen immerhin gerechnet werden muß. Erfolgt eine solche, so haben die Kühe und Färsen einen weitgehenden, wenn auch keinen hundertprozentigen Schutz vor Fehl- und Frühgeburten im Gegensatz zu den Kühen und tragenden Färsen in Beständen, in denen die Jungtierimpfungen nicht vorgenommen wurden. Rinder aus solchen bangfreien Beständen mit Schutzimpfung der Jungtiere werden in den Versteigerungskatalogen bisher noch nicht kenntlich gemacht, für sie käme etwa das

Kennzeichen  in Betracht, d. h.

bangfrei mit Impfung der Jungtiere. Tragende Färsen aus solchen Herden sind für den Ankauf in Bestände mit bestehenden Banginfektionen recht geeignet.

II Schutzimpfungen bei den Jungtieren in erkrankten und gefährdeten Beständen.

Die unter I aufgeführten Bestände sind durchweg solche in denen Zukäufe von

weiblichen Rindern zur Zucht nicht erfolgen und auch nicht notwendig sind. Der häufige Ankauf von weiblichen Zuchttieren schließt die hohe Gefahr der Bangeinschleppung in sich. Der einmalige negative Ausfall der Blutuntersuchung bei einer Färs oder Kuh auf Abortus-Bang genügt nicht, um Bangfreiheit des Tieres zu gewährleisten.

Recht sicher ist aber stets die Blutuntersuchung 2 Wochen nach dem Abkalben und naturgemäß auch nach einem evtl. unermuteten Verkälben. Wer einen völlig bangfreien Bestand hat und bangfreie weibliche Zuchttiere erwerben will oder muß (Vorzugsmilchbetriebe), tue dies aus Herden, die bereits zwei Jahre lang ununterbrochen bangfrei sind. Das gleiche gilt übrigens sinngemäß auch vom Ankauf sicher reaktionstuberkulosefreier Färsen.

Tatsache ist, daß wir in Beständen mit laufendem oder häufigem Ankauf weiblicher Zuchttiere, selbst wenn klinische Erscheinungen, wie Fehl- und Frühgeburten, Festsitzen der Nachgeburten usw. nicht wahrgenommen wurden, oft Tiere mit Banginfektionen vorhanden sind. Manche dieser Tiere sind beim Ankauf sicher bangfrei gewesen und haben sich im neuen Bestande erst angesteckt. Es gibt Gemeinden und Molkeereinzugsgebiete, in denen in 30% der Herden banginfizierte Kühe angetroffen werden.

Für solche Bestände und Gemeinden sind die Schutzimpfungen der Jungtiere im Alter von 5 bis 12 Monaten mit lebender Kultur (Bangstamm X oder Bangstamm Langenhagen 11) außerordentlich wichtig.

Diese Impfungen werden vorgenommen

- a) In Beständen, welche infolge der Schutzimpfung bangfrei wurden, diese Impfungen aber vorsichtshalber fortsetzen (siehe unter I c). Man impft hier die Jungtiere zur Kostenersparnis vielfach nur noch einmal mit 10 cem Bangimpfstoff X statt zweimal mit je 5 cem dieses Impfstoffes. Es ist auch zweckmäßig, in diesen bangfreien Beständen die Jungtierimpfungen schon mit dem 9. Lebensmonat abzuschließen, damit verbleibende Blutreaktionen auf Abortus-Bang verleden werden. Im allgemeinen ist die nach der Schutzimpfung der Jungtiere mit Bangstamm X oder Bangstamm Langenhagen 11 eintretende positive Blutreaktion nach 6 Monaten, zumeist sogar noch früher, wieder verschwunden. Ausnahmen von dieser Regel sind recht selten nach Impfungen bei Jungtieren des 2. Lebensjahres immerhin häufiger.

- b) In Beständen mit noch bestehenden Banginfektionen, das sind zumeist solche, in welche laufend Färsen und nicht selten auch Kühe eingestellt wer-

den müssen. Diese zumeist im hochtragenden Zustände eingestellten Tiere werden, falls sie wieder zugelassen werden sollen, zweckmäßigerweise bald, etwa 1 bis 2 Wochen nach dem Abkalben, einmal mit 10 ccm Bangstamm X Schutzimpfstoff. Diese Schutzimpfung ist zwar nicht so wirksam wie bei den Jungkühen des ersten Lebensjahres, immerhin besser, als wenn die eingestellten Zuchtkühe ohne Impfschutz bleiben.

Über den Stand der Banginfektion in seinem Bestande erhält der Besitzer Aufschluß durch die Blutuntersuchung bei jeder Kuh und jeder zugelassenen Färse, wobei allerdings zu berücksichtigen ist, daß die Kühe nach einer Impfung gleichfalls mehr oder weniger lange im Blute reagieren. Auch die Untersuchung der Milch jeder einzelnen Kuh (Eutergesundheitskontrolle) gibt Aufschluß über den Stand der Banginfektion in einer Herde; es werden allerdings geringe Blutreaktionen (zweifelhafte, Spuren von Bangantikörpern) durch die Milchuntersuchung nicht immer erfaßt. Die zu untersuchende Milch muß einen Fettgehalt von mindestens 1,5% haben. Die Kühe sind daher vor der Probeentnahme gut anzumelken oder man schickt die Endmilch aus allen 4 Vierteln in einer Flasche ein. Solche 50 bis 100 ccm fassenden Flaschen werden auf Wunsch vom Tiergesundheitsamt zur Verfügung gestellt. In bangfreien Beständen, die stark gefährdet sind; das sind insbesondere solche, welche sich in der Nachbarschaft banginfizierter Herden befinden oder in die laufend weibliche Tiere aus Gengen mit stärkerer Verseuchung eingestellt werden. Für diese nur gefährdeten Bestände hat der Besitzer bei Beginn der Jungtierschutzimpfungen mit Bang-

stamm X die Genehmigung des zuständigen Regierungsveterinärrates einzuholen (siehe Flugblatt des Zentralverbandes Deutscher Rinderzüchter vom Dezember 1947), während die Schutzimpfungen der Jungkühe mit Bangstamm X im ersten Lebensjahre in jedem banginfizierten Bestande ohne besondere polizeiliche Erlaubnis von jedem Tierarzt vorgenommen werden dürfen.

In Gemeinden, in denen in den meisten Beständen wegen bestehender Banginfektion die Schutzimpfung mit Bangstamm X vorgenommen wird, tun auch die Besitzer von Beständen ohne Banginfektionen oft gut, von dieser Schutzimpfung Gebrauch zu machen; sie warten aber hiermit auch heute noch zumeist so lange, bis die Fehl- und Frühgeburten gehäuft auftreten oder gar katastrophal werden.

Auf Grund vorstehender Ausführungen kann sich jeder Rinderbesitzer zu der Bekämpfung einschl. evtl. Vorbeuge entschließen, welche für seinen Bestand am geeignetsten erscheint.

Es seien zum Schlusse noch einige Fragen beantwortet, die von den Rinderbesitzern immer wieder aufgeworfen werden:

1. Die Impfung tragender Kühe und Färsen mit lebender Bangkultur (Bangstamm Langenhagen 11 oder Bangstamm X) ist verboten, Impfungen mit abgetöteter Bangkultur oder mit chemischen Präparaten sind zulässig, haben aber keinen hinreichenden Erfolg. Hier klafft eine Lücke.

2. Bei banginfizierten tragenden Färsen und Kühen, einschl. solcher, welche verkalben, können die positiven Blutwerte ganz (selten) oder bis auf Reste (zweifelhafte Blutwerte, Spuren von Banganti-

körpern) verschwinden. Tiere, welche ein halbes Jahr nach dem Verkalben noch positiv auf Abortus-Bang reagieren, pflegen jahrelang, zumeist zeitlebens Reagenten zu bleiben. Sie scheiden dann auch in der Regel Bangkeime mit der Milch jahrelang aus.

3. Neben dem Ankauf weiblicher Zuchttiere ist die Rückkehr von Rindern von Sammelweiden eine Haupteinschleppungsquelle. Wer Näheres erfahren will, wie er sich bei Auftreten auf Sammel- oder Pensionsweiden zu verhalten hat, fordere das Merkblatt Nr. 103 des Tiergesundheitsamtes an.

4. In bangfreien Beständen können plötzlich wie ein Blitz aus heiterem Himmel Fehl- und Frühgeburten auftreten, deren Ursprung nicht immer aufzuklären ist. Vorsichtshalber sondere man jedes Tier, das sich in der zweiten Hälfte der Trächtigkeit zum Verkalben anschiebt, vorübergehend in einem besonderen Stalle ab und lasse die Ursache der Fehlgeburt aufklären. Diese vorübergehende Absonderung ist auch wichtig für die unter II aufgeführten Bestände.

5. Durch das Auftreten der Maul- und Klauenseuche kann der Abortus-Bang aktiviert werden, d. h. in chronisch bangverseuchten Beständen treten nun wieder vermehrt Fehl- und Frühgeburten ein, sogar Schutzimpfungen können z. T. durchbrochen werden.

6. Man nütze die bevorstehenden Wintermonate zur Vornahme der Blutuntersuchungen auf Abortus-Bang aus. In den Sommermonaten bei bestehendem Weidengang stoßen die Blutentnahmen auf Schwierigkeiten. Das Tiergesundheitsamt berechnet für die Untersuchung einer Blutprobe auf Abortus-Bang 0,50 DM. Die für die Einsendung der Blutproben erforderlichen Rührchen werden auf Anforderung kostenlos zur Verfügung gestellt.

TIERARZTLICHE UMSCHAU

LEITUNGSBEREICH FÜR ANIMALIEN- UND VETERINÄRMEDIZIN

Verlag: Terra-Verlag © Konstanz a. B., Postfach 222

Ein einfaches Gerät zur Feststellung von Banginfektionen durch die Ringprobe im Stalle oder anderswo

von

Dr. Klaus Karsten, Hannover

Bekanntlich wird die Banginfektion häufig festgestellt, wie zum Beispiel bei der Eutergesundheitskontrolle, durch die Untersuchung der Milch. Dabei kann es keinem Zweifel unterliegen, daß durch diese Untersuchung längst nicht so viele banginfizierte Kühe herausgefunden werden wie durch die Untersuchung der Blutproben der betr. Kühe. Es sind insbesondere die Kühe mit geringen Mengen von Bangagglutininen im Blute (Spuren davon, schwach positive, zweifelhafte Reaktionen), welche durch die Milchuntersuchung oft nicht erfaßt werden, ganz gleich mit welchen serologischen Verfahren man die Milch prüft. Dies geschieht heute hauptsächlich durch die mit dem Milchserum angestellte Langsamagglutination und durch die mit der Vollmilch angesetzte Ringprobe (ABR). Namentlich diese letztere ist bei Überwachung des Milchverkehrs außerordentlich wichtig und leistet auch bei der Bekämpfung des Leidens gute Dienste. Sie wird z. Zt. aber fast nur in den veterinärmedizinischen Instituten und Laboratorien vorgenommen, obgleich ihre Ausführung auch im Stalle und an anderen Orten sehr wohl möglich ist. Hierüber hat bereits im Jahre 1947 Horst Hagemeyer auf Veranlassung von Prof. Dr. Lercho, dem Direktor des Institutes für Lebensmittelhygiene der Universität Berlin, Untersuchungen angestellt und in einer Dissertation niedergelegt. Er kommt zu folgendem Schlusse:

„Die ABR ist im Stalle anwendbar, wenn Körpertemperatur durch Wasserbad oder ein entsprechendes Ver-

fahren gehalten wird und kann die serologischen Verfahren ersetzen. Allerdings wird der Praktiker im allgemeinen weder die Zeit aufbringen noch das unverhältnismäßig umständliche Instrumentarium mit sich führen können, das die Wasserbad-ABR verlangt. Kultur- und Tierversuch zur Feststellung der Bangbakterienausscheidung bleiben aber unentbehrlich."

Sicherlich wird die Feststellung von Bangkeimen, sei es durch Kultur- oder Tierversuch, wegen der hierzu erforderlichen Hilfsmittel den Instituten in vollem Umfange vorbehalten bleiben. Aber auch der Nachweis einer Banginfektion durch die Ringprobe wird weiterhin in der Regel in den Instituten erfolgen. Das schließt aber nicht aus, die Ringprobe, wenn eine sofortige Entschei-

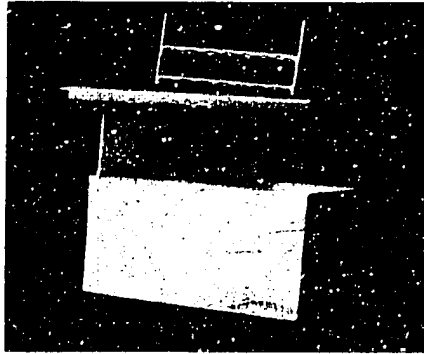


Abb. 1

dung, ob Abortus Bang vorliegt oder nicht, erwünscht ist, gleich im Stalle oder anderswo, wie z. B. an der Rampe einer Molkerei auszuführen, falls das hierfür erforderliche Instrumentarium einfach und leicht anwendbar ist. Dies läßt sich nun tatsächlich so gestalten. Voraussetzung für die einwandfreie Durchführung und die Erlangung zuverlässiger Ergebnisse ist bekanntlich, daß

1. die Milch einen Fettgehalt von mindestens 1,5% hat;
2. die Reaktion nicht bei Zimmer-, sondern bei etwa Brutschranktemperatur ausgeführt wird; aber auch

Wasserbadtemperaturen, d. h. solche von 56° C und darüber bis zu 65° C sind durchaus zulässig;
3. die Testflüssigkeit (Hämatoxylin- oder Tetrazolium-Test) einwandfrei ist und gut anzeigt.

Über die von mir entworfene Apparatur geben die Abbildungen Aufschluß. In der Abbildung 1 sehen wir unten einen größeren Aluminiumbehälter, in welchen der darüberstehende kleinere Behälter mit seitwärts verbreitertem oberen Rand eingesetzt werden kann, sodaß zwischen beiden Behältern ein Hohlraum entsteht, in den durch das Loch im Deckel (Abb. 2) warmes Wasser eingefüllt werden kann. Der so gebildete innere Hohlraum (Abb. 2) dient zur Aufnahme eines Gestelles (Abb. 1 oben), in welchen 14 Glasröhrchen eingestellt werden

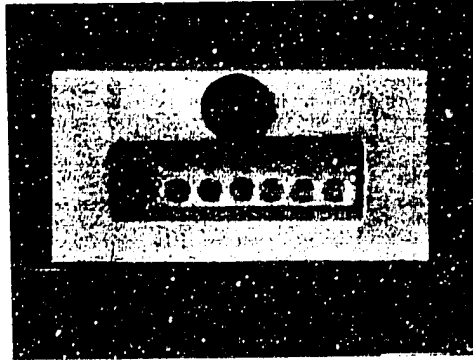


Abb. 2

können. Der Gestellraum wird dann durch einen Deckel mit Knopf abgeschlossen. Es werden auf Wunsch auch größere Apparate hergestellt, z. B. solche, in denen 2 Gestelle zu 14 Röhrchen Aufnahme finden können.

In jedes Röhrchen bringt man 1 cem der zu untersuchenden Milch, was durch Markierung dieser Menge an der Glaswand leicht möglich ist und setzt aus einer Tropfflasche 1 Tropfen der Testflüssigkeit hinzu, schüttelt gut durch, sodaß die Milch gleichmäßig blau-violett gefärbt ist, und stellt das Gestell in den Hohlraum, der mit dem Deckel geschlossen wird. Nach 30 Minu-

ten nimmt man das Gestell mit den beschickten Röhren vorsichtig heraus und liest die Reaktion endgültig in der bekannten Weise ab. Die Reaktion tritt aber, besonders bei Milchproben mit höherem Agglutiningehalt oft schon nach 20 oder 15 oder gar 10 Minuten auf, sodaß man bereits nach 15 Minuten erstmalig ablesen kann, oder man nimmt sogar 3 Ablesungen vor, nämlich nach 10, 20 und 30 Minuten. Wer Zeit und Lust hat, kann sich die Ergebnisse nach 10, 20 und 30 Minuten als positiv, fraglich oder negativ notieren oder gar als ++++, ++, +, ? und —. Die Beurteilung ist die übliche d. h.

- ++++ bedeutet 2 bis 4 mm breiter scharf abgesetzter blauvioletter Ring, die restliche Milchsäule ist rein weiß;
- ++ bedeutet 2 bis 4 mm breiter blauvioletter Ring, der weniger scharf abgesetzt ist, sonstige Milchsäule nicht völlig entfärbt;
- + bedeutet 1 bis 2 mm dicker, mehr oder weniger deutlich oder undeutlich abgesetzter Ring von verwaschener bläulicher Farbe, die übrige Milchsäule ist wenig oder kaum entfärbt;
- ± bedeutet recht schwacher, oft nur strichförmiger bläulicher Saum, die übrige Milch ist weniger bläulich;
- bedeutet die Milch zeigt gleichmäßig blauviolette Farbe.

Der untersuchende Tierarzt bekommt bald durch Vergleich von sicher positiven und sicher negativen Milchproben ein hinreichendes Beurteilungsvermögen.

Will man nun im Stalle die Probe anwenden, etwa bei einer oder ein paar Kühen, die kürzlich verkalbt haben, oder bei denen die Nachgeburten sitzengeblieben sind, so verfährt man so, daß nach gründlichem Anmelken aus jedem der 4 Striche ein Strahl in eines der Röhren des Gestelles oder in ein Glas oder eine Tasse gemolken wird und nach gutem Durchmischen ein Röhren bis zur Marke gefüllt wird, worauf ein Tropfen des Testes aus der Tropfentestflasche hinzugesetzt wird. Selbstverständlich läßt sich die Probenentnahme und die Beschickung der Röhren beliebig variieren, z. B. so, daß man aus jedem Strahl in je ein Röhren bis zur Marke einmelkt oder aus den beiden Vordervierteln in ein Röhren und aus den beiden Hintervierteln in ein zweites.

Man braucht auch nicht allzubesorgt zu sein, daß die Milchmenge genau bis zur Markierung reicht, bei etwas größerer Milchmenge setzt man nur etwas mehr Testflüssigkeit, etwa 2—3 Tropfen, hinzu. Wer ganz exakt arbeiten will, gibt mit einer Pipette 1 ccm Milch in das Röhren und setzt einen Tropfen der Testflüssigkeit mit einer Tropfpipette hin-

zu. Dadurch wird das Verfahren aber für den Stall wieder zu kompliziert, und die Notwendigkeit zu einer solchen Komplizierung liegt durchaus nicht vor. Will oder kann man die Reaktion in einem wenig geeignet erscheinenden, vielleicht zu engen oder dunklen Stall selbst nicht ausführen, so nimmt man die in einem Fläschchen oder einer Tasse aufgefangene Milch der betr. Kuh oder der in Frage kommenden Kühe mit an einen geeigneteren Ort des Gehöftes, um hier die Untersuchung anzustellen. Hierbei darf sich die Milch, ohne daß die Untersuchungsergebnisse leiden, bis auf 10° C und darunter abkühlen; es ist dann gut, wenn die Temperatur im Gestellraum die Bruttemperatur mit 37° C überschreitet, was ja leicht zu erreichen ist, denn warmes Wasser von etwa 60° C ist überall zu bekommen, man kann es sich evtl. sogar durch einen mitgeführten kleinen Tauchsieder unschwer selbst herstellen.

Natürlich läßt sich diese Schnellprobe auch bei einer Sammelmilch in Anwendung bringen, zumal die Ringprobe gerade hierbei recht sicher arbeitet, ebenso gut wie und oft besser als das Langsamagglutinationsverfahren. Es kann somit nicht selten durch die Bestandsmilch- oder die Kannenmilchuntersuchung sehr schnell der Beweis erbracht werden, daß in einer Herde Banginfektionen vorhanden sind. Das dürfte dem praktischen Tierarzt oft schon genügen, um die sofortige Schutzimpfung der Jungrinder im ersten Lebensjahre mit Bangstamm X verantworten zu können.

Hervorgehoben sei, daß die 30 Minuten währende Dampfpasteurisierung der Milch bei 62—65° C nicht genügt, um den positiven Ausfall der Ringprobe in Fortfall zu bringen, obwohl die Bangkeime dann bereits sicher abgetötet sind, daß aber bei vorschriftsmäßig kurzzeiterhitzter oder bei hochehiteter Milch die Ringprobe stets negativ ausfällt. Schließlich sei erwähnt, daß man sogar die Blutproben von Kühen mit der beschriebenen Apparatur durch die Milchringprobe auf Banginfektionen untersuchen kann. Zu diesem Zweck setzt man 0,2 ccm des zu prüfenden Bluteserums zu 1 ccm normaler Vollmilch oder zu der Milch derselben Kuh, schüttelt gut durch und führt nun die Ringprobe aus. Derartige Untersuchungen werden aber in der tierärztlichen Praxis, wenn sie überhaupt erfolgen sollten, doch stets Ausnahmefälle bleiben. Für die Blutuntersuchung auf Abortus Bang, die selbstverständlich die genauesten Ergebnisse liefert, wie auch bei Massenuntersuchungen von Milch wird man die Proben einem Institut einsenden.

Nicht unerwähnt bleibe, daß man den beschriebenen kleinen Apparat, gewissermaßen ein Thermostat im Kleinen, behelfsmäßig auch zu anderen Zwecken herichten kann. Füllt man den Hohlraum mit Wasser von 45° C, erhält man einen Brutschrank, füllt man ihn mit Eiswasser oder mit kleinen Eisstücken, einen Kühlschrank. Um die gewünschte Temperatur längere Zeit zu halten, braucht man den Apparat nur in eine wollene Decke etc. einzuschlagen oder in eine passende Holzkiste zu stellen.

Zusammenfassung

Es wird eine Apparatur beschrieben, mit welcher die Untersuchung von Milch durch die Ringprobe auf Banginfektionen im Stalle oder anderswo und mit der dieser Probe zukommenden Sicherheit ausführbar ist.

Schrifttum

1. Fleischhauer (1937): Die Abortus-Bang-Ringprobe zur Feststellung von verdächtigen Vollmilchproben. D.M.M.T.W. Schr. 1937, 327. /
2. Hagemolster (1947): Ist die Abortus-Bang-Ringprobe nach Fleischhauer im Stalle anwendbar? Inaug.-Diss. Berlin, 1947. / J. Karsten, K. Taus (1953): Ist der RdeErl. d. R.M.d.L. — 3 b 3569/42/ 4500 — über die Beauslandung von Milch wegen Abortus-Bang-Infektion abänderungsbedürftig? Der Lebensmittelliterat 3, Nr. 7. / 4. Schejner (1953): Wann verschwinden die Abortus-Bang-Ringprobe und die Brucellaagglutinine in blutänglich erhitzten Milchproben? Der Lebensmittelliterat 4, Nr. 4.

*) Die beschriebene Apparatur kann von der Firma Ostdeutsche Werkzeuggemeinschaft G.m.b.H., Kiel-Hassee, bezogen werden, die Testflüssigkeit auch von dieser oder einem näher gelegenen veterinärmedizinischen Institut.

STAT

Page Denied

Next 50 Page(s) In Document Denied

STAT

Nr. 11/12 1953

Sonderdruck

d)

TIERARZTLICHE UMSCHAU

ZEITSCHRIFT FÜR ALLE GEBIETE DER VETERINÄRMEDIZIN

Verlag: Terra-Verlag @ Konstanz a. B., Postfach 222

Aus der Bayer. Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleißheim
(Direktor: Dr. habil. Scheffner)

Die Diagnose der Trichomonadenseuche beim Bullen

von
Dr. A. Welkl, Dr. R. Schwarz und Dr. W. Mundt, Schleißheim

Die Feststellung der Trichomonadenseuche in einem Deckring oder einer Gemeinde erfolgte bis zum Jahre 1949 fast ausschließlich durch Untersuchung von verworfenen Früchten oder Scheidenschleim- und Gebärmuttereschleimproben weiblicher Tiere. In den meisten Fällen wurde dieses Material an ein Veterinäruntersuchungsinstitut eingeschickt und auf Grund des Ausfalles dieser Untersuchung die Entscheidung über das Vorliegen oder Nichtvorliegen der Seuche in dem betreffenden Deckring getroffen und das Behandlungsverfahren eingeleitet. Dieser Art der Feststellung der Seuche haftet eine Reihe von Fehlern an. Die Trichomonaden sind bekanntlich sehr empfindlich gegen Fäulnis, gegen Änderung des pH-Wertes usw. Es ist deshalb leicht erklärlich, daß der Nachweis der Flagellaten bei eingeschickten Früchten vielfach nicht mehr möglich ist, da dieselben teilweise stärkere Grade von Fäulnis aufweisen oder hochgradig verschmutzt sind. Ebenso ist vorstellbar, daß durch starkes Abwaschen solehor aus der Stallstreu oder der Jaucherinne hervorgezogener Früchte rein mechanisch ein Großteil der Erreger entfernt wird. Auch Art der Verpackung und Zeitdauer des Transportes spielen natürlicherweise eine Rolle. Tatsächlich ergibt sich, daß bei einer beträchtlichen Anzahl eingeschickter Frühverwerfensfälle Trichomonaden nicht mehr nachgewiesen werden können. Wir sind uns dabei bewußt, daß nicht jeder Frühverwerfensfall durch

Trichomonaden bedingt ist. Durch viele Nachuntersuchungen ist aber einwandfrei bestätigt, daß eine Reihe bei der Untersuchung im Institut negativer Frühverwerfenfälle tatsächlich ursächlich auf eine Trichomonadeninfektion zurückzuführen war. Außerdem ist zu berücksichtigen, daß Frühaborte nicht immer zur Verfügung stehen, wenn der Verdacht des Vorliegens einer Trichomonadeninfektion auftaucht und durch Nachweis des Erregers der Verdacht bestätigt oder beseitigt werden soll.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei der Untersuchung von Sekretproben ansteckungsverdächtiger weiblicher Tiere. Es ist bekannt, daß das Auftreten von Trichomonaden im Scheidensekret weitgehend von der Zyklusphase und von der Dauer der Infektion (Immunität) abhängig ist. Es ist keine Seltenheit, daß in einer Vielzahl von Sekretproben aus einem Deckring trotz Vorliegen einer Trichomonadeninfektion in demselben die Erreger nicht nachweisbar sind. Auf die besondere Ergiebigkeit der Untersuchung des Brunstscheimes aus dem Uterus, die Jahncl festgestellt hat, sei verwiesen.

Aus diesen kurzen Angaben ist schon ersichtlich, daß die Diagnose der Trichomonadenseuche keineswegs befriedigend ist, wenn sich die Untersuchung lediglich auf das weibliche Tier erstreckt. Falsche Ergebnisse und Verzögerung bei der Anordnung der Decksperrung sowie der Einleitung des Behandlungsverfahrens und dadurch bedingte Totalverseuchung des ganzen Deckringes oder ganzer Gemeinden sind die Folgen.

Logischerweise hat sich aus diesen Gründen die Feststellung der Trichomonadenseuche in den letzten 4 Jahren immer mehr auf den Nachweis der Erreger beim Bullen verlagert. Die Übertragung durch den Deckakt ist vorerst allein einwandfrei erwiesen, wenn auch im Schrifttum andere Möglichkeiten in Ausnahmefällen in Betracht gezogen werden (Fliegen, Spülgeräte, Schwanzschlagen, Schmutzinfektion aus der Streu usw.). Nach dem Ergebnis verschiedener Untersuchungen ausländischer Autoren tritt beim Bullen keine örtliche Immunität auf. Es gibt, von ganz geringen Ausnahmen abgesehen, keine Selbstheilung wie beim weiblichen Tier, und die Erreger sind beim infizierten Bullen dauernd, wenn auch in verschiedener Anzahl, nachweisbar. Letzteres können wir auf Grund unserer Untersuchungen bestätigen. Es ist deshalb ein großer Vorteil, daß bei Vorliegen irgendwelcher Verdachtsmomente jederzeit durch Untersuchung der Bullen die Frage, ob in dem fraglichen Deckring Trichomonadenseuche vorliegt oder

nicht, geklärt und damit eine rasche Entscheidung getroffen werden kann.

Ein weiterer Vorteil der Bullenuntersuchung besteht darin, daß wir einwandfrei ermitteln können, welche Bullen einer Gemeinde- oder Regiebullenhaltung infiziert sind. Die Bedeutung dieser Tatsache ergibt sich aus der Überlegung, daß früher praktisch bei Feststellung der Trichomonadenseuche in einer Gemeinde sämtliche vorhandenen Bullen abgeschafft werden mußten, sofern nicht eine strenge Einteilung der einzelnen Deckringe gewährleistet war. Diese ist aber meist nicht gegeben bzw. kann nicht überwacht werden. Daraus ergibt sich andererseits die Forderung, daß in jedem Falle die Untersuchung aller Bullen einer Gemeinde durchgeführt werden muß, um von vornherein Rückschläge auszuschalten. Die Weiterverwendung von irgendwie ansteckungsverdächtigen Bullen in Deckringen, die saniert werden sollen, bringt stets Unsicherheitsfaktoren in das Behandlungsverfahren. Nach unseren bisherigen Feststellungen sind in großen Regiebullenhaltungen keineswegs immer sämtliche Bullen infiziert, die in einem Stalle stehen, selbst wenn keine Deckringeinteilung gegeben war. Als Beispiele seien erwähnt, daß in einer Regiebullenhaltung von 7 Bullen 3, in einer anderen von 8 Bullen 4 auf Grund wiederholter Nachprüfungen sich als infiziert erwiesen. Neben finanziellen Gesichtspunkten spielt hier auch die Erhaltung wertvollen Zuchtmaterials eine Rolle.

Die Bedeutung der Bullenuntersuchung ist mit den angeführten Gesichtspunkten nicht erschöpft. Es soll hier nur an die Bullenuntersuchung im Rahmen der einjährigen Pflichtherdenüberwachung, der freiwilligen Herdenbetreuung, bei der Untersuchung von Auktionsbullen und Ankaufsbullen aus infizierten Deckringen gem. M.B. v. 31. 8. 51 sowie auf die Möglichkeit der Altbullenuntersuchung beim kleinen Ermittlungsdienst des Rinder-Gesundheitsdienstes verwiesen werden. Auch diese Untersuchungen dienen der Seuchenfeststellung, sind aber mehr als prophylaktische Maßnahmen aufzufassen. Außerdem muß die Feststellung der Ausheilung behandelter Bullen in Betracht gezogen werden, sowie die Untersuchung von Bullen bei Einstellung auf Besamungsstationen.

Wir stellen damit den Bullen keineswegs in den Mittelpunkt der Trichomonadenbekämpfung, aber in den der Trichomonadenfeststellung. Es soll lediglich die Wichtigkeit dieser Untersuchung entsprechend herausgestellt werden.

Bei der Bedeutung, die die Bullenuntersuchung bei der Feststellung, Bekämpfung und Prophylaxe der Deckseuchen einnimmt, darf in Kürze auf die Technik der Probeentnahme und der Untersuchung der Vorhautspülprobe eingegangen werden, Verfahren, die im allgemeinen bekannt und wiederholt beschrieben sind (Hess 1, Abeloin 2).

Mit ganz wenigen Ausnahmen kann bei ruhigem Vorgehen und entsprechender Hilfeleistung die Spülprobeentnahme ohne größere Gefahr vorgenommen werden. Im Laufe von 4 Jahren war bei mehreren Tausenden von Untersuchungen unter landläufigen Verhältnissen bei 2 Bullen die Entnahme der Vorhautspülprobe wegen Schreckhaftigkeit der Tiere nicht möglich. Das Abschneiden der Pinselhaare ist in allen Fällen anzuraten, da durch Verklebung und Verfilzung derselben die Einführung des Schlauches oder eines Hartgummistückes in die Öffnung des Vorhautsackes sehr erschwert wird. Bullen sind gegenüber Zerren an den Pinselhaaren sehr empfindlich, werden unruhig und schlagen, wodurch die Gefahr für den Untersucher wesentlich erhöht wird. Bei Bullen, die gut gepflegt sind und bei denen die Vorhautöffnung und die Umgebung nicht verschmutzt sind, ist vorheriges Waschen und Desinfizieren keine absolute Notwendigkeit. Die Reizung des Bullen vor der Probeentnahme ist für den Erfolg der Untersuchung nicht ausschlaggebend. Zur Probeentnahme wird hier ein Gummiballon Größe 11, Fassungsvermögen 100 ccm mit Hartgummiaufsatz verwendet. Als Spülflüssigkeit dient sterile physiologische Kochsalzlösung, hergestellt aus jodarmem Salz (Tabletten Merck und destilliertes Wasser). Längeres Aufbewahren einer wiederholt geöffneten Flasche mit Kochsalzlösung ist nicht zu empfehlen, da bei irgendeiner Verunreinigung mit dem Vorkommen von kleineren, den Trichomonaden ähnlichen Flagellaten zu rechnen ist, die sich in derselben gut vermehren. Die Untersuchung für weniger Geübte kann dadurch erschwert oder es können Fehldiagnosen gestellt werden. Als ausreichend, aber doch notwendig wird die Infusion von 60—80 ccm Flüssigkeit erachtet. Kleinere Mengen reichen nicht aus, um den Vorhautsack großer Bullen richtig durchzuspülen, Mengen von 200—300 ccm geben eine zu starke Verdünnung. Größere Flüssigkeitsmengen lassen sich in der Praxis nicht zentrifugieren, was aber bei so starker Verdünnung notwendig wäre. Da die Trichomonaden im Vorhautsack des Bullen an den hintersten Teilen (Collum penis und Umschlagstelle) sitzen, ist die gründliche Massage dieser Partie bei gleichzeitigem kräftigem Durchschütteln des ganzen Vorhautsackes während 2—3 Minuten notwendig. Daß der Bulle vor

der Untersuchung 2—3 Tage nicht gedeckt haben soll, ist bekannt. Ebenso ist unbedingt notwendig, daß die Bullen einige Tage vor der Probenentnahme nicht vorbehandelt werden. Aus prophylaktischen Gründen werden bei Bullen häufig Spülungen mit dünnen H_2O_2 -, Chloramin- und Chinolösungen vorgenommen oder Bovoflavin- und ähnlich wirkende Salben als Vorbeugungsmittel verwendet. Das negative Untersuchungsergebnis bei derart vorbehandelten Bullen ist nicht heweisend.

Erwähnt sei noch, daß die Spülflüssigkeit nicht auf Körpertemperatur angewärmt werden soll, da Bullen sonst vielfach zum Harnabsatz veranlaßt werden. Mit Harn durchsetzte Spülproben eignen sich bestenfalls zur sofortigen mikroskopischen Untersuchung, aber nicht zu einem langandauernden Versand bzw. zur Anzucht von Trockennährböden. Außerdem muß in vielen Fällen die erhebliche Verdünnung der Spülflüssigkeit in Betracht gezogen werden. Durch Infusion zu kalter Spülflüssigkeit werden die Bullen erschreckt; außerdem soll die Sicherheit der Untersuchungsergebnisse beeinträchtigt werden, vielleicht durch allzu starke Retraction des Penis und Kontraktion der Schleimhaut. Uns ist eine Benachteiligung des Untersuchungsergebnisses dadurch allerdings noch nicht aufgefallen. Trotzdem soll jede nur irgendwelche Möglichkeit der Beeinträchtigung des Untersuchungsergebnisses vermieden werden. Auf das Vorkommen der Protozoen in den Geschlechtsorganen und Anhangsdrüsen braucht keine Rücksicht genommen zu werden, da solche Bullen ohne Zweifel Trichomonaden auch im Vorhautsack beherbergen.

Die Untersuchung der wiedergewonnenen Spülflüssigkeit erfolgt durch Mikroskopie und bei negativer mikroskopischer Untersuchung durch Einleitung des Kulturversuches. Die mikroskopische Untersuchung ist innerhalb 3 Stunden nach erfolgter Probenentnahme durchzuführen. Zu diesem Zwecke werden 20 ccm wiedergewonnene Spülflüssigkeit mit einer Handzentrifuge 3 bis 5 Minuten ausgeschleudert, die Flüssigkeit abgossen und der Bodensatz im Nativpräparat untersucht. Auch durch längeres ruhiges Stehenlassen setzt sich ein Bodensatz ab. Nachdem aber selbst durch Zentrifugieren nicht alle Trichomonaden zu Boden geschleudert werden (Günzler 3), ist bei ruhigem Stehenlassen das Absetzen der Trichomonaden noch weniger zu erwarten. Um den Wert der mikroskopischen Untersuchung von Vorhautspülproben darzulegen, sollen Ergebnisse von Bullenuntersuchungen angegeben werden, die auf Anforderung von Amtstierärzten, praktischen

Tierärzten, Tierzuchtämtern, Zuchtgenossenschaften und Landwirten durch Sterilitätstierärzte des Rindergesundheitsdienstes der hiesigen Geschäftsstelle im Jahre 1952 vorgenommen wurden. Hierbei sind nur Deckgemeinschaften ausgewertet, die sich durch die Untersuchungen als infiziert erwiesen. In 219 verseuchten Deckgemeinschaften und Gemeinden wurden 544 Bullen auf das Vorliegen einer Trichomonadeninfektion untersucht, von denen insgesamt 413 als angesteckt ermittelt wurden. Bei der ersten Untersuchung dieser 544 Bullen ergaben die Vorhautspülproben von 393 Bullen einen positiven Befund. Davon wurden in 383 Proben (= 97,5%) bereits durch die mikroskopische Untersuchung und nur in 10 Fällen (= 2,5%) bei mikroskopisch negativem Befund durch den Kulturversuch Trichomonaden nachgewiesen. Maßgebend für die Sicherheit der mikroskopischen Feststellung ist natürlich die Zeit, die man für die Untersuchung einer Spülprobe aufwendet. Im allgemeinen genügt die Durchmusterung einiger Gesichtsfelder zur Diagnose, in einzelnen Fällen kann man sich aber 1 Stunde und mehr mühen, bis der Nachweis des Erregers gelingt.

Die einmalige Untersuchung einer Vorhautspülprobe ist nicht genügend sicher, besonders dann, wenn es sich um ansteckungsverdächtige Bullen handelt. Die bei der Erstuntersuchung mikroskopisch und kulturell negativen Bullen in Gemeinden, in denen bereits positive Bullen festgestellt wurden, sollen deshalb in 10—14 tägigem Abstand zweimal nachuntersucht werden. Von den bei der Erstuntersuchung mikroskopisch und kulturell negativen 151 Bullen wurden 102 nach 1—3 Wochen nachuntersucht. Die mikroskopische Untersuchung ergab wiederum 12 und die kulturelle 1 positiven Befund. Von den 89 verbliebenen negativen Bullen wurden 41 einer dritten Untersuchung unterzogen. 5 Bullen wurden mikroskopisch und 2 durch den Kulturversuch als infiziert ermittelt. Dieses Ergebnis spricht für eine erhebliche Unsicherheit der einmaligen Untersuchung. Es muß dabei berücksichtigt werden, daß positive Bullen vor allem in solchen Gemeinden beobachtet wurden, in denen nach der erstmaligen Ermittlung von Trichomonaden bei einem Teil der Bullen die Decksperrre nicht sofort angeordnet wurde. Es ist selbstverständlich für den Bullenhalter, trichomonadeninfizierte Bullen nicht mehr zum Decken zu verwenden.

Dadurch müssen nunmehr sämtliche brünstigen Tiere von den übrigen Bullen gedeckt werden, die dadurch natürlicherweise besonders gefährdet sind und bei denen infolge der Überbeanspruchung eine besondere Empfäng-

lichkeit vorliegt. Die Notwendigkeit einer raschen Anordnung der Decksperre ist daraus ersichtlich. Der anscheinend hohe Unsicherheitsfaktor bei der einmaligen Untersuchung von Bullen auf Trichomonaden ist in Wirklichkeit also doch wesentlich geringer.

Zusammenfassend ergibt sich, daß von 413 trichomonadeninfizierten Bullen bereits durch die mikroskopische Untersuchung 400 (= 96,8%) erfaßt wurden. Der Kulturversuch bei den mikroskopisch negativen Bullen erbrachte noch bei 13 (= 3,2%) Tieren ein positives Ergebnis. Besonders wichtig ist auf Grund unserer Beobachtung der Kulturversuch zur Feststellung der Ausheilung bei behandelten Bullen. Infolge des hohen Leukozytengehaltes der Vorhautspülproben dieser Bullen erscheint der mikroskopische Nachweis schwieriger zu sein.

Zur kulturellen Feststellung der Trichomonadeninfektion beim Bullen wurde bisher die Serumbouillon mit Zusatz von Penicillin und Streptomycin nach den Angaben von Prof. Hess (1), Zürich, verwendet. Alle Versuche, die eine Verbesserung des Kulturergebnisses durch Abänderung des mengenmäßigen Zusatzes der Antibiotika erstrebten, hatten keinen Erfolg. Der Kulturversuch erbrachte zufriedenstellende Ergebnisse, da immerhin noch weitere 3,2% der mikroskopisch negativen Bullen als Trichomonadenträger ermittelt wurden. Allerdings hatte sich bei Kontrollen ergeben, daß die Kultur bei einer Anzahl mikroskopisch positiver Bullen versagte. Wir können also das Kulturverfahren nicht als absolut sicher bezeichnen. Die sichersten Ergebnisse bringt die mikroskopische Untersuchung in Verbindung mit dem Kulturversuch bei mikroskopisch negativen Fällen und die 1-2malige Wiederholung der Untersuchung. Auf die mikroskopische Untersuchung bei der Untersuchung von Bullen auf Trichomonadeninfektionen kann jedenfalls nicht verzichtet werden.

Der Kulturversuch mit Serumbouillon ist zur Verwendung für den Praktiker nicht geeignet. Das Kulturmedium ist nicht lagerfähig, da die Antibiotika in gelöstem Zustand rasch unwirksam werden. Der Versand ist schwierig, die Anzucht aus dem zentrifugierten oder abgesetzten Bodensatz nicht einfach.

Wenn sich dieses Kulturverfahren auch in den Händen des Sterilitätstierarztes gut bewährt hat, so haften ihm Mängel an, die den allgemeinen Einsatz verhindern. Genau so wie die mikroskopische Untersuchung muß auch der Kulturversuch möglichst bald nach Entnahme angelegt werden.

Der Versand der Spülflüssigkeit (phys. NaCl-Lösung) an ein Untersuchungsinstitut gibt keinerlei Sicherheit. In 254 an die Bayerische Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung eingesandten Vorhautspülproben wurden lediglich in 2 Fällen Trichomonaden nachgewiesen. Ein hoher Prozentsatz dieser Proben stammte sicher von ansteckungsverdächtigen und infizierten Bullen, sodaß der Prozentsatz sehr niedrig erscheint. Die Nachuntersuchung solcher negativer Bullen an Ort und Stelle ergab auch häufig Trichomonadenbefund. Der Zusatz von Antibiotika zur Spülflüssigkeit bringt keine besseren Ergebnisse (Günzler 3).

In Fortführung der Versuche zur Herstellung eines einfachen, auch für den Praktiker brauchbaren Kulturverfahrens wurden die verschiedensten Nährmedien verwendet. Auf Anregung von Regierungsveterinär Dr. Eibl wurden auch Versuche mit Magermilch und Eidotter, Trockenmilch und Trockenei durchgeführt. Diese Nährmedien eignen sich bei Verwendung von Reinkulturen sehr gut zur Züchtung von Trichomonaden. Bei stärkerer bakterieller Verunreinigung des Nährmediums — die durch Anwendung beim Bullen immer erfolgt — tritt aber in kurzer Zeit eine starke Säuerung auf, die das Absterben der Trichomonaden bedingt. Nach längeren Bemühungen ist es uns gelungen, einen Trocken Nährboden zusammenzustellen, der sich bei der praktischen Erprobung als sehr brauchbar erwiesen hat. Er ist vor allem längere Zeit haltbar, sehr einfach in der Handhabung und erfordert außerdem keinerlei besondere Ausstattung mit Instrumenten. Mit einem durch Auskochen sterilisierten Gummiballon oder einer Spritze mit Schlauchansatz, wobei die Sterilisation lediglich die Abtötung von Deckseuchenerregern, nicht aber allgemeine Keimfreiheit bewirken soll, wird mit 60—80 cm steriler phys. NaCl-Lösung die Spülung des Vorhautsackes in der vorher beschriebenen Weise vorgenommen. Das Röhrchen mit Trocken Nährboden, das von der Anstalt bezogen werden kann, wird mit der wiedergewonnenen Spülflüssigkeit so weit aufgefüllt, daß zwischen oberster Flüssigkeitsgrenze und unterem Stopfenrand ein Zwischenraum von etwa $\frac{1}{2}$ —1 cm verbleibt, verschlossen, zum Zwecke der schnelleren Lösung des Nährbodens mehrere Male leicht hin- und hergeseigt und an die Anstalt zur Auswertung eingesandt. Auch die Bayerische Veterinäruntersuchungsanstalt Nürnberg wird den gleichen Nährboden für ihren Einzugsbereich ausgeben. Wir haben den Nährboden vor Ausgabo an die Tierärzte an insgesamt 131 Bullen, vergleichsweise mit dem Serumbouillon Nährboden geprüft. In der Vorhaut-

spülprobe von 77 Bullen waren mikroskopisch Trichomonaden nachweisbar. Die Kultur mit Trockennährböden hatte bei 74 Fällen ein positives Ergebnis. Die Serumbouillonkultur wurde bei 68 dieser Bullen angelegt und führte in 66 Fällen zum Nachweis von Trichomonaden. Bei einem mikroskopisch positiven Bullen versagte die Kultur mit beiden Nährböden, in einem Fall brachte die Trockenkultur ein positives Ergebnis bei negativer Serumbouillonkultur. Umgekehrt ergab der flüssige Nährboden bei 2 Bullen ein positives Ergebnis bei negativer Trockenkultur. Auch dieser Versuch bestätigt das bereits früher beobachtete Versagen des Kulturversuches in einzelnen Fällen und die Notwendigkeit der mikroskopischen Untersuchung.

Bei 54 mikroskopisch negativen Bullen wurden durch Verwendung des Trockennährbodens weitere 6 Stiere als infiziert ermittelt. Der Kulturversuch mit Serumbouillon wurde bei 53 Bullen zum Vergleich herangezogen und erbrachte bei 5 von den 6 mit dem Trockennährboden positiven Bullen den Nachweis von Trichomonaden. Von praktizierenden Tierärzten wurden der Anstalt bisher 20 Trockenkulturen zur Untersuchung eingesandt. In 11 dieser Proben wurden Trichomonaden festgestellt. Der Nachweis der Erreger gelingt meist bereits am 2. Tage der Bebrütung. Wir möchten ausdrücklich betonen, daß auch bei diesem Verfahren zur einwandfrei sicheren Feststellung einer Trichomonadeninfektion beim Bullen die mikroskopische Untersuchung der Spülprobe und in Verdachtsfällen eine wiederholte Untersuchung notwendig ist. Die Schwierigkeiten, die die Durchführung der mikroskopischen Untersuchung für den praktizierenden Tierarzt bringt, sollen nicht verkannt werden. Mangel an Zeit, Fehlen eines Bakterienmikroskopes (Trichinenmikroskope sind nicht geeignet) und einer Zentrifuge sowie die geringere Übung im Mikroskopieren machen diese Forderung nicht leicht erfüllbar.

Vor einem Jahr hat Abelein (2) seinen Trocken-nährboden (Aktivon) bekannt gegeben. Dieser Nährboden stand uns nicht zur Verfügung, so daß vergleichende Untersuchungen bisher nicht möglich waren. Von praktizierenden Tierärzten wurden der Anstalt bisher 50 Aktivonkulturen zur Auswertung übersandt, von denen 6 Proben positiv waren.

Zusammenfassung

Die Bedeutung der Spülprobenuntersuchung bei Bullen für die Feststellung, Bekämpfung und Prophylaxe der Trichomonadenseuche wird besprochen. Zur einwand-

freien Untersuchung der Spülprobe gehört die mikroskopische Untersuchung mit Einleitung eines Kulturverfahrens bei mikroskopisch negativem Befund. Ein absolut sicheres Kulturverfahren steht z. Zt. noch nicht zur Verfügung. Weder die Mikroskopie noch der Kulturversuch allein geben völlig zuverlässige Ergebnisse. Der Kulturversuch stellt eine notwendige Ergänzung der Mikroskopie dar. Die wiederholte Untersuchung von Vorhautspülproben bei ansteckungsverdächtigen Bullen wird als notwendig erachtet.

Es wird auf den „Schleißheimer Trichomonaden-Trokkennährboden“ hingewiesen, der sich in der Zusammensetzung:

Pepton aus Fleisch, trypt. verdaut (Merk)	100 mg
Na ₂ HPO ₄	130 mg
Penicillin krist.	10 000 I. E.
Streptomycin	6 mg
Spüfflüssigkeit	10 cem

für die Züchtung von *Trichomonas foetus* sehr bewährt hat und dessen Gebrauch empfohlen wird.

Schrifttum

1. Hoss, E.: Diagnose und Therapie der Trichomonadeninfektion beim Zuchtschaf. TU. Jb. 6, Nr. 11/12 (1951). / 2. Abels: Das Aktivon-Verfahren zur kulturellen Diagnose der Trichomonadeninfektion beim Bullen. TU. Jb. 7, Nr. 1/2 (1952). / 3. Gänzl: Das Diagnoseproblem der Trichomonadeninfektion des Hundes unter besonderer Berücksichtigung des kulturellen Nachweises beim Bullen. Inaug. Diss. München 1952.
Abgeschlossen: Schleißheim 1. 4. 1953.

4
e)

**Sonderabdruck aus der
„Berliner u. Münchener Tierärztlichen Wochenschrift“**

Jg. 1953, Nr. 7, S. 108
(Verlag Paul Parey, Berlin NW 63, Lindenstr. 44-47)

*Aus der Bayer. Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in
Schloifheim. Direktor: Ob.-Reg.-Vet.-Rat Dr. habil. H. Schellner*

**Ein Beitrag zur pathologisch-
anatomischen Schweinepestdiagnose**

VON H. WEIDENMÜLLER

Die pathologisch-anatomische Diagnose der Schweinepest gilt seit jeher als schwierig und ist in manchen Fällen für das diagnostische Institut eine undankbare Aufgabe. Dies besonders dann, wenn der Begleitbericht fehlt, der Aufschluß über die Epidemiologie der herrschenden Schweinekrankheit gibt. Diese Kenntnis ist aber für eine sichere Diagnose unerlässlich, denn mehr als an den eingesandten Organen zu sehen ist, vermag auch der Bearbeiter im diagnostischen Institut bei der Schweinepest nicht festzustellen. Natürlich ist diesem eine Erfahrung zuzubilligen, die sich aus der Bearbeitung von zahlreichen, ganz verschiedenartigen Fällen ergibt und die die Diagnosefindung erleichtert. Fehlt diese Erfahrung dem einsendenden Tierarzt, so wird dieser „Mangel“ reichlich dadurch wettgemacht, daß dem Institutstierarzt das klinische Bild, welches ja ganz wesentlich zur Diagnose beitragen muß, zu sehen versagt bleibt.

Überblickt man das einschlägige Schrifttum, so wird das pathologisch-anatomische Bild von den im Vordergrund stehenden flohstich- bis hämatomartigen Blutungen beherrscht, die in der äußeren Haut und in den inneren Organen (3, 6, 8, 9, 10, 30, 31) anzutreffen sind. Besonders häufig zu finden sind sie in der Nierenrinde (seltener im Nierenbecken), in der Schleimhaut des Kehlkopfes und des Mastdarmes, in der Harnblase, unter dem Lungenfell und innen und außen am Herzen. Die Körper- und Organlymphknoten sind meist geschwollen, schwarzrot marmoriert und in der nicht geschwollenen Milz fallen die randständigen hämorrhagischen oder anämischen Infarkte

wechselnden Umlanges auf, die an Zahl mit der Dauer der Erkrankung abnehmen (4, 19) sollen. Hierbei darf nicht unerwähnt bleiben, daß bei Schweinepest ohne (17) Sekundärinfektion die Milz nicht geschwollen ist, daß aber bei einer sekundären Suipestifer- oder Rotlaufinfektion eine Milzhypertrophie besteht. Daraus ergibt sich, daß eine Milzschwellung nicht gegen eine Schweinepesterkrankung spricht und bei der Diagnose alle Nebenumstände in Betracht gezogen werden müssen. Im Magen und Dickdarm kommen umschriebene Blutungen oder geschwürige Veränderungen vor, die flächenhaft diphtheroid oder knopflartig konzentrisch geschichtet („Boutons“) sein können und in letzterem Fall die Diagnose der chronischen Schweinepest erleichtern. Als ein weiteres sicheres (3) Merkmal der Schweinepest wird die kruppöse, oft nekrotisierende Bronchopneumonie mit der leberartig derben Gewebsbeschaffenheit genannt.

Zu betonen bleibt, daß es nicht auf einzelne Veränderungen ankommt, sondern auf ihre Gesamtheit (3) beim einzelnen, besser bei mehreren Tieren. Diagnostische Schwierigkeiten können besonders dann auftreten, wenn es sich um Erst- und Einzelfälle handelt oder bei chronischem Schweinepestvorkommen, bei dem der hämorrhagische Charakter fehlt.

Diese oft so schwierige pathologisch-anatomische Diagnostik hat zur Folge gehabt, daß man sich vielerorts mit den histopathologischen Veränderungen befaßte. Dabei wurde gefunden, daß die eigentliche Ursache der septikämischen Blutungen in Blutgefäßveränderungen besteht, die zuerst als Aufquellungs- und Wucherungsvorgänge, später (25, 26, 28) als Entartung der Gefäßwandendothelien mit Nekrotisierung von Kapillaren, Praekapillaren oder auch kleiner Arterien und Venen erkannt wurden. Diese primären Schäden treten diagnostisch naturgemäß insofern in den Hintergrund, als die Sekundärveränderungen infolge ihrer Sinnfälligkeit (11) von größerer Bedeutung sind.

Am ehesten sind diese Veränderungen in den schwarzroten Lymphknoten feststellbar, welche sich somit von den makroskopisch ähnlich aussehenden (2) Blutresorptionslymphknoten unterscheiden lassen. Auch die bekannten Milzinfarkte, makroskopisch nicht von solchen embolischer Herkunft zu trennen, zeigen kennzeichnende (4, 29, 25, 28, 31) Gefäßwandveränderungen, wie sie auch in den Nieren gefunden werden, die dabei nicht einmal (12, 16) makroskopisch erkennbare Blutungen aufzuweisen brauchen. In der Harnblase, in der Schleimhaut des Magens und Dickdarmes ist ähnliches zu beobachten. Das Virus der Schweinepest passiert auch die Blut-Liquor-Schranke und ruft eine

wechselsgradige, diffuse, nicht eitrige Meningitis und Encephalomyelitis (1, 20, 21, 22, 1d) hervor; diese Gefäßwandinfiltrationen, perivaskulären Zellinfiltrate, Gliaproliferationen dürfen nicht von irgendwelchen Zerfallsprozessen im Zentralnervensystem abhängig sein („selbständiger Symptomenkomplex“ = echte Encephalitis). Die graue und weiße Substanz ist etwa (28) gleichmäßig ergriffen. In den übrigen Organen sind weniger regelmäßige Veränderungen zu sehen. Stehen bei der akuten Erkrankung die Gefäßwandschädigungen (24) im Vordergrund, so ist im chronischen Stadium vorzugsweise eine Beteiligung des lymphatischen Gewebes — besonders im Magen-Darmtraktus — zu finden; hier treten dann nekrotisierende Prozesse auf, die auch in der Lunge zu finden sind.

Als grundsätzliche Veränderung ist also die Gefäßwandschädigung anzusehen, als deren Folge die Blutungen in den Organen, die Milzinfarkte und in Darm und Lunge die nekrotischen Prozesse entstehen, deren Entwicklung noch durch bakterielle Tätigkeit gefördert wird. Die Dauer der Krankheit und das Fortschreiten der Entwicklung der Veränderungen stehen in keiner gegenseitigen Beziehung.

Wurde nun zeitweise die histologische Untersuchung als für die Schweinepestdiagnose (22, 32) wertvoll, ja als Fortschritt in der Diagnosedstellung bezeichnet, so ist heute deren Bedeutung insofern als nicht mehr so groß anzusehen, als die beschriebenen Gefäßwandschädigungen auch beim selbständigen (23) Paratyphus auftreten, wieweil hier beim Überwiegen hyaliner Entartung eher an Schweinepest zu denken ist. Ganz ähnliche Befunde wurden auch bei (2) der experimentell erzeugten hämorrhagischen Septikämie der Schweine und der anderen Haustiere erhoben. Auch der Lymphknotenbefund wird als (23) nicht allein für Schweinepest sprechend bezeichnet und soll von demjenigen beim Paratyphus nicht verschieden sein. Lediglich die Milzinfarkte (7, 8, 9) sowie die Nierenveränderungen sollen (28) spezifisch sein; andernorts (12) wird den Nierenblutungen keine Beweiskraft zugebilligt, sondern ihnen allenfalls zugestanden, ein Anhaltspunkt bei der Diagnose der Schweinepest zu sein. Verschiedentlich werden die Milzinfarkte als spezifisch beurteilt: „Außerordentlich charakteristisch und direkt spezifisch sind die Infarktbildungen am Rande der nie geschwollenen Milz. Werden diese Veränderungen gefunden, ist an der Diagnose (7) nicht mehr zu zweifeln.“ „Die Milzinfarkte sind bisher in ihrer Spezifität nicht angezweifelt (28) worden.“ Eigene Erfahrungen können diese Ansicht bestätigen. Die Neuropathologie soll zwar (13) ein wertvolles diagnostisches Hilfsmittel bei den Schweinekrankheiten sein, aber die encephalitischen Veränderungen

(1, 19, 21, 26, 28) sind doch von relativ geringem diagnostischen Wert, wenn sie auch bei anderen Erkrankungen, beispielsweise bei der Tollwut oder der Schweineinfluenza, ja sogar bei ganz gesunden Ferkeln, in deren Organen kein Schweinepestvirus nachzuweisen war, vorkommen. Somit ist den Gehirnveränderungen ebensowenig wie den Lymphknotenbefunden eine Spezifität für Schweinepest zuzuschreiben. Bei Ausschluß anderer Erkrankungen ist aber ihre Anwesenheit diagnostisch wertvoll und die Encephalitis (24) ist immerhin mit zur Diagnose heranzuziehen.

Andere diagnostische Hilfsmittel, wie serologische, allergische oder mikroskopische Methoden stehen nicht zur Verfügung oder haben bei ihrer Erprobung versagt. Brauchbar soll ein Schleimhautausstrich aus der Gallenblase (29) sein: bei Schweinepest sollen die Zellkerne gut färbbar und konturiert erscheinen, bei negativem Befund dagegen schwache Färbbarkeit aufweisen. Das Zellplasma soll fäbrig sein. Einschränkung wird dazu bemerkt, daß diese Methode keinen Ersatz für die anderen gebräuchlichen Verfahren darstellt. Eine Intrakutanreaktion (5) soll sichere und brauchbare Ergebnisse zeitigen, hat sich aber nicht eingeführt und scheint sich somit nicht bewährt zu haben. Ob der Blutuntersuchung ein praktischer Wert beizumessen ist, sei dahingestellt. Eine starke Leukopenie mit einer Leukolytenzahl (14) von 8000 und weniger je cbmm Blut soll die Diagnose Schweinepest erlauben.

Die experimentelle Diagnostik ist teuer und umständlich: als Versuchstier steht bis jetzt nur das Schwein zur Verfügung. Zum Übertragungsversuch werden jeweils 2 bis 3 Tiere benötigt, die mehrere Wochen unterhalten werden müssen. Das Schweinepestvirus ist zwar auf andere Tiere, wie das Schaf, Pferd, Kalb, Meerschweinchen, Kaninchen, auf den Büffel, Hund, Affen und auf die Katze, Ziege und Taube übertragen worden, aber alle Tiere reagierten nur mit einer stummen Infektion ohne Fieber. Die stattgehabte Infektion war durch Rückübertragung auf (15) Ferkel nachzuweisen. Schafblut blieb 21 Tage virulent; durch Kontaktinfektion gelang die Übertragung auf Schweine. Daraus ist der Schluß zu ziehen, daß möglicherweise Schafe, Kälber usw. eine Virusquelle bilden.

Das starke Aufblühen der Schweinepest nach dem zweiten Weltkrieg, deren Höhepunkt, gemessen an der Zahl der Einsendungen an die Anstalt in Bayern im Jahre 1951 lag, bot Gelegenheit, an einer größeren Zahl von Schweinen die Schweinepestveränderungen zu studieren und insbesondere ihre relative Häufigkeit festzustellen, um daraus wertvolle Hinweise auf die Sicherheit der patho-

- 5

logisch-anatomischen Diagnose zu gewinnen. Ganz bewußt wurden in erster Linie makroskopisch sichtbare Veränderungen berücksichtigt, um den Verhältnissen nahe zu kommen, unter denen der Tierarzt in der Praxis die Diagnose finden muß. Darüber hinaus wurden bei allen 255 zerlegten Schweinen die Gehirne histologisch untersucht, weil in letzter Zeit hin und wieder die Meinung auftrat, der gegenwärtige Schweinepestseuchengang sei durch besonders häufig auftretende Gehirnsymptome gekennzeichnet. Die histologische Untersuchung sollte deshalb dazu dienen, eine etwaige Änderung des Sektionsbildes im Vergleich zu den im Schrifttum niedergelegten Angaben aus den früheren Seuchenzügen erkennen zu lassen.

In der Literatur sind entsprechende Mitteilungen nicht sehr häufig. Bei 296 künstlich infizierten Schweinen (4) wurden folgende Befunde erhoben:

Nierenblutungen	in	58 %	aller Fälle
Harnblasenblutungen	"	27 %	" "
Kehldeckelblutungen	"	4,5 %	" "
Magenveränderungen	"	60 %	" "
Dickdarmveränderungen	"	25 %	" "
Lymphknotenveränderungen	"	93 %	" "
kruppöse Pneumonie	"	5,5 %	" "
katarrh. Bronchopneumonie	"	34 %	" "
Milzinfarkte	"	55-60 %	" "
subepikardiale Blutungen	"	4,5 %	" "
Schleimhautnekrosen am Kehlkopf	"	7,7 %	" "

Ein anderer Untersucher (15) nennt folgende Zahlen:

Blutungen in den Nieren	in	92 %	aller Fälle
Blutungen in der Harnblase	"	83 %	" "
Kehldeckelblutungen	"	60 %	" "
Magenschleimhautveränderungen	"	3--9 %	" "
Dickdarmaffektionen	"	6--25 %	" "
Lymphknotenveränderungen	"	83 %	" "
Lungenveränderungen	"	25-45 %	" "
Milzinfarkte	"	60 %	" "
Blutungen am Herzen	"	30 %	" "

Ein Dritter macht nachstehende (18) Angaben (aller untersuchten 102 Fälle):

Dickdarmveränderungen	22,7 %
hämorrhagische Gastritis	4 %
Petechien in mehreren Organen	7 %
fibrinöse Serosenentzündung	20 %

Bei anderen Autoren (21, 28) finden sich Angaben über Milzinfarkte, deren Vorkommen mit 30 bis 40 % beziffert wird, sowie statistische Mitteilungen über Gehirnuntersuchungen, denen zufolge Veränderungen in 70 bis 90 %, 70 bis 80 % und 90 % aller untersuchten Fälle auftraten.

Vergleicht man diese Zahlen miteinander, dann besteht eine ungefähre Übereinstimmung lediglich bei der Untersuchung des Gehirnes, bei den Milzinfarkten und Lymphknoten, während bei den anderen Organen recht erhebliche Unterschiede zu beobachten sind. Dies kann an der subjektiven Betrachtungsweise liegen, kann der Rasse und dem Alter der untersuchten Tiere oder dem Virus zuzuschreiben sein, denn einmal stammen die Angaben aus den USA., einmal aus Deutschland, und schließlich ist daran zu denken, daß die Veränderungen, die das Virus bei künstlicher Infektion verursacht, anders geartet sein können als diejenigen unter natürlichen Infektionsverhältnissen.

Eigene Untersuchungen hatten folgendes Ergebnis:

Nierenrindenblutungen	in 158 von 255 Fällen	62 %
Harnblasenblutungen	„ 115 „ 255 „	45 %
Kehldeckelblutungen	„ 146 „ 255 „	57 %
Magenveränderungen	„ 57 „ 255 „	22 %
Dickdarmgeschwüre	„ 27 „ 255 „	10 %
Dickdarmblutungen	„ 87 „ 255 „	34 %
Lymphknotenveränderungen	„ 170 „ 255 „	67 %
Kruppöse Pneumonie	„ 33 „ 255 „	13 %
Milzinfarkte	„ 89 „ 255 „	35 %
Blutungen am Herzen	„ 15 „ 255 „	6 %
Gehirnveränderungen	„ 172 „ 255 „	67 %

Diese pathologisch-anatomischen Veränderungen variierten außerordentlich stark. Die Nierenblutungen fanden sich überwiegend in der meist blassen Rindenschicht vereinzelt oder zahllos in Flohstich- bis Senfkorngröße. Manchmal war auch das Nierenbecken wie mit Blut ausgefüllt. In diesen Fällen waren Blutungen auch in der Markschiebt bereits makroskopisch sichtbar. In der Harnblase waren hamatomartige Blutungen nicht selten. Andererseits erfordert die Harnblase genaueste Betrachtung, wobei sich das gute Auswaschen des oft trüben oder zäh-schleimigen Harnes empfiehlt, um in der am besten ausgespannten Schleimhaut die oft nur vereinzelt, sehr feinen Blutungen erkennen zu können. Diese konnten manchmal auch nur in der Schleimhaut des Blasenbalses lokalisiert sein. Kehlkopfblutungen wurden wenige

-- 7 --

festgestellt, als im allgemeinen angenommen wird. Bevorzugt war die Kehle, meist nur der obere Rand, aber beim Aufschneiden des Kehlkopfes ließ sich erkennen, daß die feinen, punktierten Blutungen auch in der Schleimhaut der Aryknorpel und des Kehlkopfgrundes und manchmal auch nur dort vorkamen. Ganz selten wurden im Kehlkopf Nekrosen gesehen. Magenveränderungen traten wenig in Erscheinung; bei ihrem Vorhandensein bestanden sie zumeist in handtellergrößen, dunkelroten Bezirken, die manchmal mit diphtheroiden Belägen versehen waren. Seltener waren die spritzerartigen Blutungen in der Magenschleimhaut, wie sie sehr oft bei unverändertem Dünndarm im Blind- und Dickdarm gefunden wurden. Dagegen traten hier die bekannten knopflartigen, geschwürigen Veränderungen (Boutons), ebenso wie handartige, diphtheroide Auflagerungen recht selten auf und fast nur bei Tieren, die längere Zeit krank waren. Ähnlich verhielt es sich mit der kruppösen Pneumonie. Im Gegensatz hierzu standen die Lymphknoten, die sehr häufig Hyperämie, markige Schwellung oder eine bunte Marmorierung, wie sie durch Blutungen entsteht, aufwiesen. Die perirektalen, Hals- und Darmbeinlymphknoten helfen diese Veränderungen besonders deutlich erkennen. Milzinfarkte waren nicht allzu häufig, wie auch andernorts (4) festgestellt wurde. Ihr Auftreten war für uns jedoch der wichtigste diagnostische Hinweis. Die Infarkte waren fast stets randständig, sie überragten den scharfen Milzrand und die Milzoberfläche und lagen meist einzeln, seltener konfluierend, wobei sie dann einen deutlichen Saum vermehrter Konsistenz am Milzrand bildeten. Herzblutungen wurden höchst selten angetroffen. Gehirnveränderungen ließen sich zwar makroskopisch nicht erkennen, waren aber histopathologisch außerordentlich häufig festzustellen. Auch hier wechselte der Grad der Veränderungen erheblich und stand jedenfalls in keinem Zusammenhang mit der Schwere oder Dauer der Erkrankung.

Betrachtet man die Zerlegungsbefunde bei den 255 untersuchten Tieren, so kommt man zu dem Ergebnis, daß nach wie vor -- vielleicht mit Ausnahme der Milzinfarkte -- kein Einzelbefund die Diagnose Schweinepest begründet und zur sicheren Diagnose stets sämtliche Organe, besser der ganze Tierkörper, zur Untersuchung notwendig sind. Bei unseren Untersuchungen sind die positiven Gehirnbefunde nicht häufiger gewesen, als sie in früheren statistischen Erhebungen bereits angegeben worden sind.

- 8 -

Zusammenfassung

Nach Würdigung des einschlägigen Schrifttums wird die pathologisch-anatomische Diagnose der Schweinepest beschrieben und an 255 zerlegten Schweinen, die an Schweinepest gelitten hatten, die relative Häufigkeit der Organveränderungen aufgezeigt. Auf die für die Praxis wichtigen Folgerungen wird hingewiesen.

Summary

After giving a review of the literature the pathological-anatomical diagnosis of the swine-fever is described. The relative frequency of organ changes is shown in 255 post-mortem examinations of swine suffering from swine-fever. It is directed to important consequences for the practice.

Literaturverzeichnis

1. Bendinger, G.: T.R. 40, 499 (1934). -- 2. Bräunmüller, G.: Vet. Med. Diss. München 1934. -- 3. Coburn, P.: DTW. 50, 1 (1942). -- 4. David, W., und M. Schwarz: Arch. Tierh. 82, 315 (1931). -- 5. Donatien, A., und F. Lesotquard: Arch. Inst. Pasteur Algerie; zit. n. Zbl. Bakt., Ref. 120, 24 (1933). -- 6. Geiger, W.: DTW. 43, 606 (1937). -- 7. Ders.: DTW. 47, 601 (1939). -- 8. Ders.: DTW. 47, 735 (1939). -- 9. Glasser, K.: BMTW. 50, 4 (1940). -- 10. Ders.: BMTW. 57, 513 (1941). -- 11. Ders.: Die Krankh. des Schweines, 4. Aufl. Verl. Schäfer, Hann., 1944. -- 12. Haidinger, H.: Vet. Med. Diss. Wien 1934; zit. n. Zbl. Bakt., Ref. 118, 131 (1935). -- 13. Helmboldt, C. F., und E. L. Jungherr: Am. J. Vet. Res. 11, 41 (1950); zit. n. Die Vet.-Medizin 1950, Bd. 3, H. 1, S. 301. -- 14. Kernkamp, H. C. L.: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 95, 225 (1939); zit. n. Zbl. Bakt., Ref. 137, 513 (1940). -- 15. Lentz, O.: BMTW. 57, 593 (1941). -- 16. Luttschwager, F.: Arch. Tierh. 84, 236 (1932). -- 17. Manninger, R.: DTW. 40, 113 (1932). -- 18. Proscholdt, O.: Arch. Tierh. 27, 113 (1928). -- 19. Rohrer, H.: Arch. Tierh. 82, 345, 439 (1930), 64, 125 (1932). -- 20. Ders.: Virch. Arch. 284, 203 (1932). -- 21. Ders. und A. Graf: DTW. 42, 637 (1934). -- 22. Ders.: DTW. 47, 733 (1939). -- 23. Saly, J.: Arch. Tierh. 88, 250 (1934). -- 24. Schenckhoff, J.: H. 7, 157 (1952). -- 25. Seifried, O.: MTW. 83, 244 (1932). -- 26. Ders. und C. B. Cain: J. Amer. Vet. Med. Assoc. 80, 225 (1932); zit. n. Zbl. Bakt. 108, 417 (1933). -- 27. Ders. und H. Hertzbreith: DTW. 50, 230 (1934). -- 28. Ders.: T.R. 42, 424, 441 (1936). -- 29. Sippel, W. L.: Cornell Veter. 35, 147-151; zit. n. Zbl. Bakt., Ref. 110, 9 (1949). -- 30. Szuperski, T.: Medyc. Wet. 3, 26 (1950); zit. n. Die Vet.-Medizin 1950, Bd. 3, H. 1, S. 91. -- 31. Ullmann, G.: T.U. 2, 104 (1947). -- 32. Waldmann, O.: Bull. Off. Internat. d'Epizoot. 6, 41 (1932); zit. n. Zbl. Bakt., Ref. 108, 418 (1932).

Falgenteiff & Co., Berlin SW 20

STAT

(j)

Nr. 7/8 1952

Sonderdruck

S. 113

TIERÄRZTLICHE UMSCHAU**ZEITSCHRIFT FÜR ALLE GEBIETE DER VETERINÄRMEDIZIN**

Verlag: Terra-Verlag © Konstanz a. B., Postfach 222

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleißheim
(Direktor: Prof. Dr. H. Grau)**Über aktive Immunisierung gegen
Virus-Schweinepest mit Kristallviolettvakzine**

VON

O.Reg.Vet.Rat Dr. habil. H. Schellner und Dr. W. Rauscher, Schleißheim

Die Forschungen über die Entwicklung eines aktiven Immunisierungsverfahrens gegen Virus-Schweinepest sind nicht neu (1).

Die Japaner arbeiteten in den Jahren 1920—1924 mit einer Schweinepestvakzine, die aus den Organen schweinepestkranker Schweine hergestellt wurde. Die Virusabschwächung erfolgte durch mehrfältige Einwirkung von Brutschranktemperatur sowie durch Zusatz von Glycerin und Phenol. Zehn Jahre später berichtete der Japaner Futamura auf der Sitzung des internationalen Tierseuchenamtes in Paris über Versuche, die von Otsuka und Terakado seit 1925 mit einer Formolvakzine durchgeführt wurden. Die mit dieser Vakzine in Japan erzielten günstigen Erfolge konnten zwar bei der Nachprüfung in anderen Ländern nicht bestätigt werden, sie gaben aber die Veranlassung zu weiteren Arbeiten in der eingeschlagenen Richtung. Der damalige Impfstoff wurde aus Milz und Leber entbluteter pestkranker Schweine hergestellt. Die Organe wurden mit der 3—5fachen Menge physiologischer Kochsalzlösung zu einem Brei verrührt und filtriert. Nach Zusatz von 0,1—0,2—0,5—0,1% Formal (Jacotot) und anschließendem 48 stündigem Aufenthalt bei 37° C bildete das Filtrat den Impfstoff. Den guten Erfolgen, die in Japan Futamura, in der Tschechoslowakei das serotherapeutische Veterinärinstitut in Ivanovice, in Österreich Michálka, in Holland Laurens und Gier (2) und in Italien Cominatti (3) hatten, stehen weniger gute Erfolge bei den umfangreichen Nachprüfungen in Deutschland von Geiger, in Ungarn von Köves, Manning und Hoffmann (4) und von Flückiger (5) in der Schweiz gegenüber. Die Erklärung für diese widersprechenden Versuchsergebnisse sollte in der Tatsache liegen, daß der antigene Wert der hergestellten Vakzine nicht immer gleich sei, da die Virus-

menge in den zur Herstellung benutzten Organen variere, eine Auffassung, die Cole und Henley (6) nicht anerkennen. Man erreicht bei Anwendung von Formolvakzinen mit einem hohen Gehalt an immunisierenden Stoffen zweifellos eine Immunität gegen eine künstliche Infektion mit hohen Virusdosen. Der antigene Wert war tatsächlich so verschieden, daß Geiger (7) 1936 aus dem Institut zur Bekämpfung der Virus-Schweinepest in Eystrup auf Grund seiner umfangreichen Versuche und Forschungen berichten konnte, daß die Impfung gefährlich sei. Geiger gelang es bei der Prüfung von Vakzinen nach Michalka fast immer, lebendes, infektionstüchtiges Virus nachzuweisen, desgleichen enthielt auch Formolvakzine aus Ivanovic Spuren von lebendem Virus. Die Möglichkeit einer Verbreitung der Schweinepest durch die Vakzinierung mit Formolimpfstoff war somit gegeben und damit das Urteil über diese Schweinepestvakzine gesprochen.

Boynton und seine Mitarbeiter Woods und Wood (8) verwandten in den Jahren 1925—1937 in den von ihnen hergestellten Organimpfstoffen zur Virusabschwächung Phenol, Chloroform, Toluol, bzw. Formol und späterhin bei den aus rotem Knochenmark hergestellten Impfstoffen einen Zusatz von 5% Eukalyptusöl bzw. 1% Eukalyptol. Nach Impfung von 2600 Schweinen in stark verseucht gewesenen Beständen mit der Eukalyptolvakzine traten jedoch noch Erkrankungen an Schweinepest zu 9% auf (1).

Die Schweinepest gehört seit Beginn des Jahrhunderts zu den gefürchtetsten Seuchen der Schweinebestände in USA. Auch hier suchte man seit langem nach einem in der Praxis brauchbaren aktiven Immunisierungsverfahren, das die Gefahr der Virusverbreitung mit Sicherheit ausschließt, trotzdem aber die Entwicklung einer den praktischen Verhältnissen genügenden Immunität sichert. So wurden seit 1934 in USA von Dorset und seinen Mitarbeitern Versuche mit Kristallviolettvakzinen ausgeführt. Man erkannte, daß das Kristallviolett bei längerer Wärmeeinwirkung geeignet ist, das Schweinepestvirus in einem solchen Grade zu inaktivieren, daß es einerseits gute antigene Eigenschaften behält, andererseits jedoch nicht mehr virulent ist. Die Vakzine fand in USA von Anfang an guten Anklang und wurde von Jahr zu Jahr vervollkommen. Ich hatte Gelegenheit, anlässlich meiner 1950 durchgeführten Studienreise nach USA mir eingehend mit Dr. Henley, dem ehemaligen Mitarbeiter von Dorset, über das Herstellungsverfahren und den Wert dieser Vakzine zu unterhalten. Aus den Gesprächen mit den leitenden Veterinärbeamten, der besuchten 7 Staaten New Jersey, New York, Michigan, Wisconsin, Minnesota, Ohio und Indiana und den Professoren der 7 Universitäten Beltsville, New Brunswick, Ithaca, East Lansing, Wisconsin, St. Paul/Minnesota und Lafayette konnte ich entnehmen, welches Vertrauen sowohl die führenden Männer der Wissenschaft als auch

die der Veterinärverwaltung der Kristallviolettvakzine entgegenbringen. Es ist begründet in den zahlreichen wissenschaftlichen Veröffentlichungen, von denen die Arbeiten von Bryde and Cole (9) 1941, Mathew H. T. and Doyle (10) 1943, Sippel and Sasselberry 1945 und Cole and Henley (6) 1946 genannt seien.

In Europa gab das Eidgenössische Veterinäramt schon in Nr. 42 seiner Mitteilungen vom 25. 10. 1937 bekannt, daß die mit der Kristallviolettvakzine erzielten Ergebnisse als recht günstig bezeichnet werden können; einer Beurteilung, die Schnori und Kilehsperger (14) auf Grund ihrer experimentellen Untersuchungen 1948 dahin erweiterten, daß „die Aussichten mit Kristallviolettvakzine eine gute und lange dauernde Immunität gegen die Viruspest des Schweines zu erhalten günstig seien“. Kilehsperger (15) berichtete 1951, daß die Vakzine in der Schweiz verschiedentlich in größerem Ausmaß eingesetzt war und daß die Impfung mit Kristallviolettvakzine das „einfachste, zuverlässigste und billigste Verfahren sei, um große Gebiete dauernd von Schweinepest freizuhalten“. Ermutigt durch die Erfolge bei mehr als 800 000 Impfungen empfahlen 1948 Curry, Penha und d'Apice (16) die Anwendung der Vakzine, 1949 berichtete der Franzose Laizet (17) über gute Ergebnisse. Sie wurden im selben Jahr von Dalling (18) in der polnischen Veterinärzeitschrift *Medyc. Wet.* bestätigt und von Manninger (19) 1951 in der gleichen Zeitschrift erneut unterstrichen. Die oberste amerikanische Gesundheitsbehörde (National Research Council) betonte 1951 in ihrem Bericht über „die Bedeutung der Schweinepest in den Vereinigten Staaten“ ausdrücklich, daß die Gefahr einer Virusverschleppung bei der Kristallviolettvakzine nicht besteht (20).

Im westdeutschen Bundesgebiet wie auch in der sowjetischen Besatzungszone schreibt die veterinärpolizeiliche Bekämpfung der Schweinepest die polizeiliche Tötung ohne Rücksicht auf die Größe des Bestandes zwingend vor. Die Abschächtung darf auch nicht in den Seuchengehöften vorgenommen werden, sie muß an besonderen Schlachtstätten in bestimmten Schlachthöfen erfolgen. Die Simultanimpfung und die Serumheilbehandlung sind verboten. Es ist mit diesem Verfahren erreicht worden, daß aufgetretene Schweinepestquellen schnell verstopft und auch die Virusverschleppungen durch Schlachtabfälle und Fleisch infizierter Schweine weitgehendst verhütet wurden. Die im allgemeinen relativ flach verlaufende Seuchenkurve während der Vor- und Nachkriegsjahre spricht für die Güte des Verfahrens, das niemals großzügig sondern damals wie auch heute noch verantwortungsbewußt ausgelegt werden darf. Die Erfahrungen haben aber auch gelehrt, daß mit veterinärpolizeilichen Maßnahmen allein eine Ausrottung der Schweinepest nicht erreicht werden kann, und weiterhin, daß bei steigendem Per-

sonen- und Sachverkehr, desgl. bei gesteigerter Einfuhr von Fleisch und Fleischkonserven aus den mit Schweinepest stark verseuchten Ländern mit einer weiteren Ausbreitung der Schweinepest auch bei uns gerechnet werden muß. Auch Glässer (21) weist auf diese Gefahrenmomente hin, die besonders mit der in Aussicht stehenden Aufhebung des Einfuhrzolls für Schweine und Schweinefleisch unseren Schweinebeständen drohen. Nach Glässer kann mit Genehmigung der Landesregierungen versuchsweise die Kristallviolettvakzine Anwendung finden, „die Versuchsergebnisse bei uns bleiben aber zunächst noch abzuwarten“. Zeller (22) berichtet 1951 über den erfolgreichen Einsatz der Kristallviolettvakzine anlässlich zweier Seuchenausbrüche in Württemberg. Zeller hält es für verfrüht, an Hand der von ihm beobachteten beiden praktischen Versuche ein endgültiges Urteil über Güte, Zuverlässigkeit und Indikation einer Impfung mit Kristallviolettvakzine zu fällen. Diese Zurückhaltung in der Beurteilung des Wertes der Kristallviolettvakzine von Glässer und Zeller ist sehr wohl verständlich. Sie gab mir die Veranlassung, über die seit nunmehr 6 Jahren durchgeführten Impfungen von ausschließlich gesunden Schweinen mit der in Schleißheim hergestellten Kristallviolettvakzine zu berichten.

Das starke Auftreten der Schweinepest in Bayern, in der Hauptsache in Niederbayern, machte schon Ende 1945 / Anfang 1946 besondere Schritte notwendig. Der damalige Seuchengang zeigte zahlreiche schwere Erkrankungen mit hohen Sterblichkeitsziffern; zahlreiche Bestände, darunter auch Stammzuchten, waren vom völligen Aussterben bedroht. Es fielen in Niederbayern rund 6000 Schweine dem Seuchengang zum Opfer. Unter den damaligen zeitbedingten Umständen konnte eine wirksame Bekämpfung der Seuche durch veterinärpolizeiliche Maßnahmen allein nicht genügen. Die Bevölkerung setzte der Tilgung der Seuche durch Keulung (1945/46!) vielfach entschiedenen passiven Widerstand in Form von Seuchenverheimlichung entgegen. Eine ganze Reihe weiterer Umstände und Schwierigkeiten hemmten die Maßnahmen der Seuchenbekämpfung beträchtlich: Unkontrollierbarer Personenverkehr, Schwarzschlachtungen, Handel mit Fleisch von Seuchenschweinen, Veränderungen im Veterinärpersonal, Fehlen von Treibstoff u. v. a.

Die amerikanische Militärregierung empfahl Impfungen mit der Kristallviolettvakzine. In der Sitzung der tierärztlichen Abteilung des Obermedizinalausschusses am 20. Dezember 1945 wurde die Anstalt vom damaligen Leiter des Veterinärwesens in Bayern, Ministerialrat Prof.

Dr. P s c h o r r. beauftragt, entsprechende Vorbereitungen zur Herstellung der Kristallviolettvakzine sofort einzuleiten. Mein Referat über die Schutzimpfung mit Kristallviolettvakzine endete mit der Zusage, daß wir in Schleißheim mit der Herstellung der Vakzine beginnen könnten, da die benötigten Chemikalien: Kristallviolett, Glycerin und Dinatriumphosphat in ausreichenden Mengen zu beschaffen waren. Ende 1945 war ein Literaturstudium der ausländischen Fachzeitschriften schwer möglich und die in der deutschen Literatur über die Dorset-Kristallviolettvakzine ermittelten Hinweise waren nur spärlich. Wir fügten damals der von uns hergestellten Kristallviolettvakzine zur weiteren Abschwächung des Virus — es war, wie wir heute wissen, vielleicht eine übertriebene Vorsichtsmaßnahme — noch 2% Formol hinzu. Im Frühjahr 1946 wurden mit dieser Formol-Kristallviolettvakzine in Niederbayern 8000 Schweine vakziniert. Die Seuche war mit Sommerbeginn 1946 erloschen. Die von den beamteten Tierärzten eingereichten Berichte über die Bewertung der Impfung mit der Formol-Kristallviolettvakzine sind im Jahresveterinärbericht für den Freistaat Bayern für die Jahre 1945/46 festgelegt (23). Impfdurchbrüche, Virussträger oder Dauer ausscheider wurden im Anschluß an die Vakzinierung nicht beobachtet. Der Bericht besagt abschließend (Seite 14): „Für die Wirksamkeit der Immunisierung spricht besonders folgender Vorfall: In einem Gehöft wurden von 7 vorhandenen Schweinen nur 4 vakziniert. Etwa 4 Wochen nach der Vakzinierung brach in diesem Bestande die Schweinepest aus. Die 3 nichtgeimpften Schweine erkrankten, die geimpften erkrankten nicht.“

Dieses gute Ergebnis veranlaßte zu weiteren Versuchen mit der Kristallviolettvakzine, die wir später dann nach der Originalvorschrift von Dorset, also auch ohne Formolzusatz, herstellten. So wurden im ersten Halbjahr 1951 im Regierungsbezirk Unterfranken in 8 Land- und 2 Stadtkreisen unter behördlicher Aufsicht 4228 Schweine wiederum versuchsweise schutzgeimpft. Die Auswertung lautet im Bericht der Amtstierärzte: „Es wurden keine nachteiligen Wirkungen der Impfungen beobachtet. Die Impfung wurde gut vertragen und die lokalen Reaktionen waren unerheblich. Durch die Schutzimpfung mit Kristallviolettvakzine — richtig und rechtzeitig angewandt — wird der Ausbruch der Schweinepest verhindert, die geimpften Tiere besitzen nach 3—4 Wochen Immunität.“ Bis Ende des Jahres 1951 wurden im übrigen Bayern unter amtstierärztlicher Aufsicht in besonders genehmigten Beständen weitere 6000 Schweine geimpft; das Ergebnis war gleichfalls nicht nur „ermutigend“ sondern gut. Mit

der Schleißheimer Kristallviolettvakzine wurden 1951 aber auch in England mindestens 20 000 Schweine Schutzgeimpft, und, wie Prof. A. W. Stableforth aus Weybridge auf Anfrage freundlicherweise mitteilte, waren „Beobachtungen in keinem einzigen Falle gemeldet“.

Die Auswertung der Vakzine erfolgte von uns entweder nach dem Verfahren von Cole und Henley (6) mit fallenden Vakzinegaben (10,0—5,0—2,5—1,0) und konstanten Virusdosen (2 cem) 21 Tage p. v. oder aber mit konstanten Vakzinegaben (10,0 bzw. 5,0) bei fallenden Virusdosen: 2 cem unverdünnt; 2 cem 1:10; 2 cem 1:100.

Bleiben bei der Auswertung nach Cole und Henley die mit 5 cem und 2,5 cem vakzinierten Schweine gesund, so wird die Vakzine freigegeben. Die Dosis von 1 cem Vakzine dient zur Ermittlung einer Vakzine von besonders hoher Wertigkeit. Bei diesen Prüfungen blieben die vakzinierten Schweine während der 21 Tage p. v., wie auch nach der Virusinfektion, mit den Kontrollschweinen in gemeinsamen Buchten. In keinem Falle konnten wir feststellen, daß durch die Schutzimpfung mit der Kristallviolettvakzine etwa eine Virusausscheidung und damit eine Erkrankung der nicht vakzinierten Kontrolltiere — bei engstem Kontakt — erfolgte. Das Ergebnis führte zu den gleich guten Erfahrungen wie die von Schnorf und Kilsperger bekanntgegebenen (14). In einem Versuch verimpften wir den Harn eines 28 Tage nach der Vakziniierung geschlachteten Schweines auf 2 Läuferschweine. Auch diese Tiere blieben gesund. Die Befürchtung, daß das Kristallviolett eine Verfärbung des Muskelfleisches, der Knochen, der Organe oder des Bindegewebes herbeiführt, liegt nahe. Diese Verfärbung tritt nicht ein, sie beschränkt sich auf das Impfstoffdepot an der Impfstelle. Laizet (17), d'Apice und Mitarbeiter empfehlen die Vakziniierung durch intrakutane Gaben von 1 bzw. 2 cem. Versuche in dieser Richtung haben wir aus Gründen der Impfpraxis nicht durchgeführt. Die zur Ausbildung der Immunität benötigte Zeitspanne von 21 Tagen wird durch intradermale Vakziniierung überdies nur unbedeutend verkürzt (25). Die Schutzgeimpften Tiere dürfen, worauf besonders hingewiesen sei, während dieser 21 Tage p. v. keine Infektionsgelegenheit haben. Die subkutane Schutzimpfung mit Dosen von 5 cem bei Schweinen bis zu 75 kg und von 10 cem bei solchen über 75 kg verläuft bei gesunden Tieren reaktionslos. Sie bewirkt nach unseren Erfahrungen, es sind die gleichen, die Cole und Henley (6) 1946, Doyle and Wright (26) 1947, Dalling (27) 1949 und Manninger (28) 1951 veröffentlichten, eine mindestens einjährige Immunität. Die Impfung mit der Kristallviolettvakzine wird von tragenden Sauen und

über 3 Monate alten Ferkeln nicht nur gut vertragen, sie bewirkt sogar durch Reizwirkung des Kristallvioletts auf das r.e.-System eine gute Entwicklung der Impflinge. Diese Beobachtung ist in der Literatur des Auslandes festgelegt, sie entspricht auch unseren Erfahrungen. Unsere vakzinieren Versuchsschweine sind von den benachbarten Bauern sehr begehrt.

Die Schleißheimer Impfanweisung lautet: „Die Vakzination soll bei Mutterschweinen nicht 14 Tage vor und 14 Tage nach der Geburt erfolgen. Ferkel sind erst im 3., besser im 4. Monat schutzimpfen. Die Schweinepest-Schutzimpfung darf nicht gleichzeitig mit der Schutzimpfung gegen Rotlauf vorgenommen werden. Beide Impfungen sollten nur in einem Abstand von mindestens 4 Wochen erfolgen.“

Die Haltbarkeit der Vakzine bei Kühlraumlagerung können wir mit einem Jahr angeben. Doyle u. Wright (26) konnten sogar nach 248 tägiger Lagerung bei Zimmertemperatur eine nennenswerte Minderung der antigenen Eigenschaften nicht feststellen und Cury und Mitarbeiter beobachteten bei kühler Lagerung noch eine uneingeschränkte Verwendbarkeit nach 4 Jahren und 7 Monaten (16).

Bei der Schutzimpfung mit der Kristallviolettvakzine ist, wie bei jedem aktiven Immunisierungsverfahren, der Gesundheitszustand des Impflings von ausschlaggebender Bedeutung für den Immunisierungserfolg. Ziffer 1 unserer Impfanweisung besagt daher auch, daß „nur gesunde Schweine in schweinepestfreien Beständen geimpft werden dürfen.“ Die Schutzimpfung mit der Kristallviolettvakzine darf — genau wie auch die Rotlaufschutzimpfung — nur bei fieberfreien Tieren Anwendung finden. Beide Impfverfahren können bei „Kümmerern“, an Stoffwechselfstörungen erkrankten, mit „Ferkelhusten“ behafteten oder durch Fütterungsfehler in der Resistenz geschwächten Tieren zum Aufklappen latenter Erkrankungsherde führen. Die Impfung mit der Kristallviolettvakzine ist einzig und allein eine Schutzimpfung, sie hat nur vorbeugenden Wert und sollte auch nur in schweinepestgefährdeten, auch nicht in ansteckungsvordächtigen Beständen im Rahmen der veterinärpolizeilichen Bestimmungen Anwendung finden. Es ist falsch — entgegen den behördlichen Anordnungen — eine Vakzination in schweinepestverseuchten Beständen zu versuchen, hier nur die klinisch kranken Tiere zu schlachten und — ebenfalls entgegen den Bestimmungen — die Restbestände mit Heilserum und anschließend mit Kristallviolettvakzine zu impfen. Impfdurchbrüche, Enttäuschungen beim Tierbesitzer, Ärger sowohl beim praktizierenden als auch beim beamteten Tierarzt und nicht

zuletzt das Zurückbleiben von Dauerausscheidern und damit die Schaffung neuer Seuchenquellen wären die Folgen. Sie verbieten ohne Einschränkung ein solches Verfahren.

Als schweinepestgefährdet sind die Zuchten anzusehen, die in der Nähe der Großstädte liegen und in bedeutendem Ausmaße Grobküchenabfälle verfüttern, weiterhin solche, die einen regen Bestandswechsel durch Abgabe von Mastschweinen und Zukauf von Nutz- und Zuchttieren aufweisen und schließlich auch die Bestände, die einem starken Personenverkehr ausgesetzt sind.

Zusammenfassung

Die mit der Kristallviolettvakzine im Ausland gemachten umfangreichen guten Erfahrungen, in Verbindung mit den in Bayern und in England beobachteten Erfolgen bei ca. 40 000 Schutzimpfungen mit der in Schleißheim hergestellten Kristallviolettvakzine, berechtigen uns zu dem Urteil, daß die im Rahmen unserer Tierseuchengesetzgebung angewandte Schutzimpfung mit Kristallviolettvakzine ein brauchbares Verfahren zum Schutze schweinepestgefährdeter Bestände darstellt.

Das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten hat die Schutzimpfung gegen Schweinepest in gefährdeten Gebieten Bayerns freigegeben, ihre Anwendung ist durch die M. E. des Bayerischen Staatsministeriums des Innern Nr. III 5-3650 b 31 vom 27. 11. 1951 geregelt (29).

Schrifttum

1. Gildemeister, Haagen, Waldmann: Handbuch der Viruskrankheiten. Verlag Fischer, 1939, Band I, Abhandlung: Geiger S. 546. / 2. Lourens, Gier: Tijds. Diergenesk. 65, 325 (1937). / 3. Cominotti, Mantovani: Clin. vet. 37, 129 (1950). / 4. Geiger: Behringw. Mitteilungen 1938, H. 9, S. 78. / 5. Flückiger: MfW. 88, 536 (1937). / 6. Cole, Henley: Proceedings U. S. Livestock Sanitary Association, 50. Annual Meeting 1946. / 7. Geiger: Arch. Tbk. 68, 420 (1935). / 8. Boynton: J. amer. vet. med. Assoc. 83, 747 (1933) und 90, 321 (1937). / 9. Mc. Bryde, Cole: J. amer. vet. med. Assoc. 98, 14, 6 (1941). / 10. Matthew, Doyle: J. comp. Path. and Therapy 53, 121 (1943). / 11. Stippel, Sasselberry: Cornell Vet. 35, 11, 4 (1945). / 12. Geiger: DTW. 44, 865 (1936). / 13. Kohl: DTW. 52, 11 (1944). / 14. Schurz, Kilschperger: Schweiz. Arch. Tbk. 90, 133 (1948). / 15. Kilschperger: DTW. 58, 388 (1951). / 16. Cury, Penha, d'Apice: Arg. Inst. Biol. 18, 161 (1947/1948). / 17. Laird: Rec. d. Med. Vet. 28, 125 (1949). / 18. Dalling: Medic. Wet. 5, 97 (1949). / 19. Manninger: Medic. Wet. 7, 6 (1951). / 20. Committee on Animal Health, J. amer. vet. med. Assoc. 118, 225 (1951). / 21. Glässer: Der Tierzüchter 3, 631 (1951). / 22. Zeller: DTW. 58, 163 (1951). / 23. Jahresveterinärbericht für den Freistaat Bayern 1945/1946, S. 14. / 24. Geboci: Jugosl. vet. glasnik, 2, 32 (1948). / 25. d'Apice, Penha, Cury: J. amer. vet. med. Assoc. 112, 230 (1948). / 26. Doyle, Wright: The Vet. Journal 103, H. 12 (1947). / 27. Dalling: Medic. Wet. 5, 97 (1949). / 28. Manninger: Medic. Wet. 7, 6 (1951). / 29. Bayerisches Tierärzteblatt 3, 1 (1952).

Sonderdruck aus „Zentralblatt für Veterinärmedizin“, Band 1, Heft 1 (1953)

*Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleißheim*

Direktor: Dr. habil. Hans Sebelner

Untersuchungen über die atypische Hühnerpest beim Fasan

Von

H. WEIDENMÜLLER und F. OSTHOFF

Mit 4 Abbildungen

Um den in den Nachkriegsjahren verlorengegangenen Bestand an Fasane zu ersetzen, wurden und werden vielerorts meist ausländische Fasane ausgesetzt. Da diese Tiere für manche Geflügelseuchen empfänglich sind, stellen sie eine Gefahr nicht nur für die einheimischen Wildvögel, sondern auch für den deutschen Hausgeflügelbestand dar.

Eine auf Haushühner übertragbare Fasanenseuche wird von BECK (2) beschrieben, wonach aus Ungarn eingeführte Fasane in mehreren Fällen in Ober- und Niederbayern Hühnerbestände infizierten. Bei den zerlegten Fasane zeigten sich zahlreiche Blutungen in der Schleimhaut des Drüsenmagens, unter der Kutikula des Muskelmagens und eine Schwellung der Leber und Niere. Die bakteriologische Untersuchung verlief negativ. In Verbindung mit den positiven Ergebnissen von Übertragungsversuchen vertrat BECK die Auffassung, daß eine gefährliche Geflügelkrankheit vorliege, die veterinärpolizeilich als Geflügelpest zu behandeln sei. Ein Zusammenhang mit der von TRAUB (12) beschriebenen atypischen Form der Geflügelpest wurde für wahrscheinlich gehalten. Identifizierungsversuche mußten wegen des vorzeitigen Verlösens der Virulenz des Virus unterbleiben. BAUMANN (1) stellte in Österreich Geflügelpest bei 11 Fasane fest, die bei der Zerlegung eine hämorrhagische Enteritis, z. T. Blutungen im Drüsenmagen und an der Grenze des Drüsen- zum Muskelmagens sowie bräunliche diphtheroide Beläge auf der Darmschleimhaut aufwiesen. Die Erkrankung sprang von selbst auf die im Gutshof vorhandenen Hühner über. Übertragungsversuche im Institut hatten den Tod der Impfhühner nach 5 bis 6 Tagen zur Folge. Auch nach KREMBIS (8) hat die Hühnerpest in Fasanerien wiederholt zu großen Verlusten geführt.

Eine andere Viruskrankheit wurde 1938 bei 4 Fasane von TYZZER, SELLARS und BENNETT (13) festgestellt; bei den gelähmten Tieren wurde im Mäuse- und Meerschweinchenversuch eine Infektion mit dem Ostvirus-Typ der „Equine Encephalomyelitis“ ermittelt. Auch die infektiöse Laryngotracheitis der Hühner, die in den USA zu den verlustvollsten und wirtschaftlich wichtigsten Geflügelkrankheiten zählt, wird bei Fasane (10) beobachtet; sie spielen bei der Verbreitung dieser Krankheit wahrscheinlich eine bedeutende Rolle. Gegen das Virus der Hühnerleukose scheinen Fasane resistent

zu sein; nur einmal gelang es, diese Erkrankung (11) auf einen Fasan-Huhn-Mischling zu übertragen. Das Übergreifen der MARLESCHEN Hühnerlähmung auf Fasane ist, ebenso wie eine Infektion mit dem Psittakosevirus, bisher nicht bekannt geworden, während die Pockendiphtherie beim Fasan (5, 7, 8) öfters beobachtet und beschrieben worden ist; unter 15 200 zerlegten Geflügelstücken wurde diese Viruskrankheit (6) bei 4,3% der Fasane festgestellt.

Von einer Betrachtung der bakteriell bedingten Infektionen und der Invasionskrankheiten, die ähnlich wie beim Haushuhn in ihrer Mehrzahl auch beim Fasan vorkommen, soll hier abgesehen werden.

Der Bayerischen Landesanstalt wurden Mitte Februar 1953 8 Fasane überbracht, die etwa 8 Tage zuvor mit rund 200 weiteren Tieren, ausschließlich Hennen, von einer Tierhandlung zugekauft worden waren, die die Tiere aus der Tschechoslowakei bezogen hatte. In der Fasanerie befanden sich seit Monaten weitere 200 Fasanenhähne und -hennen neben einigen Haushühnern. Bei der Besichtigung der hier eingelieferten 8 Tiere, von denen bei der Ankunft noch 5 lebten, zeigte sich das folgende klinische Bild: Außer einem grünlichen, wässrigen Kot und einem ähnlichen Ausfluß bei einzelnen Tieren aus dem Schnabel hatten alle Gehstörungen verschiedenen Grades. Einige wiesen einen stolzierenden, steifen Gang auf, andere konnten sich nicht mehr auf den Ständern halten, fielen auf die Seite und versuchten sich dabei mit den Flügeln zu stützen. Ein Fasan streckte Hals und Kopf krampfhaft aus. Atemnot bestand nicht. Die Freßlust war völlig erhalten.

Die anschließende Besichtigung des gesamten Bestandes zeigte, daß eine Großzahl weiterer Tiere mehr oder weniger ausgeprägte nervöse Störungen aufwies, die sich vor allem in Unvermögen zu stehen, teilweise auch in Taumeln ausdrückten. Ein grünlicher Durchfall wurde beobachtet, jedoch vorerst nur bei den neu zugekauften Tieren. Obwohl eine Isolierung vom Altbestand aus räumlichen Gründen kaum durchführbar war (die Volieren waren lediglich durch Zäune aus Maschendraht getrennt), wurde vorsorglich alles veranlaßt, um eine weitere Ausbreitung dieser offensichtlich ansteckenden Erkrankung zu verhindern. Dabei mußte von Anfang an damit gerechnet werden, daß auch der Altbestand in Mitleidenschaft gezogen werden würde, nachdem dieser sogar vom gleichen Personal versorgt wurde. Von der Leitung der Fasanerie war noch zu erfahren, daß bei Ankunft der Tiere 2 tot gewesen seien, die zurückgesandt wurden. Bei diesen beiden Tieren wurden bei der Zerlegung am Versandort keinerlei Anzeichen für eine seuchenhafte Erkrankung festgestellt, es sei „ein Transportschaden anzunehmen, wie er beim Versand von Tieren in größerer Zahl vorkommen kann“.

Im Laufe der nächsten 4 Tage griff die Krankheit in der Fasanerie weiter um sich, so daß nahezu die Hälfte der 200 Tiere verendete oder schwerste Anzeichen nervöser Störungen in Form einer Bein- und Flügel-lähmung zeigte. Am 6. Tag nach dem Erkennen der ersten Krankheitserscheinungen wiesen 2 Fasanenhähne aus dem Altbestand in der Nachbarvoliere einen schwerfälligen Gang auf, der die Vögel beim Einfangen am sonst üblichen Weglaufen hinderte. Damit hatte die Krankheit auch auf den Altbestand übergegriffen.

Insgesamt wurden an der Anstalt 37 Fasane untersucht, von denen 28 lebend eingeliefert wurden; sie zeigten alle die oben beschriebenen klinischen Erscheinungen. Über den Verlauf der Krankheit und den pathologisch-anatomischen Befund gibt die nachstehende tabellarische Übersicht Auskunft:

Untersuchungen über die atypische Huhnerrpest beim Fasan

Tabelle 1

Fasan Nr.	Eingang am	Abgang am	Tage Krankheitsdauer	Pathologisch-anatomischer Befund
1	11. 2.	11. 2.	verendet	Blutungen im Drüsenmagen, Nekrosen am Übergang vom Drüsen- zum Muskelmagen
2	11. 2.	11. 2.	entblutet	Blutungen im Drüsenmagen
3	11. 2.	11. 2.	entblutet	Blutungen im Drüsenmagen und im Magenfett, Petechien in der Trachea
4	11. 2.	11. 2.	entblutet	feinste Blutungen im Drüsenmagen, verwaschene Blutungen in der Darmschleimhaut
5	11. 2.	12. 2.	verendet 1 Tag	Blutungen im Drüsenmagen, fleckige Blutungen in der Darmschleimhaut
6	11. 2.	war getötet		Blutungen im Drüsenmagen, verwaschene Blutungen in der Darmschleimhaut
7	11. 2.	15. 2.	verendet 4 Tage	Blutungen im Drüsenmagen, sonst o. B.
8	11. 2.	20. 2.	verendet 9 Tage	einzelne Blutungen in der Darmschleimhaut, sonst o. B.
9	12. 2.	18. 2.	entblutet	o. B.
10	12. 2.	23. 2.	verendet 11 Tage	o. B.
11	12. 2.	12. 2.	entblutet	Nekrosen im Drüsenmagen, Blutungen in der Darmschleimhaut
12	12. 2.	12. 2.	entblutet	o. B.
13	12. 2.	12. 2.	entblutet	Blutungen im Drüsenmagen
14	12. 2.	13. 2.	verendet 1 Tag	ausgeprägte Blutungen in der Darmschleimhaut mit Nekrosen
15	13. 2.	13. 2.	entblutet	o. B.
16	13. 2.	18. 2.	verendet 5 Tage	Nekrosen am Übergang von Drüsen- zum Muskelmagen
17	13. 2.	15. 2.	verendet 2 Tage	Blutungen im Drüsenmagen, feine Blutungen in der Darmschleimhaut
18	13. 2.	15. 2.	verendet 2 Tage	verwaschene Blutungen in der Darmschleimhaut, Trachea gerötet
19	13. 2.	16. 2.	verendet 3 Tage	o. B.
20	13. 2.	15. 2.	verendet 2 Tage	Blutungen im Drüsenmagen
21	13. 2.	13. 2.	kam tot an	ausgeprägte Blutungen im Drüsenmagen
22	14. 2.	14. 2.	kam tot an	schwache Blutungen im Drüsenmagen
23	14. 2.	24. 2.	verendet 10 Tage	o. B.
24	14. 2.	14. 2.	getötet	o. B.
25	14. 2.	19. 2.	verendet 5 Tage	einige verwaschene Blutungen im Enddarm, sonst o. B.
26	14. 2.	23. 2.	verendet 9 Tage	o. B.
27	14. 2.	16. 2.	verendet 2 Tage	o. B.
28	16. 2.	16. 2.	entblutet	Fasanenhahn aus Altbestand, feinste Blutungen im Drüsenmagen
29	16. 2.			
30	16. 2.	16. 2.	entblutet	o. B.
31	16. 2.	kam tot an		Blutungen im Drüsenmagen
32	16. 2.	kam tot an		Nekrosen im Drüsenmagen, Blutungen in der Darmschleimhaut
33	16. 2.	kam tot an		Blutungen im Drüsenmagen
34	16. 2.	22. 2.	verendet 6 Tage	o. B.
35	16. 2.	4. 3.	entblutet	Blutungen im Drüsenmagen
36	16. 2.	4. 3.	entblutet	schwerste Blutungen im Drüsenmagen
37	16. 2.	18. 2.	verendet 2 Tage	o. B.

Die Krankheitsdauer schwankte zwischen 1 und 11 Tagen, sie betrug im Mittel 4,5 Tage. Von den zur Untersuchung eingesandten Tieren waren 16 Tage nach der Einlieferung noch 2 Hennen und 1 Hahn am Leben. Der Hahn zeigte bis auf ein Schiefhalten des Kopfes keine Symptome einer Erkrankung, während die beiden Hennen eine völlige Beinlähmung aufwiesen und auf den Fersen hockten. Bei den 36 zerlegten Tieren wurden in 20 Fällen (= 55%) Blutungen im Drüsenmagen verschiedensten Grades, bei 10 Fasanen (= 27%) Blutungen in der Darmschleimhaut meist ohne besondere Lokalisation und bei 4 Tieren (= 11%) auch Nekrosen am Übergang vom Drüsen- zum Muskelmagen gefunden, während



Abb. 1

solche in der Darmschleimhaut gänzlich fehlten. Nur in 2 Fällen (= 5%) waren Blutungen in der Trachea erkennbar und bei 12 Fasanen (= 33%) fehlte bemerkenswerterweise jeder grobsinnlich wahrnehmbare pathologisch-anatomische Befund. Das Vorkommen solcher Veränderungen stand in keiner Beziehung zur Dauer der Erkrankung. Der bakteriologische Befund war in jedem Fall negativ. Auf Grund der festgestellten Veränderungen wurde die Diagnose Hühnerpestverdacht ausgesprochen.

Weitere Untersuchungen waren zur Erhärtung der Diagnose notwendig. Zuerst wurde ein Tierversuch angesetzt, indem einem Hahn 2,0 ccm einer Suspension der vom Fasan Nr. 3 stammenden Leber und Milz intramuskulär injiziert wurde. Bereits nach 3 Tagen zeigte das Tier eine Blaufärbung des Kammes und wurde am 4. Tage morgens im Stall tot aufgefunden, ohne daß es vorher noch weitere Anzeichen einer Erkrankung gezeigt hätte. Bei negativem bakteriologischem Organbefund wies der Drüsenmagen auf den Erhebungen der Papillen ringartige Blutungen und in der blaseschen Darmschleimhaut zahlreiche Hämorrhagien auf, wie sie bei der Hühnerpest bekannt sind. Zur weiteren Festigung der Diagnose erhielt eine Taube 2,0 ccm



Abb. 2

im. einer Leber-Milz-Emulsion des Fasans Nr. 9, eine weitere Taube wurde zu den isolierten kranken Fasanen gesetzt, um eine mögliche Kontaktinfektion herbeizuführen. Die infizierte Taube war 5 Tage später gestorben; bei der Zerlegung fanden sich wieder wie bei dem Hahn in der Darmschleimhaut fleckige Blutungen ähnlich denen bei Hühnerpest. Die andere Taube wurde mehrfach blutuntersucht: noch 20 Tage nach dem Zusammenbringen mit den kranken Fasanen war im Hämagglutinationshemmungsversuch ein Hemmtiter nicht nachweisbar. Eine Kontaktinfektion war somit ausgeblieben.

Da zahlreiche lebende Fasane, die ausgeprägte Krankheitserscheinungen aufwiesen, zur Verfügung standen, konnte deren Blut serologisch, zum Teil auch wiederholt, im Hämagglutinationshemmungsversuch geprüft werden, wie er von BURNET (3) und LUSH in die Diagnostik der atypischen Hühnerpest eingeführt wurde. Wir benutzten die von DINTER (4) und Mitarbeitern beschriebene Objektträgermethode. Als Virus standen uns die seit mehreren Jahren im Institut befindlichen, fortlaufend in Eipassagen gehaltenen Stämme „Herts“ als Virus-Stamm der atypischen Hühnerpest (Newcastle-Krankheit) sowie „Brescia“ als Repräsentant der klassischen Pest des Huhnes zur Verfügung. Das Blut wurde den Fasanen entweder aus der Flügelvene oder aus der vena jugularis entnommen. Es wurden nachstehende Ergebnisse gewonnen:

Tabelle 2

Fasan Nr.	entnommen am	Häm agglutinstiter am												
		11. 2.	12. 2.	13. 2.	14. 2.	15. 2.	16. 2.	17. 2.	18. 2.	21. 2.	22. 2.	4. 3.	24. 3.	13. 5.
2	11.2.	0												
3	11.2.	1:10												
4	11.2.	0												
5	11.2.	0												
9	12.2.				1:40			1:640						
10	12.2.				1:40				1:640					
11	12.2.		0											
12	12.2.		1:320											
13	12.2.		1:180											
15	13.2.			1:320										
23	14.2.				1:80					1:640				
24	14.2.				1:40									
26	14.2.					1:160			1:640					
28	16.2.				1:640									
29	16.2.				1:640					1:640	1:1280	1:320	1:40	
30	16.2.				1:640									
34	16.2.					1:80			1:640					
35	16.2.					1:80			1:320			1:1280		
36	16.2.					1:160			1:640			1:1280		

Es war somit bei sichtbarem Ausbruch der Krankheit ein Hemmtiter nicht vorhanden. Umgekehrt war aus dieser Tatsache im Hinblick auf die experimentellen Untersuchungsergebnisse von SCHELLNER und RAUSCHER (9) zu schließen, daß auch bei Fasanen die Erkennung eines verwertbaren Hemmtiters frühestens 4 Tage nach stattgehabter Infektion möglich ist, daß also in kürzerer Frist noch keine nachweisbaren HA-Antikörper gebildet werden.

Die Hämagglutination des Virus der atypischen Hühnerpest wurde gehemmt, nicht hingegen die des klassischen Hühnerpest-Virus, so daß die Diagnose „atypische Hühnerpest“ gestellt werden konnte.

Die Hemmungstiter stiegen mit zunehmender Krankheitsdauer an. Diese Feststellung wurde mit großer Regelmäßigkeit sowohl bei den mehrfach blutuntersuchten Fasänen als auch bei den Fasänen gemacht, die erst später zur Untersuchung kamen, nachdem also die Seuche im Bestand schon erheblich um sich gegriffen hatte. Ein hoher Hemmtiter bedeutet demnach ein längeres Kranksein. Die Fasänen Nr. 9, 10 und 24 dürften in Anbetracht ihres zuerst geringen Hemmtiters den Ansteckungstoff später als die anderen Tiere aufgenommen haben. Interessant ist der immerhin hohe Hemmtiter des Fasänenhahns Nr. 28, der aus dem Altbestand stammte und bei dem angeblich erst am 14. 2. Beinschwäche festgestellt wurde (vgl.

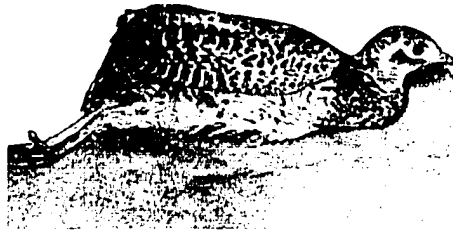


Abb. 3

Tab. 1). Ein zweiter Fasänenhahn (Nr. 29) aus derselben Voliere, der ebenfalls einen unbeholfenen, steifen Gang aufwies, zeigte am 1. 4. 1953 keine Krankheitserscheinungen mehr. Beide Hähne dürften spätestens am 11. 2. mit dem Virus in Berührung gekommen sein, sie hatten bereits am 16. 2. einen Hemmtiter von 1:640. Unter den 19 serologisch untersuchten Fasänen wurden bei 9 (etwa 50%) keinerlei pathologisch-anatomische Veränderungen, wie sie bei Hühnerpest vorkommen, gefunden. Die festgestellten Hemmtiter waren allein Anzeichen einer stattgehabten Infektion (Fasan Nr. 9, 10, 12, 15, 23, 24, 26, 30, 34). Zum Zwecke der Virusisolierung wurde aus der Leber und Milz des Fasanes Nr. 3 eine 20%ige Suspension angefertigt, diese mit Streptomycin versetzt und hiervon 9 Tage vorbebrütete Hühnereier mit je 0,2 ccm beimpft. Wir wählten die Verdünnungen

1:10¹ bis 1:10⁶. Die Embryonen waren zwischen 24 und 38 Stunden p. infect. abgestorben. Nach steriler Entnahme wurden die Eiflüssigkeiten titriert und im Hämagglutinationshemmungsversuch gegen verschiedene Sera ausgewertet.



Abb. 4

Das atypische Hühnerpestserum wurde durch Hyperimmunisierung eines Huhnes gewonnen, das Serum „Fasan“ stammte vom Fasan Nr. 23 und das klassische Hühnerpestserum verdanken wir

Herrn Dr. Z. DINTER von der Staatlichen Veterinärmedizinischen Anstalt in Stockholm.

Die Hämagglutination des Fasanenvirus wurde von allen Verdünnungen (1:10 bis 1:640) der Sera „atypische Hühnerpest“ und „Fasan“ gehemmt, nicht aber durch das klassische Hühnerpestserum und durch Normalserum. Das Fasanenvirus gleicht also dem atypischen Hühnerpestvirus. Diese Gleichartigkeit besteht auch bei Verwendung von Pferdeerythrozyten zur Hämagglutination; beide Virusarten verklumpen diese im Gegensatz zum Virus der klassischen Hühnerpest nicht.

Auch im Ablauf der Hämagglutination besteht eine Übereinstimmung zwischen dem atypischen Hühnerpestvirus und dem aus den Fasänen isolierten Virus. Nimmt man nämlich Erythrozyten, die durch beide Virusarten agglutiniert waren, nach der Viruselution wieder zur Hämagglutination mit homo- und heterologen Viren, so tritt eine Hämagglutination nur bei Verwendung des heterologen Virus (= klassische Hühnerpest), nicht aber bei Benutzung des homologen Virus ein. Das Fasanvirus und das Virus der atypischen Hühnerpest vermögen die Erythrozyten nicht mehr zu verklumpen, weil letztere schon bei der ersten Hämagglutination gebunden worden waren. Dieselben Erythrozyten werden aber durch klassisches Hühnerpestvirus bis fast zur benutzten Virusendverdünnung agglutiniert.

Angaben über histopathologische Befunde im Zentralnervensystem pestkranker Fasane liegen nach der uns zugänglichen Literatur nicht vor.

Während MATZKE (18) bei 2 pestkranken Hühnern nur eine stärker ausgeprägte kapilläre Blutfülle im Gehirn feststellen konnte, fand BECK (2) bei einer von 4 mit Herzblut pestverdächtiger Fasane künstlich infizierten Henne eine geringgradige lymphocytäre Encephalitis, die auch von BARON (14) bei pestkranken Hühnern mit intra vitam gezeigten nervösen Erscheinungen gesehen wurde. SCHÜRMANN (23) konnte bei klinisch unter Lähmungen und Krampfanfällen erkrankten Hühnern im Groß- und Kleinhirn starke Hyperämie und kleinere Blutungen, dagegen keine vaskulären Infiltrate nachweisen, wie sie von TRAU (12), CAPORALI (15) und PALLASKI (19) beschrieben werden. Veränderungen an Endothel- und Adventizellen der Gefäße, kleinere Nekroseherde sowie Ganglienzellegeneration und Neuronophagie waren nicht selten. RÖHNER (21) stellte unter 65 an einer Geflügelpest-ähnlichen Viruseuche verendeten Hühnern deutliche encephalitische Veränderungen lediglich bei 5 Tieren fest, von denen nur 3 zu Lebzeiten nervöse Symptome gezeigt hatten. Die encephalitische Reaktion äußert sich in Form von starker Blutfülle, Diapedesisblutungen, geringgradigen vaskulären Infiltraten in der grauen und weißen Substanz ohne in Erscheinung tretende besondere Prädispositionsstellen in Groß- und Kleinhirn, ferner in Form von Gliaproliferation in Verbindung mit Neuronophagie, Leptomeningitis und Neuronophagie an den großen Ganglienzellen des Lendenmarks.

RÖHNER (22) konnte bei seinen histopathologischen Studien über die experimentelle klassische Geflügelpest weder Gehirn- und Pia-Infiltrate noch Gliazellansammlungen ermitteln. Es waren jedoch stets Dilatation und Hyperämie der Gefäße neben Sickerblutungen und rasch zerfallenden gefäßgebundenen Gliazellknötchen feststellbar. Eine regellose Verteilung dieser pathologischen Veränderungen in der grauen und weißen Substanz von Gehirn und Rückenmark wurde ebenfalls beobachtet.

Weitere Untersuchungsergebnisse über histopathologische Befunde im Bereich des Zentralnervensystems bei Newcastle disease und atypischer

Hühnerpest liegen von POTEI (20), KÖHLER (17) sowie HOLZ und STITZ (10) vor. Sie berichten über das gehäufte Auftreten von klinisch wahrnehmbaren Ausfallserscheinungen von seiten des zentralen und peripheren Nervensystems und das damit einhergehende häufigere Vorkommen histopathologischer Veränderungen am Zentralnervensystem.

Der sinnfällige Neurotropismus des Geflügelpestvirus läßt nach KÖHLER die pathologisch-anatomischen Erscheinungen an den Organen sehr stark in den Hintergrund treten und ist die Ursache einer deutlich ausgeprägten encephalitischen und myelitischen Reaktion, die mit entzündlichen Infiltraten auch im Bereich der peripheren Nerven einhergeht. Nach POTEI und KÖHLER sind vaskuläre und z. T. perivaskuläre Infiltrate in Groß- und Kleinhirn ohne erkennbare bevorzugte Lokalisation stets zugegen, ferner Leptomeningitis, Gliaproliferation und lymphocytäre Infiltrate in Rückenmark und peripheren Nerven. Von HOLZ und STITZ werden Nekrose der Gefäßwandzellen, vaskuläre Zellansammlungen, glöse Neuronophagie und Gliaproliferation teils in Gehirn und peripheren Nerven, teils in den Nerven allein beschrieben. In letzteren lassen sich die histopathologischen Befunde von den bei MAREKSCHEr Geflügelähmung festgestellten kaum unterscheiden.

In dem von uns beobachteten Seuchenverlauf waren 12 Fasane Gegenstand der histologischen Untersuchung und zwar von 8 jeweils Gehirn, Rückenmark und Ischiadicusnerven, von einem Fasan Rückenmark und Ischiadicusnerven und von 3 nur die Ischiadicusnerven.

Bei allen 12 wurden am zentralen und peripheren Nervensystem mehr oder weniger deutlich ausgeprägte Veränderungen ermittelt und zwar: bei 2 Fasanen in Gehirn, Rückenmark und peripheren Nerven, bei 3 Fasanen in Gehirn und Rückenmark, bei 2 in Rückenmark und Nerven, bei einem nur im Rückenmark und bei 4 nur in den peripheren Nerven.

Zusammenfassend wurden festgestellt: Dilatation und Hyperämie der Gefäße, Leptomeningitis non purulenta, vaskuläre und perivaskuläre Infiltrate ohne besondere Lokalisation in der grauen und weißen Substanz von Groß- und Kleinhirn — letzteres erschien nicht so stark betroffen —, verschieden stark ausgeprägte Gliaproliferation in Form von Knötchen und Rasen meist in Nachbarschaft von Gefäßen, ferner Neuronophagie. Ähnliche Befunde wurden im Rückenmark erhoben, bei dem die Ventralhörner die deutlichsten Veränderungen zeigten. In den peripheren Nerven ließen sich gleichfalls entzündliche Infiltrate erkennen, die sich von den bei MAREKSCHEr Lähmung festgestellten nicht mit Sicherheit unterscheiden ließen. Schließlich sei noch hervorgehoben, daß Stärke und Ausdehnung der entzündlichen Reaktionen im zentralen und peripheren Nervensystem selten mit dem Grad der zu Lebzeiten beobachteten nervösen Symptome übereinstimmen.

Zusammenfassung

Eine Virusinfektion, die sich klinisch vorwiegend in nervösen Symptomen äußerte, wurde in einem größeren Fasanenbestand festgestellt. Die pathologisch-anatomische Untersuchung von 37 verendeten und getöteten Fasanen, Übertragungsversuche auf Huhn und Taube, die z. T. wiederholte Untersuchung des Serums kranker Tiere im Hämagglutinationshemmungsversuch sowie die Ergebnisse der histopathologischen Untersuchung des zentralen und peripheren Nervensystems von 12 Fasanen sicherten die Diagnose atypische Hühnerpest.

Untersuchungen über die atypische Hahnpest beim Fasan

11

Summary

Studies on the atypical fowl-plague in pheasants

The authors describe a virus infection clinically characterised by disturbances of the nervous system. Pathological and anatomical examination of 37 dead and killed birds, artificial infection of hens and pigeons and the hemagglutination blocking test, finally histo-pathological examinations of the central and peripheric nervous system of 12 birds confirmed the diagnosis: atypical fowl plague.

Résumé

Recherches sur la peste aviaire atypique chez le faisán

Les auteurs ont constaté dans une groupe de faisans une infection provoquée par un virus manifestée surtout par des symptômes nerveux. L'examen anatomo-pathologique de 37 faisans morts ou tués, l'essai de transmission effectués sur pigeons et poules, l'analyse partiellement répétée du sérum des animaux à l'aide du test d'inhibition de l'hémagglutination ainsi que les résultats des examens histo-pathologiques du système nerveux central et périphérique de 12 faisans ont confirmé qu'il s'agit de la peste aviaire atypique.

Literaturverzeichnis

1. BAUMANN, R.: Wien tierärztl. Mschr., 29, 125 (1942).
2. BUCK, A.: Berliner Münchener tierärztl. Wschr., 1942, 168.
3. BURNET, F. M.: Austral. J. Exper. Biol., 25, 81 (1951).
4. DINTER, Z., BAKOS, K., ANGERMANN, M.: Berliner Münchener tierärztl. Wschr., 1948, 32.
5. DOBSON, N.: J. Comp. Path., 52, 421 (1937).
6. FEHR, A., PALASKI, R.: Die durch Obduktion feststellbaren Geflügelkrankheiten, Schäfer-Verlag, Hannover, 1954.
7. KOLLIKRAUS-UMLENSCHILD: Hdb. d. path. Mikr. Org. Bd. IX, 361, Fischer-Verlag, Jena, 1929.
8. KREMB, J.: Die Krankheiten des Wildes, F. C. Mayer-Verlag, München, 1938.
9. SCHULTE-NEIG, H., RAUSCHER, W.: Tierärztl. Umsch., 6, 123 (1951).
10. SIEGEL, O.: Zschr. Inf. Krkh. Haustiere, 41, 65 (1932).
11. STEIN, I. L., LUDWIG, J.: J. Exper. Med., 53, 269 (1931).
12. TRACH, E.: Tierärztl. Rdsch., 48, 42 (1942).
13. TAZZIG, SILVANO, BISSUTI: Science, 88, 505 (1938).
14. BARBONI, E.: Clin. vet., 65, 282 (1942), ref. Jber. Vet. Med., 71, 147 (1933).
15. CAPORALI, G.: Berliner Münchener tierärztl. Wschr., 1943, 392.
16. HOLTZ, K., u. STITZ, B.: Dtsch. tierärztl. Wschr., 59, 262 (1952).
17. KOHLER, H.: Dtsch. tierärztl. Wschr., 59, 71 (1952).
18. MALZKA, M.: Zschr. Inf. Krkh. Haustiere, 59, 42 (1943).
19. PALASKI, G.: Tierärztl. Rdsch., 49, 86 (1943).
20. POTT, K.: Exper. Vet. Med. I, 31 (1952).
21. ROHLER, H.: Mhefte Vet. Med., 1, 71 u. 96 (1946).
22. ROHLER, H.: Mhefte Vet. Med., 2, 33 (1947).
23. SCHURMANN, E.: Berliner Münchener tierärztl. Wschr., 1943, 195 u. 215.

STAT

Über den Wert einer kulturellen Typendifferenzierung
von Tuberkelbakterienstämmen im Rahmen der praktischen
Tuberkulosediagnostik unter Beziehung neuerer
Spezialnährböden

Karlheinz Neuhäuser

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleisheim
Direktor: Professor Dr. Hugo G r a u
Vorgelegt vom Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Komm.Vorstand: Professor Dr. M. R o l l e

Über den Wert einer kulturellen Typendifferenzierung
von Tuberkelbakterienstämmen
in Rahmen der praktischen Tuberkulosediagnostik
unter Beziehung neuerer Spezialnährböden

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Karlheinz N e u h m u s e r ,
Tierarzt
aus
Badenbach/Sudetenland

München 1953

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Dr. Joh. Brüggemann
Referent: Professor Dr. M. Rolle

Tag der Promotion: 27.2.1953

U N I - Druck, München 13, Amalienstr. 85

Meinen lieben Eltern
in Dankbarkeit gewidmet.

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
A. Einleitung	1
B. Literatur	2
1. Die Abtrennung des Erregers der Geflügeltuberkulose	2
2. Die Trennung innerhalb der Gruppe der von Säugetieren stammenden Tuberkelbakterien	4
3. Die gleichzeitige Berücksichtigung aller drei Typen des Tuberkuloseerregers von Warmblütern bei der kulturellen Typendifferenzierung	8
C. Material und Methodik	16
I. Untersuchungsgang	16
II. Die Nährböden und ihre Herstellung	16
III. Anlegen der Kulturen und Beobachtung der Kulturröhrchen	20
IV. Die verwendeten Tuberkelbakterienstämmen	21
D. Eigene Untersuchungen	23
1. Vorversuch	23
2. Erster Hauptversuch	26
3. Zweiter Hauptversuch	32
4. Schlusversuch	37
E. Besprechung der Ergebnisse	43
F. Zusammenfassung	47
G. Literaturverzeichnis	48

- 1 -

A. Einleitung.

Keinesfalls das Endglied einer Kette bildete die Entdeckung des Tuberkuloseerregers durch Robert Koch (46) im Jahre 1882. Dass sie lediglich den Beginn einer grossen Entwicklung darstellte, bewies allein schon die Wandlung, der das Wissen R. Kochs um die Typen der Tuberkelbakterien unterlag. Er war anfangs der Ansicht, es bestohe kein-
lei Unterschied zwischen den Erregern menschlicher und tierischer Tuberkulose. Schon im Jahre 1901 betonte er jedoch auf Grund seiner mit Schütz (47) (48) durchgeführten umfangreichen Tierversuche die Verschiedenheit der Erreger von Phthisis und Perlsucht.

Wie ein roter Faden zieht sich seither durch die gesamte Tuberkuloseforschung die Suche nach möglichst verlässlichen und gleichzeitig wirtschaftlichen Methoden, die es ermöglichen sollen, die einzelnen Arten des Erregers voneinander zu trennen. Bildet doch eine einwandfreie Typendifferenzierung den Schlüssel zur Kenntnis der ganzen Epidemiologie der Tuberkulose.

In wirtschaftlichen Krisenzeiten wie der heutigen wird das Augenmerk neben der Zuverlässigkeit eines Verfahrens noch besonders auf dessen Billigkeit gerichtet sein. Dieses Bestreben führt beim Problem der Typentrennung des Tuberkuloseerregers zwangsläufig zur Ablösung des kostspieligen Tierversuchs durch das kulturelle Verfahren. Namentlich im Betrieb grosser Institute ist dies von ausschlaggebender Bedeutung.

Von der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung wurde mir daher die Aufgabe gestellt, an Hand neuerer Differenzierungsnährböden im Vergleich mit den bisher verwendeten zu prüfen, inwieweit dadurch eine eindeutigere kulturelle Typenbestimmung erreicht werden kann.

- 2 -

B. Literatur.

Das Gesamtschrifttum über die Typenforschung der Tuberkelbakterien ist ausserordentlich umfangreich. Es konnte daher nur das Teilproblem der kulturellen Typentrennung eingehender berücksichtigt werden. Dabei ergab sich eine Einteilung in drei grosse Abschnitte:

1. Bereits wenige Jahre nach der Entdeckung des Tuberkelbakteriums durch Robert Koch beginnt man mit der Abtrennung des Erregers der Geflügeltuberkulose. Die daran arbeitenden Forscher lassen die Säugetierarttuberkelbakterien unberücksichtigt.
2. Um die Jahrhundertwende wurden dann erstmals Wachstumsunterschiede zwischen den Erregern der Menschen- und Rindertuberkulose festgestellt. (Die Trennung innerhalb der Gruppe der von Säugetieren stammenden Tuberkelbakterien.) Keine Beachtung finden hierbei die Geflügeltuberkelbakterien.
3. Ein System in die kulturelle Typendifferenzierung bringt erst deren drittes Entwicklungsstadium, dessen Beginn in das Jahr 1930 fällt und eng mit den Namen W o l t e r a und D e h m e l verknüpft ist. Sie sind die ersten, die alle drei Typen des Tuberkuloseerregers kulturell differenzieren. Die Grundlage hierzu bietet eine inzwischen wesentlich verbesserte Nährbodentechnik.

1. Die Abtrennung des Erregers der Geflügeltuberkulose.

Bereits im Jahre 1887 wiesen N o o r d und R o u x (66) auf das charakteristische Aussehen der Kulturen von Geflügeltuberkelbakterien hin, deren feuchte und schmierige Bühlge sich durch eine auffallend rasche Entwicklung auszeichneten. Als weitere Eigenschaft wurde eine geringe Empfindlichkeit gegen extreme Temperaturen beobachtet.

Wenig später erkannten R i v o l t a (72) und M a f f u o i (54) gleichfalls Wachstumsunterschiede zwischen Tuberkelbakterien von Säugetieren und solchen von Hühnern. M a f f u o i (53) (54) sah auf glyzerinhaltigem Blutsrum nach einer Bebrütungszeit von 8 Tagen Kolonien von Geflügelstämmen "in Form von kleinen weissen Wachtropfen, in Form von Punkten, die an Oberfläche und Dicke zunehmen, die Tendenz haben, sich untereinander zu verschmelzen und eine weissliche, speckige Patina bilden, die sich leicht vom Nährboden löst. Wenn die Kultur älter ist, wird sie faserig,

- 2 -

B. literatur.

Das Gesamtschrifttum über die Typenforschung der Tuberkelbakterien ist ausserordentlich umfangreich. Es konnte daher nur das Teilproblem der kulturellen Typentrennung eingehender berücksichtigt werden. Dabei ergab sich eine Einteilung in drei grosse Abschnitte:

1. Bereits wenige Jahre nach der Entdeckung des Tuberkelbakteriums durch Robert Koch beginnt man mit der Abtrennung des Erregers der Geflügeltuberkulose. Die daran arbeitenden Forscher lassen die Säugetier-Tuberkelbakterien unberücksichtigt.
2. Um die Jahrhundertwende werden dann erstmals Wachstumsunterschiede zwischen den Erregern der Menschen- und Rindertuberkulose festgestellt. (Die Trennung innerhalb der Gruppe der von Säugetieren stammenden Tuberkelbakterien.) Keine Beachtung finden hierbei die Geflügeltuberkelbakterien.
3. Ein System in die kulturelle Typendifferenzierung bringt erst deren drittes Entwicklungsstadium, dessen Beginn in das Jahr 1930 fällt und eng mit den Namen Woltera und Dehmel verknüpft ist. Sie sind die ersten, die alle drei Typen des Tuberkuloseerregers kulturell differenzieren. Die Grundlage hierzu bietet eine inzwischen wesentlich verbesserte Nährbodentechnik.

1. Die Abtrennung des Erregers der Geflügeltuberkulose.

Bereits im Jahre 1887 wiesen Nocard und Roux (66) auf das charakteristische Aussehen der Kulturen von Geflügeltuberkelbakterien hin, deren feuchte und schmierige Kolonien sich durch eine auffallend rasche Entwicklung auszeichneten. Als weitere Eigenschaft wurde eine geringe Empfindlichkeit gegen extreme Temperaturen beobachtet.

Wenig später erkannten Rivolta (72) und Maffucci (54) gleichfalls Wachstumsunterschiede zwischen Tuberkelbakterien von Säugetieren und solchen von Vögeln. Maffucci (53) (54) sah auf glyzerinhaltigem Blutserum nach einer Bebrütungszeit von 8 Tagen Kolonien von Geflügelstämmen "in Form von kleinen weissen Wachstropfen, in Form von Punkten, die an Oberfläche und Dicke zunehmen, die Tendenz haben, sich untereinander zu vermischen und eine weissliche, speckige Patina bilden, die sich leicht vom Nährboden löst. Wenn die Kultur älter ist, wird sie faserig,

- 3 -

schleimig und nimmt eine gelbliche Farbe an." In der Subkultur traten isolierte Kolonien nicht mehr auf. Die optimale Wachstumstemperatur lag zwischen 30 und 40 Grad C. Die Erreger der Säugetier Tuberkulose wuchsen dagegen bei solchen Grenztemperaturen nicht mehr und waren überhaupt schleimiger zu züchten.

S t r a u s (83) sowie S t r a u s und G a m a l e i a (82) erhielten aus Krankheitsmaterial von Geflügel auf Glycerinserum einen schleimigen, feuchten, leicht verstreichbaren Kulturvasen, der erst trocken wurde, wenn er lange Zeit im Brutschrank stand. Im Gegensatz dazu stand die spröde und brüchige Beschaffenheit der Kulturen von Säugetier Tuberkelbakterien.

In grossen Versuchserien konnten W e b e r und B o f i n g e r (89) diese Beobachtungen bestätigen. Sie wiesen auch die hohe Virulenz der Erreger von Vogel Tuberkulose für Hühner und Kaninchen nach. Im mikroskopischen Gesichtsfeld sahen sie die Bakterien gleichmässig verteilt, einzeln liegend, nicht in Haufen beisammen wie die anderen Tuberkelbazillen.

M. K o c h und R a b i n o w i t s c h (45) stellten an 95 untersuchten Stämmen fest, dass das kulturelle Verhalten von Geflügeltuberkelbakterien sehr variabel war. Sie fanden alle Übergänge von der typischen, feuchtglänzenden, schleimigen bis zur trockenen, schuppigen Beschaffenheit der Kulturen. Dasselbe konnte L ö w e n s t e i n (52) beobachten.

Während nun Rivolta, Maffucci, Straus, Gamaleia, Weber und Bofinger die Säugetier Tuberkulose und die Tuberkulose der Vögel als selbständige Krankheitsformen und ihre Erreger sithin als zwei selbständige Arten ansahen, betrachteten Nocard u.a. diese nur als Varietäten einer Art und sprachen sich für eine nahe Verwandtschaft aus.

H e l m (30) konnte auf einem Glycerinserum-Nährboden und auf den Einnährböden nach Lubenau und Hohn in der Erstkultur eine Differenzierung zwischen bovinen Tuberkuloseerregern und Geflügeltuberkelbakterien nicht durchführen. Erst nach mehrmaliger Überzüchtung wuchsen die Erreger der Geflügeltuberkulose grauweis und schleimig. Bessere Differenzierungsergebnisse erhielt Helm, nachdem er die Brutraumtemperatur auf 47° C erhöht hatte: Während die bovinen Stämme überhaupt nicht gewachsen waren, zeigten die Kulturen der Geflügeltuberkelbakterien ein gutes Wachstum.

Die Bildung wallartiger, ringförmiger Kolonien als Charakteristikum für die Kulturen von Erregern der Hühnertuberkulose beschrieben erstmals W o l t e r a und D e h m e l (100). Diese Beobachtung konnten auch P a l l e a k o - E b e r (68), M a y n (55) und C o l a r i o t i (10)

- 4 -

machen. Moyn verglich die Kolonien der Gafllügel-Tuberkelbakterien in Erstkultur mit kleinen Wachsporlen.

2. Die Trennung innerhalb der Gruppe der von Säugetieren stammenden Tuberkelbakterien.

Unterschiede innerhalb der Gruppe der Säugetiertuberkelbakterien wurden erst bemerkt, als man begann, mit Reinkulturen der Erreger zu arbeiten.

Th. Smith (78) wies im Jahre 1898 auf morphologische und biologische Abweichungen unter den Erregern dieser Gruppe hin und sprach als erster von humanen und bovinen "Varietäten". Die bovine Varietät war schwieriger zu züchten und wuchs auf Rinderserum langsamer als die humane. Sie bildete kurze, kokkenähnliche Bakterienformen und war für Kaninchen und Rind vorwiegend pathogener als die humane Varietät. Während Glycerinbouillonkulturen von bovinen Tuberkelbakterien alkalisch reagierten, zeigten die von humanen Tuberkelbakterien nach einer Wachstumsdauer von 3 bis 4 Wochen eine saure Reaktion. Diese sogenannte "Reaktion nach Smith" (79) wurde von da ab verschiedentlich zur Typendifferenzierung herangezogen.

Vier Jahre später beobachtete Dorset (15), dass Kolonien boviner Tuberkelbakterien auf Eiernährböden klein, flach und feuchtglänzend blieben, Kolonien von Erregern aus menschlichem Ausgangsmaterial dagegen erheblicher und hoch wurden und mitunter einen trockenen, fest haftenden Überzug bildeten.

Kossel, Weber und Hausa (49) führten dann die Bezeichnung "Typus" ein. Sie konnten die Beobachtungen von Smith bestätigen. Ihre umfangreichen Versuche liessen deutliche Wachstumsunterschiede zwischen menschlichen und Parlsucht-Tuberkelbakterien erkennen. Schon innerhalb von drei Wochen zeigten Glycerinbouillonkulturen des humanen Typus eine die ganze Oberfläche bedeckende und an der Kälbohenwand ansporklettornartige, gleichmässig dicke, faltige Haut. Bei den Parlsuchtbazillen jedoch blieb das oft schon nach einigen Tagen sichtbare, feine, netz- oder schleierartige Oberflächenhäutchen das einzige Wachstumszeichen. Manchmal traten noch warzenartige Verdickungen verschieden grossen Umfanges, ja sogar geschlossene Oberflächenhäutchen auf. Schon damals wurde ersichtlich, dass sich nach längerem Fortzüchten die Typenunterschiede verwischen. Diese Hauptmerkmale des raschen und üppigen Wachstums beim Typus humanus und der langsamen, spärlichen und mitunter ausbleibenden Entwicklung beim Typus bovinus konnten auch Ouhlecker (67), Zwiok (101) und Schöne (77) bestätigen.

- 5 -

Sie wurden seither auf allen anderen Nährböden ebenfalls beobachtet.

Zu seiner neuen Erkenntnis gelangte M o e l l e r (62). Er fand, dass Glycerin fördernd auf das Wachstum des Typus humanus wirkte, die Entwicklung der Kulturen des Typus bovinus aber hemmte. Diesen Unterschied im Verhalten gegenüber dem Glycerin sahen Moeller, P a r k und K r u m - w i e d e (69), F r a s e r (19) und P o t r a g n a n i (70) als typenspezifisch an. Die Englische Tuberkulosekommission (74) dagegen stellte fest, dass es unter den bovinen Tuberkelbakterienstämmen drei Varianten (klassen) gibt:

1. durch Glycerin stark gehemmt (glyzerinophobe),
2. gegenüber Glycerin indifferent und
3. durch Glycerin geförderte (glyzerinophile).

R o s a und M a c c o l i n i (73) wiesen nach, dass zur ersten Gruppe 73%, zur zweiten Gruppe 14% und zur dritten Gruppe 12% der von ihnen untersuchten 71 bovinen Tuberkelbakterienstämme gehörten. Auch W i t t e (90) und R i s l a k i k i - S w a n b e r g (71) hatten sich schon vorher in ähnlichem Sinne geäußert.

Die bereits genannte Englische Tuberkulosekommission (74) prägte auch die Bezeichnungen "dyagonisch", langsam und schlecht wachsend, für den Typus bovinus und "eugonisch", schnell und üppig wachsend, für den Typus humanus. Doch sah sie nicht selten auf Rinderserum und Fleischbouillon, den damals gebräuchlichen Nährmedien, Übergangsformen zwischen den beiden Typen und hielt mithin eine deutliche kulturelle Abgrenzung für unmöglich. In solchen Fällen empfahl u.a. Z w i c k (101), den Kaninchenversuch durchzuführen.

Bereits im Jahre 1903 hatte A r p a d (1) gesehen, dass Kolonien humaner Tuberkelbakterien einen ziegel- bis orangeroten Farbstoff bildeten. Er glaubte, darin ein konstantes Unterscheidungsmerkmal gegenüber Kulturen boviner Tuberkelbakterien gefunden zu haben. P a r k und K r u m w i e d e (69) wiesen jedoch die Inkonstanz der Farbstoffbildung humaner Kulturen nach. Sie hatten auch als erste die kulturelle Typendifferenzierung nach dem Schema von Kassel, Weber und Haus in größerem Umfang auf den Einährböden nach Dorset und Lubonau durchgeführt. Alles, was üppig wuchs und zum grossen Teil ein gelbes Pigment bildete, rechneten sie dem Typus humanus zu. Langsames, spärliches Wachstum, vereint mit Pigmentlosigkeit, erachteten sie als zum Typus bovinus gehörig.

F r a s e r (19), der gleichfalls mit dem Dorset'schen Eisabstrat arbeitete, gewann die Überzeugung, dass zu einer einwandfreien Typendiffe-

- 6 -

renzierung nicht allein die morphologischen und kulturellen Eigenschaften, sondern auch die Glycerineinwirkung auf das Wachstum sowie die Reaktion nach Smith zu beachten und notfalls das Tierexperiment beizuziehen sei.

Die eingehenderen und neuere Arbeiten von Griffith (28), M. K i r c h n e r (44) und J e n s e n (41) bestätigten im großen und ganzen die bisherigen Erkenntnisse in der kulturellen Typentrennung. Dabei hatte aber auch Griffith vereinzelte Fälle von dyagonischem Wachstum humaner Tuberkelbakterienstämme beobachtet. Nur durch die Pigmentbildung der humanen Stämme auf erstarrtem Kälberserum war ihre deren Abtrennung möglich. Seine Nährmedien bestanden noch neben Einährböden in Kartoffeln und Bouillon mit Glycerin. M. K i r c h n e r (44) verwendete nur feste Einährböden mit Glycerin- und Rinderserumzusatz, J e n s e n (41) dagegen Bearedke-Bouillon neben Löwenstein-Agar. Letzterer konnte ebenso wie G e r b e r t (20) bei Erstkulturen die Typen nur bestimmen, wenn zur Vorbehandlung Natronlauge benutzt worden war. In Kondenswassernähe liegende Kolonien ließen spezifische Typenmerkmale vermissen. Größere Unterschiede in kultureller, morphologischer und biologischer Hinsicht als Griffith stellte S u m i y o s h i (84) bei humanen Tuberkelbakterienstämmen fest.

Weitere Verbesserungen der kulturellen Typendifferenzierung veröffentlichte H o h n (36). Seine Erfahrungen mit dem Hämatin-Einährboden lassen sich dahingehend zusammenfassen, das der Typus bovinus als hämatinophil, der Typus humanus als glyzerinophil zu betrachten sei. Sehr gute Differenzierungsergebnisse erhielt Hohn auf seinen Z- und Amino-Einährböden (37) (38). Er entwickelte eine besondere Technik des Anzüchtens, indem er eine Makrokolonie von 2 cm Durchmesser in der Nähe der Kondensbouillon anlegte, so dass ein Wachstum auf unbegrenztem Raum erfolgte. Auf diese Weise erhielt Hohn ganz charakteristische Typenbilder. Die Makrokolonie des Typus humanus war von weißgelber Farbe, trocken, hart, höckerig, kammtartig und ähnelte einem Gebirgsrelief. Der Typus bovinus wuchs dagegen als grauweißer, feiner, flacher, feuchtglänzender, kautschukartiger, schmierig aussehender Rasen. Nach der gleichen Methode, die in den meisten Fällen den Tierversuch ersetzt hatte, arbeitete mit ähnlichem Erfolg auch G o t t a c k e r (21), der den Sauton-Agar verwendete. Ebenfalls befriedigend waren die Differenzierungsergebnisse, die H e r r m a n n (33) auf dem Substrat 4 nach Hohn erzielte.

Bei der praktischen Durchführung der kulturellen Typendifferenzierung traten im Laufe der Jahre verschiedene Probleme auf, wie etwa die Frage der Typenumwandlung bzw. der Übergangsstämme.

- 7 -

So führte E b e r (16) (17) das Versagen des Rinderinfektionsversuches bei der Typentrennung auf das Vorhandensein von Übergangstämmen zwischen dem Typus humanus und dem Typus bovinus zurück. Auch andere Untersucher konnten feststellen, dass die Virulenz humaner Tuberkelbakterienstämme für Rinder nach Tierpassagen erheblich zugenommen hatte. D a m m a n n und M ü s s e m o i e r (13) sahen sich so veranlasst, die Typentrennung nach K o s s e l, M o b e r und H e u s a (49) abzulehnen. W o l t e r s (96) sah Säugtier-Tuberkelbakterienstämme nach Hühnerpassagen die Eigenschaften des Typus gallinaceus annehmen. N e u f e l d (65), C o b b e t t (9) u.a. dagegen konnten eine Typenumwandlung nicht beobachten und sprachen sich für eine strenge Typentrennung aus. Auch L. L a n g e (51) betonte später, dass die Tuberkuloseforschung ohne die Anerkennung von Typen nicht auskommen könnte und dass man "beim Aufgeben der Typenlehre wieder in eine Art Chaos zurückfallen" würde.

Die Ursache des Auftretens vieler sogenannter Übergangstämmen war nach C o b b e t t (9) und G r o h (29) in dem Vorliegen einer Mischinfektion zu suchen. Groh hatte 25 Perleuchtstämmen nach langem Fortzüchten ohne Ausnahmeweise als Mischstämmen erkannt, deren Kolonien je nach der Größe des humanen oder bovinen Anteils das verschiedenartigste Aussehen zeigten. J e n s e n (41) fand, dass in Tuberkelbakterienmischkulturen der humane Anteil den bovinen überwiegt und dass dann zur Typendifferenzierung der Kaninchenversuch herangezogen werden muss. In einer Arbeit jüngeren Datums vertrat J o n s e n (42) die Auffassung, dass Transformationen vom bovinen zum humanen Typ möglich seien bzw. dass der bovine Typus im Körper durch einen humanen Typus verdrängt werden könne. Desgegenüber gelangten S a x e r und V o n a r b u r g (76) auf Grund zahlreicher Beobachtungen zu der Ansicht, dass bovine Stämme wohl einen Teil ihrer Eigenschaften, namentlich die Virulenz für Versuchstiere, einbüßen können, daß aber diese Transformation eher mit Dissoziationserscheinungen zusammenhängen dürfte.

Eingehend befasste sich B a r g l o w a k i (2) mit dem Problem der Dissoziation. Er fand, dass der Typus humanus zeitweise die Neigung hatte, die glatten S-Kolonien zu bilden und überhaupt ein feuchteres Wachstum zu zeigen, was auch mit der Menge des Kondenswassers und der Feuchtigkeit des Nährbodens zusammenhing. Andererseits schlug der Typus bovinus mitunter in die rauhe R-Phase um. Diese Erscheinungen zeigten sich vor allem an älteren Stämmen. S p a n e d d a (80) konnte jedoch nachweisen, dass die Typen auf dem Nährboden nach Petragiani stets in der für sie charakteristischen Phase wuchsen.

- 8 -

Auf die Gefahr einer Verwechslung von Tuberkelbakterienkolonien mit Kolonien apathogener Mykobakterien wiesen besonders M e y n (57) sowie M e y n und S t e f f l e r (50) hin. Die säurefesten Saprophyten wuchsen aber viel rascher und üppiger. Ausnahmefälle konnten auf einfachen Nährböden einwandfrei geklärt werden, auf denen dann nur die apathogenen Mykobakterien wuchsen.

3. Die gleichzeitige Berücksichtigung aller drei Typen des Tuberkuloseerregers von Warblütern bei der kulturellen Typendifferenzierung.

In seiner ersten Veröffentlichung hielt W o l t e r s (93) eine Abgrenzung des Typus humanus vom Typus bovinus auf Grund des Wachstums auf Einnährböden noch für unmöglich. Der Typus gallinaceus jedoch zeigte in Besardka-Bouillon bereits deutlichere Wachstumsunterschiede gegenüber den Stügeltypen.

Zusammen mit D e h m e l veröffentlichte W o l t e r s (97) dann im Jahre 1930 die Arbeit, deren Ergebnisse seither von den meisten Autoren bestätigt wurden. Wolters und Dehmel verwendeten für ihre ausgedehnten Versuche den Malachitgrün-Einnährboden nach Petragani und die Besardka-Bouillon mit und ohne Malachitgrün. Die Vorbehandlung des Materials erfolgte mit 15%iger Salzsäure. Der Nährboden nach Petragani erwies sich als vorzüglich geeignet für die Typendifferenzierung von Tuberkuloseerregern und anderen säurefesten Bakterien und war darin auch dem Hohn'schen Substrat überlegen. Die festgestellten klaren Typenunterschiede sind in nachfolgender Tabelle aufgezeigt:

- 9 -

Typus	Erstkultur		Subkultur	
	Wachstumsbeginn	Aussehen der Kultur	Wachstumsbeginn	Aussehen der Kultur
hues-nus	12.bis 50.Tag	Kleine, hellgelbe, erhabene, trockene Kolonien, die später einzelne, blumenkohlartige Bröckel oder einen trockenen, krümeligen Rasen bilden.	10.bis 20.Tag	Üppiges Wachstum, hellgelber, trockener, krümeliger Belag
bovi-nus	14.bis 60.Tag durchschnittl. 36.Tag	Kleine, hellgelbe, feuchtglänzende, glatte Kolonien	21.bis 28.Tag	zarter, hellgelber, feuchtglänzender Kulturrasen, der sich später grün färbt
gelli-naceus	10.bis 20.Tag	schnelles Wachstum, runde, knopfförmige, erhabene, hellgelbe, feuchtglänzende Kolonien	8.bis 15.Tag	feuchtschleimiger Kulturrasen, der stellenweise runde, knopfförmige Erhebungen ungleicher Größe zeigt. Später mitunter Gelbfärbung des Nährbodens.
Kaltblüt-Tuberkulose u. Säurefeste Saprophyten	1. bis 3.Tag	rasches u. Üppiges Wachstum, roh und grob aussehende, oft intensiv gefärbte Kolonien. Leicht zu erkennen !!!		

- 10 -

Das erste Sichtbarwerden und die Menge der Kolonien waren abhängig von der Entwicklungsfähigkeit und der Anzahl der im Untersuchungsmaterial vorhandenen Tuberkelbakterien. Übergangsstämme zwischen dem humanen und dem bovinen Typ wurden nicht beobachtet. Zur Differenzierung empfahlen Wolters und Dehmel, nur die gleichmäßig gewachsenen Subkulturen heranzuziehen.

Die Besredka-Bouillon erwies sich zur Abtrennung des Typus gallinaceus als besonders geeignet. Die Erreger der Geflügeltuberkulose bildeten einen schleimigen Bodensatz, der beim Aufschütteln zopfartig emporwirbelte. Säugetier-Tuberkelbakterien hingegen zeigten nach 2 bis 4 Wochen einen krümeligen Bodensatz, ohne die Nährflüssigkeit zu trüben.

Diese Wachstumsunterschiede traten nach Schöne (77) sogar an alten Laboratoriumstämmen eindeutig in Erscheinung. Dabei fiel besonders die milchige Trübung auf, die der Geflügeltyp in der Nährflüssigkeit hervorrief. Demgegenüber stellte Chiti (7) die Sicherheit der Differenzierung zwischen den Säugetiertypen und dem Typus gallinaceus durch Besredka-Bouillon und durch flüssige Nährmedien überhaupt in Frage. Er hatte gesehen, dass Geflügelstämme nicht regelmäßig das angegebene Wachstum zeigten und dass andererseits die für den Typus gallinaceus als charakteristisch bezeichneten Wachstumsformen sich gelegentlich auch bei Stämmen des Typus bovinus fanden.

Nach weiteren Versuchen zogen Wolters und Dehmel (97) für die Erstkultur den Nährboden nach Petragani ohne Glycerin für die Subkultur bzw. für eine Typentrennung den mit Glycerin vor. Sie hatten beobachtet, dass sich auf dem Substrat ohne Glycerin die Typenmerkmale vorzeichneten. Das Vorkommen von Geflügeltuberkelbakterien beim Rind (100) konnten sie am besten durch den Kulturversuch nachweisen. Auch sahen sie (100) als erste die Kraterbildung der Kolonien des Typus gallinaceus auf dem Petragani-Nährboden, wie sie nach ihnen in gleicher Weise von Pallasko-Eber (68), Meyn (55) und Colarieti (10) in Form runder, ovaler oder unregelmäßiger Koloniewälle nach längerer Bebrütung immer wieder vorgefunden wurde.

Durch die Veröffentlichungen von Wolters und Dehmel wurde ein System in die kulturelle Typendifferenzierung eingeführt, das bis zum heutigen Tage seine Gültigkeit besitzt. Auch die Zahl der Fälle, in denen der Tierversuch nicht zu wegehen ist, wurde auf ein Mindestmaß eingeschränkt.

Nach der Methode von Wolters und Dehmel hat man seither die kulturelle Typendifferenzierung allgemein durchgeführt, und zwar teils mit dem Ori-

- 11 -

ginalnährboden nach Petragani, teils mit dessen Modifikation nach W i t t e (91). Von den einschlägigen Arbeiten in der Folgezeit seien hier die von F l ü c k i g e r (18), M e l a (31), G r a f (26), D e h m e l (14), P a l l a s k e - E b e r (66), W i t t e (90) (91), M e y n (55) (56), G e r b e r t (20), S c h ö n e (77), S t e i n e r (81), B e l l e r (3) (4) (5), K u r z w e i l (50) und M u n z (64) genannt.

F l ü c k i g e r (18) konnte in Subkulturen ein auffallend frühes Erscheinen der ersten Kolonien beobachten (Typus gallinaceus am 3., Typus humanus am 7. und Typus bovinus am 10.Tag).

P a l l a s k e - E b e r (68), W i t t e (90) (91) (92) und B e l l e r (3) schenken einer genügenden Sauerstoffspannung und Feuchtigkeit erhöhte Beachtung. So beobachtete Witte bei veränderter Sauerstoffspannung als Folge eines festen Röhrchenverschlusses ein üppigeres Wachstum des Typus bovinus. Der Typus humanus dagegen benötigte für seine Entwicklung mehr Sauerstoff.

G e r b e r t (20) und B e l l e r (3) (4) (5) betonten die Überlegenheit des kulturellen Differenzierungsverfahrens nach Wolters und Dehmel gegenüber dem Tierverrauch. Dieser sei teuer und infolge grosser Virulenzschwankungen und interkurrenter Todesfälle nicht selten zum Versagen verurteilt.

Nach M e y n (56) erwies sich der Typus gallinaceus ähnlich dem Typus humanus als glyzerinophil.

S t e i n e r (81) und S c h ö n e (77) beobachteten, dass ältere, länger fortgezüchtete Stämme des Typus bovinus in zunehmendem Maße die Eigenschaften humaner Kulturen annahmen. Ähnliches konnten erst neuerdings auch W a g e n e r und M i t s c h e r l i c h (88) feststellen. Die Typenzugehörigkeit solcher Stämme bestimmte Schöne dann nach deren Wachstum auf Glycerinbouillon.

Auch K u r z w e i l (50) konnte auf dem Nährboden nach Petragani und Witte von 32 fortgezüchteten Tuberkelbakterienstämmen nur 29 (90,9%) unwandfrei differenzieren. Er empfahl für die kulturelle Typentrennung die gleichzeitige Verwendung des glyzerinfreien und des glyzerinhaltigen Nährbodens nach Petragani, um eindeutige Ergebnisse zu erhalten.

In jüngster Zeit berichtete M e y n (57) über seine Erfahrungen mit gebrauchsfertigen Nährböden. Der feste Cassella-Nährboden, eine Modifikation des Petragani-Nährmediums, eignete sich danach auch gut zur Typendifferenzierung. Die Typenmerkmale entsprachen denen der Kulturen auf

- 12 -

dem Originalnährboden nach Petragrani. Sie traten später jedoch noch deutlicher hervor als auf diesem, da der Cassella-Nährboden auf Grund seiner höheren Feuchtigkeit monatelang nicht eintrocknete.

Aus den bisherigen Ergebnissen der Typendifferenzierungsversuche ergeben sich auch Folgerungen für die bakteriologische Systematik, die M e y n (58) und H u a s e l (40) in neueren Arbeiten erwähnt haben. Beide reiheten das Tuberkulosebakterium im System der Mikroorganismen nach B e r g e y 's Manual of Determinative Bacteriology (6) ein. Danach gehören die drei Typen des Tuberkelbakteriums zu zwei verschiedenen Arten der Gattung Mycobacterium. Die humanen und die bovinen Tuberkelbakterien gehören zur Art Mycobacterium tuberculosis als var. hominis und var. bovis. Die Geflügeltuberkelbakterien bilden als Mycobacterium avium eine Art für sich.

Aus dieser Stellung der drei Tuberkuloseerreger im System der Bakterien ergibt sich bereits eine nahe Verwandtschaft der Menschen- und Rindertuberkelbakterien. So nimmt es nicht wunder, dass Erreger des bovinen Typs ziemlich häufig und auch schon seit langem beim Menschen gefunden wurden. Aber auch umgekehrte Beobachtungen fehlen im letzten Jahrzehnt nicht. So fand H i l l e r m a r k (34) in 5 Fällen beim Rinde als Krankheitserreger das Mycobacterium tuberculosis var. hominis. V e r g e (85) behauptete, dass der Typus humanus bei Kühen in 34,3% der Tuberkulosefälle vorkomme, bei Katzen und Hunden sogar in 46% bzw. 65,7%. C h r i s t i a n s e n (8) hatte schliesslich Neuinfectionen gesunder Rinderbestände durch Erreger humanen Typs beobachtet.

In den letzten Jahren waren nun Bemühungen zu erkennen, die Methodik der kulturellen Typendifferenzierung der Tuberkelbakterien durch die Entwicklung von Spezialnährböden zu verfeinern.

Nach Versuchen mit der synthetischen Nährlösung von Sauton ging G o t t s a c k e r (21) (22) zur Fertigung eines festen Nährmediums, des sog. Sauton-Agars, über und kombinierte dieses in der Folge mit dem Substrat 4 (Einknährboden) nach Hohn. Eine eindeutige Typentrennung der Tuberkelbakterien in Erstkulturen war jedoch auch hiermit nicht möglich.

Weit bessere Ergebnisse erzielte G o t t s a c k e r (24) durch Zuglassen des Eiklars bei der Herstellung seiner Nährböden. Auf diesen Eigelb-

- 13 -

substraten wuchs der Typus bovinus üppiger und fast ebenso rasch wie der Typus humanus, wobei letzterer zudem durch eine intensivere Pigmentbildung vom bovinen Typ zu trennen war.

Eine Weiterentwicklung stellte dann der Differenzierungs-Nährboden von G o t t e a c k e r (25) dar, der neben Eigelb, Sauton-Lösung und Maleschitzgrün einen wässrigen Fisch- und Hirnauzug enthielt und über Sauton-Agar geschichtet wurde. Ein Zusatz von Nährbouillon zu diesem Substrat erübrigte sich, da die Agarunterlage genügend Feuchtigkeit abgab, die nicht nur als Kondenswasser, sondern auch in Form kleiner Tröpfchen an der Röhrenwand (Treibhausatmosphäre) in Erscheinung trat. Auf dem neuen Differenzierungs-Nährmedium zeigten sich schon in Erstkultur und bei späterer Beimpfung gute Typenmerkmale, die nach vier Wochen am deutlichsten ausgebildet waren, und die Gottsacker wie folgt beschreibt:
 Typus humanus: relativ grosse, gelbbraune Kolonien von Warzen- und Nebelform.
 Typus bovinus: relativ kleine, bleiche, manchmal segmentierte Kolonien, ausserdem in Form von Rosetten, mitunter auch kleine Perlen- und Brustwarzenformen.

Typus gallinaceus: hinsichtlich Grösse und Form der Kolonien dem Typus bovinus ähnlich, charakteristisch ist jedoch die hellbraune Farbe. Mitunter werden isoliert liegende Kolonien sehr gross, sind aber dann sehr flach. Auch Brustwarzenformen treten auf. Diese Differenzierungserfolge führte Gottsacker vor allem auf die ausschliessliche Verwendung von Eigelb zurück.

Einen ganz anderen Weg auf der Suche nach einem optimalen Differenzierungsmedium gingen W a g e n e r und M i t s c h e r l i c h (88). Sie entwickelten zunächst einen Nährboden, auf dem lediglich die Kulturen des Typus gallinaceus angingen. Zu seinen Hauptbestandteilen gehörte das Sojabohnenpräparat Solactin.

Zur Trennung aller drei Tuberkelbakterientypen versuchten sie den Agar nach D u b o s. Allein dieser Nährboden erlaubte nur eine einwandfreie Differenzierung des Typus gallinaceus von den Säugetiertypen.

Der Versuch, mit flüssigen Nährmedien - Substrat 30 nach H e r r m a n n (33) mit Glycerin - zu differenzieren, ergab lediglich bei 64% der untersuchten humanen Stämme als Typenmerkmal ein Oberflächenhäutchen.

Das nicht seltene Versagen einer klaren Typentrennung bei den Säugetiertuberkelbakterien auf den üblichen festen Nährboden nach Hohn und Petruniani bewog Wagener und Mitscherlich, zusätzlich die "Reaktion nach Th. Smith" (siehe S.4) beizuziehen. Diese beruht auf einer Säureproduktion

- 14 -

des *Mycobacterium tuberculosis* var. *hominis*, die nach neueren Untersuchungen von *Menley* und *Le Duc* (32) auf sehr komplexe Stoffwechselvorgänge zurückzuführen ist: Der Typus *humanus* greift Glycerin unter Bildung einer freien Säure an. Diese wird durch den Ammoniak neutralisiert, der infolge einer Spaltung der Stickstoffverbindungen des Nährsubstrates entsteht. Sind nun die Stickstoffverbindungen vor dem Glycerin verbraucht, so können sich die humanen Tuberkelbakterien zwar nicht mehr vermehren, atmen jedoch weiter und bilden noch so lange Säure, bis kein Glycerin mehr vorhanden ist. Zwei Faktoren sind für diese Säuerung von Wichtigkeit: Einerseits müssen die Tuberkelbakterien das Glycerin angreifen können, andererseits müssen die Stickstoffverbindungen mengenmäßig in optimalem Verhältnis zum Glycerin stehen.

Diese Voraussetzungen erfüllten *Magen* und *Mitcherlich* mit ihrem neuen Bronkrosolpurpurnährboden. Als Grundlage dazu diente ihnen das Hohn'sche Substrat 4 in der Modifikation nach *Gottacker*. Dem Vorteil eines festen Nährbodens erblickten sie darin, dass dieser nicht nur die Beurteilung der pH-Verchiebung gestattete, sondern es auch erlaubte, die Art des Wachstums mit zur Differenzierung heranzuziehen. Der Bronkrosolpurpurnährboden ist ein Einährmedium von stahlblauer Farbe. Entsteht in ihm beim Wachstum der Tuberkelbakterien eine freie Säure, die durch Alkali nicht neutralisiert wird, so schlägt die blaue Farbe in gelb mit leicht grünlichem Einschlag um.

Bei 44 überprüften humanen Stämmen trat nach einem Brutzyklus aufenthalt von 1 bis 2 Monaten auf dem neuen Nährsubstrat ohne Ausnahme unter eugenischem Wachstum ein Farbumschlag von stahlblau nach grünlichgelb in Erscheinung. Die 34 unterzuchten bovinen Stämme wuchsen dagegen dysgonisch und zeigten in keinem Falle eine Säuerung bzw. Verfärbung des Nährbodens. Die Verfasser betonten, dass der Farbumschlag ausbleiben kann, wenn die Kulturen des Typus *humanus* schlecht angehen, insbesondere wenn die Nährböden infolge eines zu langen Aufenthaltes im Koagulationschrank zu trocken werden.

Erst vor kurzem berichtete *Mitcherlich* (61) erneut über sehr gute Erfolge mit dem Bronkrosolpurpurnährboden bei der Typenbestimmung von 130 frisch isolierten Tuberkulbakterienstämmen. Der parallel laufende Kaninchenversuch ergab in drei Fällen erst nach der zweiten Impfung eine Übereinstimmung mit dem Ergebnis der Kultur auf dem neuen Differenzierungsnährmedium und erwies sich somit als diesem unterlegen.

Von weniger guten Ergebnissen mussten *Sexer* und *Von Sarg* (76) berichten. Von 9 in Kultur- und Tierversuch eindeutig als human

- 15 -

typisierten Stämmen riefen trotz üppigen Wachstums nur 2 Stämme auf dem Bromkresolpurpurnährboden die typische grünlichgelbe Verfärbung hervor. Andererseits trat der Farbumschlag auch bei 3 bovinen Stämmen trotz zum Teil weniger intensiven Wachstums auf. Von diesen war 1 Stamm jedoch virulenzschwach und stand hinsichtlich seiner kulturellen Merkmale dem Typus humanus nahe.

Meinen Versuchen legte ich die jüngste Arbeit von G o t t a -
a c k e r (25) und die neuesten Veröffentlichungen von W a g e n e r (88)
und M i t s c h e r l i c h (89) zugrunde. Unbekannte Tuberkelbakterien-
stämme tierischer Herkunft aus dem Einlaufmaterial der Anstalt sollten in
Vergleich mit den bisher gebräuchlichen Nährböden nun auf neuen Spezial-
nährmedien auf ihr typenspezifisches kulturelles Verhalten hin geprüft wer-
den. Dazu wurde der Differenzierungsnährboden nach Gottsacker (25) und
der Bromkresolpurpurnährboden ausgewählt. Im Gegensatz zu Gottsacker wur-
den dabei die ersten Subkulturen verwendet. Von Interesse war es nun für
sich, auch zugleich nachprüfen zu können, ob und inwieweit das Schlagwort
"Rindertuberkulose - Kindertuberkulose" nicht auch umgekehrt Geltung hat.

- 16 -

C. Material und Methodik.

Folgende Abkürzungen werden in der Arbeit verwendet:

- Po = Nährboden nach Petragani ohne Glycerinzusatz
- Pm = Nährboden nach Petragani mit Glycerinzusatz
- PoS = Nährboden nach Petragani ohne Glycerinzusatz auf glyzerin-haltigem Sauton-Agar
- Digo = Differenzierungs-nährboden nach Gottsacker
- Br = Bromkresolpurpur-nährboden

I. Untersuchungs-gang.

- a) Vorversuch: Zur Einarbeitung wurden bereits differenzierte Tuberkel-bakterienstämme aller drei Typen auf Po, Pm, PoS, Digo und Br angezüchtet und auf ihr kulturelles Verhalten hin beobachtet.
- b) Erster Hauptversuch: An Hand der Erkenntnisse aus dem Vorversuch wurden dann grössere Versuchareihen zugleich mit mehreren Kontroll-stämmen aller drei Typen angesetzt, um die besten Differen-zierungs-nährmedien herauszufinden.
- c) Zweiter Hauptversuch: Zur Erhärtung der bisherigen Ergebnisse wurden in weiterhin vergrösserten Versuchsserien und bei den Kontrollen dazu nur mehr die beiden als optimal erkannten Nähr-böden (Pm und Digo) beigezogen.
- d) Schlussversuch: Mit sämtlichen bisher verwendeten Stämmen, ausgenommen die des Typus gallinaceus, wurde nunmehr nach Angabe des Autors (88) der Bromkresolpurpur-nährboden reichlich beimpft.

II. Die Nährböden und ihre Herstellung.

Folgende 5 Nährböden wurden verwendet:

- 17 -

1. Der Nährboden nach Petragani mit Glycerinzusatz (Pm).

Als Ausgangsmaterial dienen:

- 1 mittelgroße Kartoffel,
- 150 ccm entrahmte Frischmilch,
- 6 g Kartoffelmehl,
- 1 g Pepton,
- 4 frische Eier,
- 1 frisches Eigelb,
- 12 ccm Glycerin,
- 10 ccm Malachitgrün 2%ig (sterilisiert).

In einen sterilen 1-Liter-Kolben gibt man die entrahmte Frischmilch sowie das Kartoffelmehl und Pepton und die in kleine Stücke geschnittene Kartoffel. Die Masse wird im kochenden Wasserbad so lange gerührt, bis eine Verdickung (nach etwa 10 Minuten) eintritt und dann noch 1 Stunde im gleichen Wasserbad gekocht. Das verdunstete Wasser wird dabei unter Schwenken jeweils durch Nachgüssen ersetzt.

Die frischen Eier werden mit Spirituswatte gereinigt, mit einer sterilen Pinzette geöffnet und in einen sterilen Rührapparat geleert. Dort werden sie sofort durch längeres, heftiges Rühren gemischt.

Nun wird die auf 50° C abgekühlte Kartoffelmasse sowie das Glycerin und die sterilisierte Malachitgrünlösung (200 mg auf 10 ccm Aqua dest.) unter Umrühren zugesetzt und so lange gerührt, bis alles gründlich vermischt ist (mindestens 5 Minuten). Nach weiteren 5 Minuten Zwartens wird die ganze Masse in einen mit einem sterilen Drahtsieb versehenen sterilen Trichter geschüttet und mittels steriler Mörserpilsteile unter Rühren durchgedrückt, soweit es möglich ist. An dem Trichters Ende ist ein Abfüllschlauch mit Klemme und Abfüllpipette mit genügend weiter Öffnung angebracht. Es kommen nun in jedes sterile, mit Wattepfropfen versehene Reagenzröhrchen ca. 5 - 6 ccm Nährbodenmasse, ohne dabei den Röhrchenrand zu berühren. Die Nährbodenröhrchen werden alsdann in den Serumsterilisationsapparat gebracht und eine halbe Stunde bei 85° C gehalten. Am nächsten Tag erfolgt ein Zusatz von etwa 1/2 bis 1 ccm steriler Rindfleischbouillon (pH 7,5) und erneute Sterilisation im Dampftopf (1/2 Stunde bei 80° C).

2. Der Nährboden nach Petragiani ohne Glycerinzusatz (Po).

Die Herstellung erfolgt wie bei Pm, nur ohne den Glycerinzusatz.

3. Der Nährboden nach Petragiani ohne Glycerinzusatz auf glyzerinhaltigem Sauton-Agar (PoS).

Der Nährboden nach Petragiani ohne Glycerinzusatz wird über den Sauton-Schrägagar (siehe 4.1) geschichtet (Modifikation nach Gottacker) (23).

4. Der Differenzierungs-Nährboden nach Gottacker (Digo) (25).

Zu 200 ccm Eigelb gibt man 140 ccm der mit NH_4OH auf pH 6,9 - 7,2 eingestellten Sautonlösung (mit 0,05% K_2HPO_4 + 0,2% Zitronensäure + 0,05% MgSO_4 + 0,4% Asparagin + 0,005% Ferriammonitrat + 6% Glycerin), dazu noch je 30 ccm eines wässrigen, folgendermaßen bereiteten Fisch- und Hirnauszugs: 1/2 Pfund Hirn bzw. Fisch lässt man mit 2 l Wasser, welches mit 2 ccm konzentrierter Schwefelsäure angesäuert ist, bis zum nächsten Tag stehen. Alsdann erhitzt man 1 Stunde lang auf 120° C im Dampf, neutralisiert, filtriert und sterilisiert aufs neue.

Die eigelbhaltige Mischung (insgesamt 400 ccm) färbt man mit der gewünschten Maleschitzgrün-Menge (10 ccm 2%ig: 200 mg auf 10 ccm Aqua dest.), schüttelt mit Glasperlen und füllt mit Hilfe eines kleinen Trichters zu je 5 ccm in Reagenzröhrchen ab, in denen man vorher 3 ccm 1,5%igen Sauton-Schrägagar hat über Nacht erstarren lassen.

Alsdann erhitzt man an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 1 1/2 Stunden im Dampf von 80 - 85° C. Die Nährbodenröhrchen muss man in Ruhe abkühlen lassen, damit der weich gewordene Sauton-Agar Zeit hat, sich wieder zu verfestigen. Der Agar muss von der Nährbodenmasse bedeckt sein, daher passend neigen (sowohl beim Erstarren des Agars als auch beim Koagulieren der Nährbodenmasse)! Eine Beschmutzung des Röhrchenrandes soll wegen Verschimmelungsgefahr vermieden werden.

Sauton-Schrägagar erhält man durch einstündiges Erhitzen von Sauton-Nährlösung mit 1,5% Agar-Agar im Wasserbad. (Der Agar hat einen Wassergehalt von 90%.)

- 19 -

5. Der Bromkresolpurpurindikatorboden (Br) (88).

Kartoffelgrundmasse: In einen 1-Liter-Kolben werden 450 ccm dest. Wasser, 20 g Kartoffelmehl und drei eigrasse, feingeschnittene Kartoffeln gegeben. Der Fülligkeitsstand am Kolben wird markiert. Der Kolben wird zuerst 10 Min. lang unter ständigem Umrühren im kochenden Wasserbad gehalten. Darauf lässt man ihn 1 Stunde lang unter zeitweiligem Umrühren weiterkochen. Das verkochte Wasser wird bis zur Marke nachgefüllt. Die Kartoffelmasse wird durch ein feines Durchschlagsieb mit einem Platill in einen grossen Mörsel gedrückt. Die dickflüssige Masse wird zu 50 ccm in 500-ccm-Flaschen abgefüllt und, falls sie nicht sofort Verwendung findet, zweimal 35 Min. bei 100° C sterilisiert.

Modifizierte Lockemannlösung:

Asparagin	0,7	
Dinatriumphosphat	0,092	(0,46 g in 20 ccm Aqua dest. lösen und 4 ccm der Lösung nehmen).
Monokaliumphosphat	0,12	(0,6 g in 20 ccm Aqua dest. lösen und 4 ccm der Lösung nehmen).
Natriumnitrat	0,9	
Magnesiumsulfat	0,4	(0,8 g in 20 ccm Aqua dest. über der Flamme lösen und 10 ccm der Lösung nehmen).
Ferriammoniumsulfat	0,0015	(0,25 g in 5 ccm Wasser lösen. 1 ccm hiervon mit 9 ccm Aqua dest. verdünnen. Von dieser Verdünnung 0,3 ccm nehmen).

Glycerin 20,0

Aqua dest. (heiss) 200,0

Nach vollständiger Lösung wird die Gesamtmenge in zwei gleiche Teile zu je 110 ccm geteilt. Jeder Teil wird einer Flasche Kartoffelgrundmasse (siehe oben) zugesetzt und zweimal 35 Minuten lang bei 100° C sterilisiert.

Endgültige Herstellung:

Der Inhalt von 4 Eiern wird nach der üblichen Reinigung der Schalen mit Alkohol in ein steriles Pulverglas von 300 ccm Inhalt entleert und mit Glasperlen geschüttelt.

Die Menge von 165 ccm wird in einem sterilen Zylinder abgemessen und in das entleerte Schüttelglas zurückgegossen. Dazu kommt der Dotter eines Eies.

- 20 -

Es wird nochmals kurz geschüttelt. Die Mischung, die jetzt 180 - 185 ccm beträgt, wird einer der mit Kartoffelgrundmasse und Lockmannlösung beschickten Flaschen zugesetzt. Zur Vermeidung von später koagulierendem Schaum in dem unteren Teil der Röhren lässt man die gesamte Mischung durch ein ausgeglühtes, feines Drahtsieb über einen sterilen Trichter hinzulaufen.

Die Gesamtmenge jedes Kolbens beträgt nunmehr 340 ccm. 0,24 g Bromkresolpurpur werden in 50 ccm Aqua dest. gelöst. Die Lösung wird durch Filterpapier filtriert. Von der Lösung werden zu 340 ccm Nährbodenmasse 15 ccm hinzugefügt. Die Flaschen werden zur gründlichen Durchmischung des Nährbodens mit dem Farbstoff geschwenkt. Darauf wird der Nährboden zu 6 ccm in Reagenzgläser abgefüllt und in gleicher Weise wie der Nährboden nach Hohn (35) im Erstarrungsschrank koaguliert (1/4 Stunde bei 87° C). Dabei ist streng darauf zu achten, dass die Röhren nur gerade bis zur Erstarrung des Nährbodens im Koagulierungsschrank verbleiben, da jede weitere Trocknung das Wachstum und damit das Differenzierungsphänomen beeinträchtigt.

Zur Prüfung der Keimfreiheit der Nährböden wurden von jeder Herstellungsweise zwei Röhren unbeimpft in den Brutraum gebracht. Ihr Verschluss entsprach dem der beimpften Röhren. Diese Kontrollröhren blieben durchwegs während der Dauer der Versuche steril.

III. Anlegen der Kulturen und Beobachtung der Kulturröhren.

- a) Vorversuch: Die Anzüchtung geschah nach zwei Methoden:
- Methoden A: Jedes Nährbodenröhrchen wurde unmittelbar mit einer einzelnen Kolonie der Stammkultur beimpft. Dabei wurde das Material auf der spiegelglatten Oberfläche des neuen Nährbodens mit etwas Kondenswasser durch kreisende Bewegungen der Öse fein verrieben und in Spiralform verteilt.
- Methoden B: Auf einem sterilen Objektträger wurde eine Kolonie der Ausgangskultur in 4 - 5 Tropfen steriler physiologischer Kochsalzlösung mit der Öse fein verteilt und von da auf alle 5 Nährböden gebracht.

- 21 -

b) Erster Hauptversuch: Da in den Züchtungsergebnissen ein Unterschied zwischen den beiden Methoden des Vorversuches nicht zum Ausdruck kam und die Methode B ein rascheres Arbeiten gestattete, wurde für den ersten Hauptversuch diese gewählt.

a) Zweiter Hauptversuch: Von der Ausgangskultur wurde eine Öse (2,5 cm lichte Weite) voll Material entnommen, am Rande eines Zentrifugenröhrchens vorrieben und so im Röhrcheninhalt (1 com einer 1,5%igen Salzsäure) fein verteilt. Nach dem Zentrifugieren (10 Minuten bei 1500 Umdrehungen) wurde die überstehende Flüssigkeit abgegossen. Mit dem Bodensatz konnten je 2 Nährbodenröhrchen ausreichend beimpft werden. (Die starke Stureverdünung - 1,5%ige HCl - wurde gewählt, um die Tuberkelbakterien möglichst zu schonen, aber doch etwaige Verunreinigungen auszuschalten.)

d) Schlussversuch: Um das für das Eintreten der Reaktion bzw. des Farbumschlags notwendige üppige Wachstum auch mit Sicherheit zu gewährleisten, wurde auf dem Bromkresolpurpur-Nährboden jeweils Material von 2 Kulturröhrchen jedes zu prüfenden Stammes ohne Vorbehandlung aufgetragen.

Der Verschluss der Nährbodenröhrchen mit Watte- und Gummistopfen, der sich seit 1948 in der Anstalt bestens bewährt hat, wurde beibehalten. Bebrütet wurde im Brutraum bei einer Temperatur von 37° C.

Die Beobachtung der Kulturröhrchen erfolgte bis zum ersten Sichtbarwerden von Kolonien jeden Tag. Die übrigen Kontrollen fanden am 12., 19., 20., 42., 56. und 64. Tag nach der Beimpfung statt. Die letzte Kontrolle mit Differenzierung und Schlussfolgerung ist abhängig von der Entwicklung der Kulturen. Dies war in meinen Versuchen durchwegs schon am 42. Tag der Beobachtungzeit der Fall. Sicherheitshalber wurde noch bis zum 64. Tag weiter beobachtet. Das Erstwachstum wurde mit der Lupe unter der Tageslicht-Leuchtstofflampe festgestellt, die hier stets zum Ablesen der Kulturen benutzt wird.

IV. Die verwendeten Tuberkelbakterienstämme.

Die von mir benutzten 100 Tuberkelbakterienstämme wurden dem laufend anfallenden Einsendematerial der Anstalt entnommen, so dass diese nie älter als 8 Wochen sein konnten. Das Ausgangsmaterial zu den Stämmen war bereits mikroskopisch positiv gewesen und stammte durchwegs vom Rind. Eine

- 22 -

Typondifferenzierung war nicht vorhergegangen. Der Mutternährboden dieser erstgezüchteten Tuberkelbakterienstäme war der Nährboden nach Petragnanil ohne Glycerin (Po). Dem Ausgangsmaterial nach waren sie gewonnen aus:

Uterusssekret:	30 Stämme
Lungenschleim:	35 "
Milch:	35 "

Zur Kontrolle kamen 25 bereits differenzierte Tuberkelbakterienstäme zur Verwendung, und zwar:

Typus bovinus:	5 Stämme,
Typus humanus:	12 " *)
Typus gallinaceus:	6 "

*) Für die freundliche Überlassung von 10 Stämmen des Typus humanus sei hier der Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungsanstalt München bestens gedankt.

- 23 -

D. Eigene Untersuchungen.

1.) Vorversuch.

Um einen Überblick zu gewinnen, wie die von mir gewählten 5 Nährböden sich im Koloniebild gegenüber den einzelnen Typen des Tuberkelbakteriums verhalten, wurden zunächst nur typenbekannte Tuberkelbakterienstämme nach den auf S. 20 beschriebenen zwei Methoden angezüchtet. Es waren dies 7 Stämme, und zwar 5 vom Typus bovinus, 1 vom Typus humanus und 1 vom Typus gallinaceus. Somit wurden insgesamt 70 Kulturen angelegt.

Der Wachstumsbeurteilung legte ich das folgende, aus der Literatur zusammengestellte Schema zugrunde:

Typus humanus: Frühes, üppiges, hohes, trocken-krümeliges Wachstum.
 Typus bovinus: Spätes, spärliches, flaches, feuchtglänzendes Rasenwachstum.
 Typus gallinaceus: Sehr frühes, üppiges, schmierig-feuchtes Wachstum, oft in Form eines salbenartigen Belages.

In meinen Versuchen konnte ich zeitlich folgende Typenkulturbilder beobachten:

Typus humanus:

- Wachstumsbeginn: + = gelbliche Stippchen, einige kleinstecknadelkopfgrosse, gelbliche bis ockerfarbene, trockene Kolonien.
- Wachstumsmitte: ++ = zahlreiche, bis zu stecknadelkopfgrosse, isoliert liegende, gelbliche bis ockerfarbene, trockenkrümelige, erhabene Kolonien. Der Nährboden sieht wie mit Sand bestreut aus.
- Wachstumsende: +++ = sehr viele bis zu nagelkopfgrosse, gelbliche bis ockerfarbene, trocken-krümelige, zerklüftete, in die Höhe strebende Kolonien, die teilweise zu einem üppigen, trockenen Kulturbelag werden. (Die Kolonien sind strausenlebkuchenähnlich, warzen-, blumenkohl-, heuschaben- und urchschollenförmig.)

- 24 -

Typus bovinus:

- Wachstumsbeginn: + = viele weisse Stippchen; hauchdünnes, beginnendes Rasenwachstum.
- Wachstumsmitte: ++ = zarter, feuchtglänzender Rasen mit vielen weissen bis gelblich-weißen, feuchtglänzenden, glatten, halbkugelförmigen Kolonien, von denen wenige Stecknadelkopfgrösse erreichen.
- Wachstumsende: +++ = deutlicher, feuchtglänzender Kulturrasen mit sehr vielen Kolonien, die von weisser bis gelblich-weißer Farbe, feuchtglänzend, glatt und halbkugelförmig sind und mitunter überstecknadelkopfgrösse erreichen. Am Rande der Kulturbeläge bilden sich nicht selten kleine Tochter- bzw. Knopfkolonien, bei denen eine kleinere Kolonie einer breiteren Basis aufsitzt.

Typus gallinaceus:

- Wachstumsbeginn: + = dünner, feuchter, salbenartiger Belag, zum Teil feuchter Stippchenrasen.
- Wachstumsmitte: ++ = feuchtschmieriger, salbenartiger, gelblich-bräunlicher-grauer Belag mit bis zu überstecknadelkopfgrossen, unregelmässig geformten, feuchtschmierigen Erhebungen von der gleichen Farbe.
- Wachstumsende: +++ = üppiger, erhabener, feuchtschmieriger, salbenartiger, gelblich-bräunlich-grauer Belag mit bis zu nagelkopfgrossen, unregelmässig geformten Erhebungen von der gleichen Beschaffenheit.

Die folgende Tabelle soll die Kulturergebnisse des Vorversuchs am 42. Tag der Bebrütung wiedergeben.

Zeichenklärung:

- | | |
|--|---|
| B = typisches Wachstum eines bovinen Stammes | } in Verbindung mit +, ++, +++
siehe Seite 23/24 oben! |
| H = typisches Wachstum eines humanen Stammes | |
| G = typisches Wachstum eines Gallinaceus-Stammes | |

- 25 -

Ohne B, H, G bedeuten:
 + schwaches Wachstum, } das keine
 ++ mäßiger " } einwandfreie Typen-
 +++ starkes " } bestimmung gestattet.

Tabelle I

Stamm	Nr.	Po	Pm	PoS	Digo	Br
bovin.	16 a 322	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B
bovin.	165 a 111/4	+	++ B	+	+++ B	++ B
bovin.	165 a 1442/3	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B
bovin.	170 b 995	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B
bovin.	170 c 814/4	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B
human.	Washington. I					
	III	++	+++ H	++	+++ H	++
gallin.	II G 1279	++ G	+++ G	++ G	+++ G	++ G

Wachstumsbeginn (= erstes Sichtbarwerden von Kolonien)

Typus gallinaceus: 9.Tag nach der Beimpfung
 Typus humanus: 13.Tag " " "
 Typus bovinus: 15. bis 18.Tag " " "

Ergebnis des Vorversuchs.

Die Kulturen der 5 bovinen Stämme glichen im Verlauf ihres Wachstums und am Ende desselben den in der Literatur beschriebenen Koloniebildern. Darüber hinaus konnte ich feststellen, dass das intensivste Wachstum auf Digo und nach diesem auf Pm zutage trat. Entsprechend waren hier auch die Typenmerkmale am besten ausgeprägt, wie feuchtglänzender Rasen mit vielen kleinen, halbkugelförmigen, glatten und gelblich-weißen Kolonien.

Noch klarer traten die Wachstumsunterschiede zwischen den 5 Nährmedien bei den Stämmen des Typus humanus und gallinaceus auf.

Die Kolonien des Typus humanus erreichten auf Digo eine Grösse (nagelkopfgross) und Farbintensität (ocker) wie auf keinem anderen Nährboden. Mit etwas Abstand folgte Pm, auf dem die Kolonien kleiner mit weniger Pigment, doch trocken-krümelig immer noch dem Kulturbild des Typus humanus eindeutig entsprechen. Die übrigen 3 Nährsubstrate ließen ein mehr dysgonisches Wachstum mit mattheuchten, bleicherem Aussehen der wesentlich kleineren, mehr glatten Kolonien erkennen.

- 26 -

Neben der erwarteten schmierig-salbenartigen Beschaffenheit der Kultur des Typus gallinaceus fiel bei Digo deren ausgesprochen hellbraune Farbe auf, die auf den übrigen Nährböden mehr ins Ockergelbe ging. Insgesamt war auch hier das Wachstum etwas üppiger als auf Pa, jedoch auf beiden mit Abstand besser als auf den restlichen Nährmedien.

Die Malachitgrün-Einährböden (Po, Pa, PoS und Digo) zeigten von der 3. bis 4. Woche der Bebrütung an bei allen drei Typen eine zunehmende Gelbfärbung. Bei PoS erübrigte sich als Folge der Unterschichtung mit Sauten-Agar wie bei Digo ein Zusatz von Bouillon, da genügend Kondenswasser vorhanden war. Ansonsten ergab der PoS keinerlei Vorteile gegenüber dem gewöhnlichen Po.

Wohl infolge des nicht üppig genug erfolgten Wachstums, das durch die Anzüchtungsmethoden bedingt sein dürfte, blieb der beim Typus humanus erwartete Farbumschlag auf Br aus.

Insgesamt ergab der Vorversuch eine deutliche Überlegenheit von Digo und Pa gegenüber den drei anderen Substraten sowohl hinsichtlich der Stärke als auch der Typenunterschiede im Wachstum.

2.) Erster Hauptversuch.

Es galt nun, die Ergebnisse des Vorversuchs auf breiter Basis nachzukontrollieren. Dazu wurden auf den gleichen 5 Nährmedien 60 Tuberkelbakterienstämme unbekannter Typs (vom Rind) aus dem laufenden Einwandmaterial der Anstalt mit 23 typenbekannten Kontrollstämmen (siehe S. 22) in Vergleich gesetzt. Angezüchtet wurden insgesamt 415 Nährbodenröhrchen nach der auf Seite 21 beschriebenen Technik.

Da die Kulturbilder nach dem 42. Tage der Bebrütung in keinem Falle ausgeprägter wurden, erfolgte die Auswertung der Versuchsergebnisse an diesem Tage. Doren Einzelheiten sind aus der folgenden Tabelle II ersichtlich.

Die Zeichenerklärung der Tabelle I des Vorversuchs gilt hier analog. In der Spalte "Farbumschlag" bei Br. bedeuten:

- + = deutlicher, grünlich-gelber Farbumschlag
- ? = schwache Spur einer Verfärbung
- = kein Farbumschlag (der Nährboden behält seine stahlblaue Farbe unverändert bei).

Tabelle II.

Stamm	Po	Pm	PoS	Digo	Br	
					Kultur- bild	Farbum- schlag
16 a 58/2	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
119	↔	↔ B	↔	↔ B	↔ B	-
128/1	+	↔ B	+	↔ B	↔ B	-
128/2	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
162	↔ B	↔ B	+	↔ B	↔ B	-
181	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
218	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
240/1	+	↔ B	+	↔ B	↔ B	-
277	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
292	+	↔ B	+	↔ B	↔	-
296	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	+	-
320	↔	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
165 a 72	↔	↔ B	↔ B	↔ B	↔	-
287/2	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔	-
294/3	+	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
308	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
324/1	↔	↔ H	↔	↔ B	↔ B	-
343/1	↔	↔ C	↔	↔ H	↔	-
426	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
452	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
487/4	↔	↔ B	+	↔ B	↔ B	-
512	↔ B	↔ B	↔	↔ B	↔ B	-
516	↔	↔ B	↔	↔ B	↔ B	-
522	33 B	333 B	↔	↔ B	↔ B	-
592	↔ B	↔ B	↔	↔ B	↔ B	-
647/2	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
688	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
721/2	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
765	↔ B	↔ B	↔	↔ B	↔	-
1897/1	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
1963/2	↔ B	↔ B	+	↔ B	+	-
165 b 106/2	↔	↔ B	↔ B	↔ B	↔ B	-
165 c 171/4	↔ B	↔ B	+	↔ B	↔ B	-

Tabelle II (Forts.)

Stamm	Po	Pm	PoS	Digo	Br	
					Kultur- bild	Farbum- schlag
170 a 438/19	+++ B	+++ B	++ B	+++ C	++ B	-
1503/13	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
170 b 160/13	++	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
260/6	++ B	+++ B	+	+++ B	+++ B	-
462	++	+++ B	+	+++ B	++ B	-
574	++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-
669/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
798	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	↓
170 c 158/3	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
184/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	↓
252/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
252/3	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-
355	++ B	+++ B	+	+++ B	++ B	-
400	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
429/1	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
517/4	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
557/1	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
592/1	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
592/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
649/2	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
678/1	++	+++ B	++ B	+++ B	+	-
679	++	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
682/2	+++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
686/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
702/1	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
839/3	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
962	++ B	++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
Kontrollstämme:						
bov.16a 322	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
bov.165a 111/4	++ B	+++ B	+	+++ B	++ B	-
bov.165a 1442/3	++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
bov.170 b 995	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	↓
bov.170c 814/4	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	++ B	-

Tabelle II.

Stamm	Fo	Pa	PoS	Digo	Br	
					Kultur- bild	Farbum- schlag
16 a 58/2	++ B	++ B	++ B	+++ B	++ B	-
119	++	+++ B	++	+++ B	++ B	-
128/1	+	+++ B	+	+++ B	++ B	-
128/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
162	++ B	+++ B	+	+++ B	++ B	-
181	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-
218	++ B	++ B	+	+++ B	+++ B	-
240/1	+	+++ B	+	+++ B	++ B	-
277	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++	-
292	+	++ B	+	++ B	+	-
298	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
320	++	+++ B	++ B	+++ B	++	-
165 a 72	++	+++ B	++	+++ B	++	-
287/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
294/3	+	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
308	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
324/1	++	+++ H	++	+++ H	++	-
343/1	++	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
426	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
452	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
457/4	++	+++ B	+	+++ B	++ B	-
512	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
516	++	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
522	33 B	333 B	++	+++ B	++ B	-
592	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
647/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
688	++ B	+++ B	+++ B	+++ B	++ B	-
721/2	+++ B	+++ B	++	+++ B	++	-
765	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	++ B	-
1897/1	+++ B	+++ B	+	+++ B	+	-
1963/2	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-
165 b 106/2	++	+++ B	++	+++ B	++ B	-
165 c 171/4	++ B	+++ B	+	+++ B	++ B	-

Tabelle II (Forta.)

Stamm	Pa	Pa	PoS	Digo	3r	
					Kultur- bild	Farbum- schlag
170 a 438/19	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
1503/13	++ B	+++ A	++ B	+++ B	++ B	-
170 b 160/13	++	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
260/6	++ B	+++ B	+	+++ B	+++ B	-
462	++	+++ B	+	+++ B	++ B	-
574	++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-
669/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
798	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	↓
170 c 158/3	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
184/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	↓
252/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
252/3	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-
355	++ B	+++ B	+	+++ B	++ B	-
400	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
429/1	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
517/4	++ B	+++ B	++	+++ B	+++ B	-
557/1	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
592/1	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
592/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
649/2	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
678/1	++	+++ B	++ B	+++ B	+	-
679	++	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
682/2	+++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
686/2	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
702/1	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
839/3	+++ B	+++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
962	++ B	++ B	++ B	+++ B	+++ B	-
Kontrollstämme:						
bov.16a 322	++ B	+++ B	++	+++ B	++ B	-
bov.165a 111/4	++ B	+++ B	+	+++ B	++ B	-
bov.165a 1442/3	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	-
bov.170 b 995	++ B	+++ B	++ B	+++ B	++ B	↓
bov.170c 814/4	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	+++ B	-

- 30 -

wies danach einwandfrei die Kulturmerkmale des Typus humanus auf.

Dieser Stamm war aus Milch eines schon klinisch kranken Euters herangezüchtet worden. Auch das makroskopische Aussehen der Milch und erst recht deren mikropathologische Zellbild entsprachen dem klinischen Befund. Es handelte sich also nicht um eine bloße Verunreinigung der Milch mit Tuberkelbakterien, wie dies S a x e r (75) in der Konsummilch feststellen konnte.

Die Brauchbarkeit der einzelnen Nährböden dürfte am besten die Tabelle III veranschaulichen.

Tabelle III

Wachstum	Intensität	Po		Pm		PoS		Digo		Br	
		St.	%	St.	%	St.	%	St.	%	St.	%
typisch	↔	36	34,37	4	4,82	33	39,76	1	1,20	39	46,99
	↔↔	19	22,89	79	95,18	9	10,84	82	98,80	23	27,71
	insges.	55	66,27	83	100,0	42	50,60	83	100,0	62	74,70
atypisch	+	7	8,43	-	-	17	20,48	-	-	6	7,23
	↔	21	25,30	-	-	24	28,92	-	-	14	16,87
	↔↔	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1,20
	insges.	28	33,73	-	-	41	49,40	-	-	21	25,30

- Zeichenerklärung: St. = Stämme; ansonsten siehe S.24/25.

Vorstehende Zusammenstellung zeigt, dass vor allem Digo, aber auch noch Pm 100%ig eine kulturelle Typenbestimmung boviner und humaner Tuberkelbakterien zulassen, dass dies jedoch auf den übrigen Nährmedien in der Reihenfolge Br - Po - PoS immer weniger möglich ist. So zeigen auf den letzteren besonders die humanen Stämme ohne Ausnahme ein atypisches Wachstum in Form mattfeuchter, bleicher Kolonien. Die Typenabweichungen boviner Tuberkelbakterienstämme kommen darin zum Ausdruck, dass deren dünne Kulturbuläge keine charakteristischen Koloniebildungen erkennen lassen.

Der Typus gallinaceus dagegen ist auf Grund seiner Wachstumseigenheiten (feuchtschmierig, galbenartige, ockerfarbene bis hellbraune Kulturbuläge) auf allen Nährböden einwandfrei als solcher zu erkennen.

- 29 -

Tabelle II (Forts.)

Stamm	Po	Pa	PoS	Digo	Br	
					Kultur- bild	Farbum- schlag
hum.Washington 3	++	+++ H	+	+++ H	++	-
hum.Gulden	++	+++ H	++	+++ H	+	-
hum.B 8953	+	+++ H	+	+++ H	++	-
Hum.9 11768	++	+++ H	++	+++ H	++	?
hum.So 5978	+	+++ H	++	+++ H	++	?
hum.So 6015	++	+++ H	+	+++ H	++	-
hum.So 6066	++	+++ H	++	+++ H	+++	?
hum.So 6512	+	+++ H	++	+++ H	+	-
hum.So 6513	++	+++ H	++	+++ H	++	?
hum.So 7004	++	+++ H	++	+++ H	++	-
hum.So 7891	++	+++ H	+	+++ H	++	?
hum.So 8716	++	+++ H	+	+++ H	+	-
gall.II G 1279	++ G	+++ G	++ G	+++ G	++ G	-
gall.II G 1405	++ G	+++ G	+++ G	+++ G	++ G	-
gall.II G 1480	+++ G	+++ G	++ G	+++ G	++ G	-
gall.II G 1536	++ G	+++ G	++ G	+++ G	+++ G	-
gall.II G 1540	+++ G	+++ G	++ G	+++ G	++ G	-
gall.II G 1567	+++ G	+++ G	+++ G	+++ G	++ G	-

Ergebnis des ersten Hauptversuches.

Die im Vorversuch gesehenen Wachstumsstadien kehrten auch hier im Laufe der Beobachtungszeit wieder. Jedoch mehr als in diesem fiel auf, dass teilweise das Wachstum im Anfangs- oder Zwischenstadium stehengeblieben zu sein schien. Dies war im Gegensatz zu den übrigen Nährböden auf Digo nur einmal und auf Pa viermal der Fall. Auch sonst hoben sich diese beiden Nährmedien durch das gute Wachstum und das klassische Kulturbild nicht nur bei den auf ihnen gewachsenen 23 Kontrollstämmen, sondern auch bei den 60 zu identifizierenden Versuchstämmen deutlich ab.

Die klaren Typenunterschiede auf Digo und auch noch auf Pa liessen von den 60 zu bestimmenden Tuberkelbakterienstämmen im Vergleich mit den Kontrollen 59 als zum *Typus bovinus* gehörig einreihen. Nur 1 Stamm (165 a 324/1)

- 31 -

Zusätzlich zu den bereits beschriebenen Vorteilen des Digo trat nun noch die Beobachtung, dass die ganze Oberfläche des Substrats bewachsen und nicht im geringsten eingetrocknet war. Dies dürfte nicht nur auf der Unterschichtung mit Sauton-Agar, sondern auch auf dem durch seine Herstellungsweise bedingten höheren Feuchtigkeitsgehalt beruhen. Im anderen Falle hätten beginnende Eintrocknungserscheinungen nicht auch bei PoS auftreten dürfen, dem gleichfalls Sauton-Agar als Unterlage dient.

Hinsichtlich des Wachstumsbeginns verhielten sich die 5 Nährmedien ziemlich gleich, nicht aber die einzelnen Typen, wie aus der Tabelle IV hervorgeht.

Tabelle IV.

Typus	Wachstumsbeginn (nach Tagen)		
	frühester	spätester	durchschnittlicher
bovinus	13	20	15 - 18
humanus	10	16	13 - 14
gallinaceus	8	13	10 - 11

Wenn auch diese Unterschiede keinesfalls so prägnant sind, dass sie zu einer Differenzierung verwertet werden könnten, so bestehen trotzdem etwas konstante zeitliche Abweichungen im ersten Sichtbarwerden der Kolonien.

Wenn das Phänomen des Farbumschlages beim Typus humanus auf Br eindeutig erkennbar gewesen wäre, würde dieser Nährboden in Verbindung mit Digo das sicherste Differenzierungsmittel zwischen Typus bovinus und humanus darstellen. Es trat aber lediglich bei 5 der 12 humanen Kontrollstämmen eine Spur von grünlich-gelber Verfärbung des Br auf, die nicht genügend diagnostische Sicherheit bot. Da es also nicht gelang, auf dem üblichen Wege der Anzüchtung ein derart massives Wachstum auf Br zu erzielen, wie dies nach einer vom Autor freundlicherweise überlassenen Musterkultur zum Hervorrufen des Farbumschlages notwendig sein müsste, wurden die folgenden Versuche nach den Gesichtspunkten "Kulturbild - Farbumschlag" getrennt.

- 32 -

3.) Zweiter Hauptversuch.

Die weitaus besseren Ergebnisse mit Digo und auch Pa in den bisherigen Versuchen legten zwangsläufig den Gedanken einer erweiterten Nachprüfung nahe. Deshalb wurden, ausser den 63 Stämmen des ersten Hauptversuches noch 40 neue, typenunbekannte Tuberkelbakterienstämme beigezogen. Die drei weniger guten Nährmedien (Po, PoS, Br) kamen nicht mehr in Vergleich. Durch das Weglassen des säureempfindlichen Br konnte als Vorbeugungs-massnahme gegen allenfallige Verunreinigungen nunmehr mit Salzsäure vorbehandelt werden (siehe S.21).

Die Schlusserwertung der Wachstumbilder in den 246 Kulturrohren wurde gleichfalls am 42. Tage nach der Beimpfung vorgenommen, da auch hier die weitere Beobachtung keine besseren Ergebnisse mehr gezeitigt hatte. Eine ins Einzelne gehende Übersicht der Versuchsergebnisse zeigt die folgende Tabelle V.

T a b e l l e V.

Zeichenerklärung siehe S.24/25!

Stamm	Pa	Digo
16 a 58/2	+++ B	+++ B
74	++ B	++ B
84/3	+++ B	+++ B
119	+++ B	+++ B
128/1	+++ B	+++ B
128/2	+++ B	+++ B
162	+++ B	+++ B
181	+++ B	+++ B
218	++ B	+++ B
240/1	+++ B	+++ B
277	+++ B	+++ B
292	++ B	++ B
298	+++ B	+++ B
320	+++ B	+++ B
325	+++ B	+++ B
531/2	+++ B	+++ B

Tabella V (Forta.)

Stamm	Pa	Digo
163 a 72	+++ B	+++ B
287/2	+++ B	+++ B
294/3	+++ B	+++ B
299	+++ B	+++ B
308	+++ B	+++ B
324/1	+++ B	+++ B
330	+++ H	+++ H
343/1	+++ B	+++ B
345	+++ B	+++ B
346	+++ B	+++ B
349/3	+++ B	+++ B
426	+++ B	+++ B
452	+++ B	+++ B
457/4	+++ B	+++ B
491/1	+++ B	+++ B
503	+++ B	+++ B
507	+++ B	+++ B
512	+++ B	+++ B
513	+++ B	+++ B
516	+++ B	+++ B
522	+++ B	+++ B
528	+++ B	+++ B
538/2	+++ B	+++ B
545/2	+++ B	+++ B
545/3	+++ B	+++ B
551	+++ B	+++ B
564	+++ B	+++ B
570/1	+++ B	+++ B
588	+++ B	+++ B
592	+++ B	+++ B
647/2	+++ B	+++ B
688	+++ B	+++ B
721/2	+++ B	+++ B
765	+++ B	+++ B
1097/1	+++ B	+++ B
1963/2	+++ B	+++ B

- 34 -

Tabelle V (Forts.)

Stamm	Pa	Digo
165 b 106/2	+++ B	+++ B
165 c 171/4	++ B	+++ B
170 a 438/19	+++ B	+++ B
1503/13	+++ B	+++ B
170 b 160/13	+++ B	+++ B
260/6	+++ B	+++ B
331/14	+++ B	+++ B
462	++ B	+++ B
574	+++ B	+++ B
669/2	+++ B	+++ B
798	+++ B	+++ B
170 a 93/2	+++ B	+++ B
158/3	+++ B	+++ B
163/1	+++ B	+++ B
163/3	+++ B	+++ B
164/3	+++ B	+++ B
165/1	+++ B	+++ B
167/5	+++ B	+++ B
169/2	++ B	+++ B
181	+++ B	+++ B
184/4	+++ B	+++ B
189/6	+++ B	+++ B
192/2	+++ B	+++ B
193	+++ B	+++ B
195/1	+++ B	+++ B
195/2	+++ B	+++ B
195/2	+++ B	+++ B
196/2	+++ B	+++ B
197/1	+++ B	+++ B
198	+++ B	+++ B
207/16	+++ B	+++ B
207/18	+++ B	+++ B
252/2	+++ B	+++ B
252/3	+++ B	+++ B
355	+++ B	+++ B
400	++ B	+++ B

- 35 -

Tabelle v (Forts.)

Stamm	Pa	Digo
170 c 429/1	+++ B	+++ B
517/4	+++ B	+++ B
557/1	+++ B	+++ B
592/1	+++ B	+++ B
592/2	+++ B	+++ B
649/2	+++ B	+++ B
678/1	+++ B	+++ B
679	+++ B	+++ B
682/2	+++ B	+++ B
686/2	+++ B	+++ B
702/1	+++ B	+++ B
839/3	+++ B	+++ B
962	+++ B	+++ B
<u>Kontrollstamm</u>		
bov. 16 a 322	+++ B	+++ B
bov. 165 a 111/4	+++ B	+++ B
bov. 165 a 1442/3	+++ B	+++ B
bov. 170 b 995	+++ B	+++ B
bov. 170 b 814/4	+++ B	+++ B
hum. Washington 3	+++ H	+++ H
hum. Gulden	+++ H	+++ H
hum. B 8953	+++ H	+++ H
hum. B 11768	+++ H	+++ H
hum. So 5978	+++ H	+++ H
hum. So 6015	+++ H	+++ H
hum. So 6066	+++ H	+++ H
hum. So 6612	+++ H	+++ H
hum. So 6513	+++ H	+++ H
hum. So 7004	+++ H	+++ H
hum. So 7891	+++ H	+++ H
hum. So 8716	+++ H	+++ H
gall. II G 1279	+++ G	+++ G
gall. II G 1406	+++ G	+++ G
gall. II G 1480	+++ G	+++ G
gall. II G 1536	+++ G	+++ G
gall. II G 1540	+++ G	+++ G
gall. II G 1567	+++ G	+++ G

- 36 -

Ergebnis des zweiten Hauptversuchs.

Die bisher beobachteten Vorzüge beider Nährmedien blieben konstant. In keinem Falle wies auch nur eine Kultur undeutliche Typenmerkmale auf. Zudem stimmten Digo und Pm in ihrem Koloniebild je Stamm (einschliesslich aller Kontrollen) stets überein. Die Überlegenheit von Digo bei der Differenzierung humaner Stämme trat ebenfalls wieder hervor. In zwei Fällen liessen die Kulturen des Typus gallinaceus auf Digo eine Bildung ringförmiger, wallähnlicher, runder oder ovaler Kolonien erkennen, die für den Geflügeltyp charakteristisch sein sollen, wie dies vor allem M e y n (55) immer wieder betont.

Das Wachstum war durchwegs als Uppig (↔↔) zu bezeichnen. Eine Ausnahme hiervon stellten 9 (7,32%) bovine Stämme dar, die auf Pm nur mässig bis gut (↔) wuchsen. Die Güte von Digo wurde auch hierbei augenscheinlich, da auf diesem nur 2 (1,62%) der 9 angeführten bovinen Stämme ein gleich schlechtes (↔) Wachstum wie auf Pm erreichten. Alle Kontrollstämme waren dagegen Uppig (↔↔) und typisch angegangen.

Die Kulturen des Typus bovinus entwickelten sich in den ersten 3 bis 4 Wochen besser und deutlicher auf Pm. Dann aber wuchsen diese auf Digo so gut nach, dass sie gegen Wachstumsende (42.Tag) die Kulturen auf Pm hinsichtlich ihrer Stärke und damit auch ihres Koloniebildes erreichte und sogar übertrafen hatten. Beim Typus humanus erfolgte die Entwicklung der Kolonien von Anfang an auf Digo rascher und prägnanter als auf Pm. Der Typus gallinaceus zeigte auf beiden Nährmedien gleichmässig das für ihn charakteristische rasche und typische Wachstum. Für das erste Sichtbarwerden der Kolonien (Wachstumsbeginn) gilt das beim ersten Hauptversuch (S.31) Gesagte.

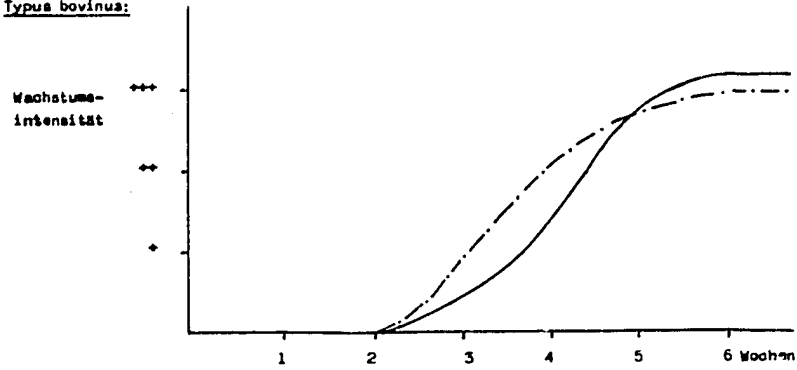
Alle diese Besonderheiten der drei Typen sollen die folgenden Kurven klarer zum Ausdruck bringen (S.36a).

Auf Grund dieser vergleichenden Typenstudien waren von den nunmehr 100 geprüften Stämmen 99 eindeutig dem Typus bovinus zuzurechnen. Der Stamm 165 a 324/1 wies erneut die ausgesprochenen Wachstumsmerkmale des Typus humanus auf.

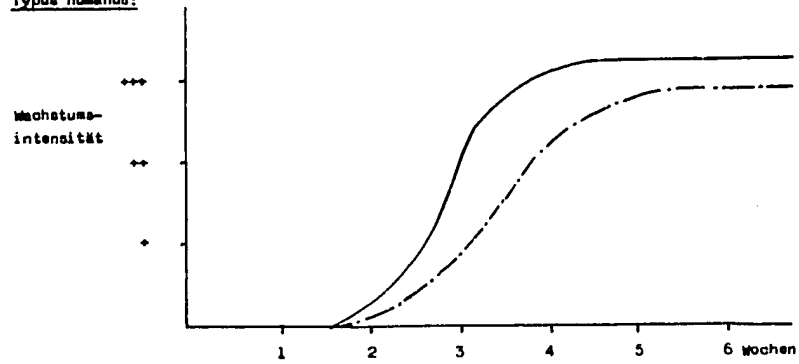
Zusammenfassend ergab der zweite Hauptversuch, dass Digo und Pm eine einwandfreie kulturelle Typendifferenzierung in der ersten und zweiten Subkultur zulassen. Dabei überragte Digo beim Typus humanus und gegen Ende auch beim Typus bovinus den Pm. Die Kulturen des Typus gallinaceus auf Digo stachen durch ihre Pigmentbildung (hellbraun) und zum Teil durch die Entwicklung von Ringkolonien von den auf Pm gewachsenen ab. Ein Unterschied in

Wachstumskurven der drei Typen auf Digo und Pa.

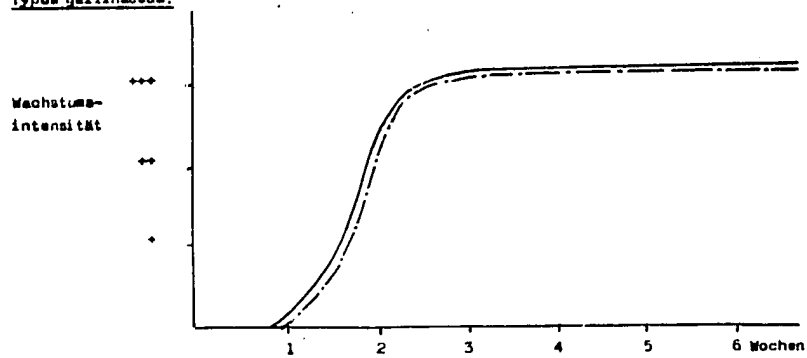
Typus bovinus:



Typus humanus:



Typus gallinaceus:



Zeichenerklärung:

— Digo
- - - Pa

- 37 -

Wachstumabild und -stärke zwischen der ersten und zweiten Subkultur konnte nicht beobachtet werden.

4.) Schlussversuch.

Nach meinen bisherigen Versuchsergebnissen ist eine kulturelle Typendifferenzierung eindeutig möglich. Die Beobachtungen von S a x e r (76) zeigen jedoch, dass mitigierte (virulenzschwache) bovine Tuberkelbakterien-attäre ein dem Typus humanus ähnliches Wachstum aufweisen können. Da er diese Feststellung auch auf Grund der Reaktion auf den Bromkresolpurpurnährböden treffen konnte, durfte ich eine Überprüfung meiner kulturellen Gesamtergebnisse mittels dieser Methode nicht unterlassen.

Die Ursache der früheren Fehlschlüsse mit dem Bromkresolpurpur-Differenzierungssubstrat dürfte lediglich in der ungeeigneten Anzüchtung zu suchen sein (siehe auch S.31!).

Es wurden daher die 117 Stämme bovinen und humanen Typs nach der auf S.21 beschriebenen Art und Weise angezüchtet. Die 6 Stämme des Typus gallinaceus schieden von vornherein aus, da Br nur zur Typentrennung der Säugetiertuberkelbakterien dient.

Nachdem W a g e n e r und M i t a c h e r l i c h (88) den diagnostischen Farbumschlag auf ihrem Spezialnährboden (Br) erst nach einer Bebrütungszeit von 4 bis 8 Wochen auftreten sahen, konnten in diesem Versuch die Endergebnisse auch nicht früher abgelesen werden. Kulturbild und Reaktion (Farbumschlag) eines jeden einzelnen Stammes bei der Schlusskontrolle enthält die Tabelle VI. Dabei gibt die Zahl hinter dem positiven Zeichen (+) für den Farbumschlag die Woche nach der Beimpfung an, in der dieser erstmals festgestellt worden war. Im Übrigen gilt die frühere Zeichenerklärung (S.24/25!).

T a b e l l e VI.

Stamm	Kulturbild	Farbumschlag
16a 58/2	+++ B	-
74	++ B	-
84/3	+++ B	-
119	+++ B	-
128/1	+++ B	-
128/2	+++ B	-

- 38 -

Tabelle VI (Forts.)

Stamm	Kulturbild	Farbenschlag
16a 162	+++ B	-
181	+++ B	-
218	+++ B	-
240/1	+++ B	-
277	+++ B	-
292	+++ B	-
298	+++ B	-
320	++ B	-
325	+++ B	-
531/2	+++ B	-
165a 72	+++ B	-
287/2	+++ B	-
294/3	+++ B	-
299	+++ B	-
308	+++ B	-
324/1	+++ H	+ 6
330	+++ B	-
343/1	+++ B	-
345	+++ B	-
346	+++ B	-
349/3	+++ B	-
426	+++ B	-
452	+++ B	-
457/4	+++ B	-
491/1	+++ B	-
503	+++ B	-
507	+++ B	-
512	+++ B	-
513	+++ B	-
516	+++ B	-
522	+++ B	-
528	++ B	-
538/2	+++ B	-
545/2	++ B	-
545/3	+++ B	-

- 39 -

Tabelle VI (Forts.)

Stamm	Kulturbild	Farbumschlag
165 a 551	+++ B	-
564	+++ B	-
570/1	+++ B	-
588	++ B	-
592	++ B	-
647/2	+++ B	-
688	++ B	-
721/2	++ B	-
765	+++ B	-
1897/1	+++ B	-
1963/2	+++ B	-
165 b 106/2	+++ B	-
165 c 171/4	+++ B	-
170 a 438/19	++ B	-
1503/13	+++ B	-
170 b 160/13	+++ B	-
260/6	+++ B	-
331/14	+++ B	-
462	+++ B	-
574	+++ B	-
669/2	+++ B	-
798	++ B	-
170 c 93/2	++ B	-
158/3	+++ B	-
163/1	+++ B	-
163/3	+++ B	-
164/3	+++ B	-
165/1	+++ B	-
167/5	+++ B	-
169/2	+++ B	-
181	+++ B	-
184/4	+++ B	-
189/6	+++ B	-
192/2	+++ B	-
193	+++ B	-

Tabelle VI (Forta.)

Stamm	Kulturbild	Farbumschlag
170 6 195/1	+++ B	-
195/2	+++ B	-
196/2	+++ B	-
197/1	+++ B	-
198	+++ B	-
207/16	+++ B	-
207/18	+++ B	-
252/2	+++ B	-
252/3	+++ B	-
345	+++ B	-
400	+++ B	-
429/1	+++ B	-
517/4	++ B	-
557/1	+++ B	-
592/1	++ B	-
592/2	+++ B	-
649/2	+++ B	-
678/1	+++ B	-
679	+++ B	-
682/2	+++ B	-
686/2	+++ B	-
702/1	++ B	-
839/3	++ B	-
962	+++ B	-
<u>Kontrollstämme</u>		
bov. 16 a 322	+++ B	-
bov. 165 a 111/4	+++ B	-
bov. 165 a 1442/3	+++ B	-
bov. 170 b 995	+++ B	-
bov. 170 c 814/4	+++ B	-
hum. Washington 3	+++ H	+ 6
hum. Gulden	+++ H	+ 6
hum. B 8953	+++ H	+ 4/2
hum. B 11768	+++ H	+ 6

--41--

Tabelle VI (Forts.)

Stamm	Kulturbild	Farbumschlag
hum. So 5978	+++ H	+ 7
hum. So 6015	+++ H	+ 5
hum. So 6066	+++ H	+ 6
hum. So 6512	+++ H	+ 6Y2
hum. So 6513	+++ H	+ 5Y2
hum. So 7004	+++ H	+ 6Y2
hum. So 7891	+++ H	+ 5
hum. So 8716	+++ H	+ 5Y2

Ergebnis des Schlussversuches.

Infolge der neuen Anzüchtungsweise stachen nunmehr die Wachstumsmerkmale der bovinen und der humanen Tuberkelbakterienstämme deutlich voneinander ab. Dem dysgonischen Wachstum des Typus bovinus (feuchtglänzender Kulturrasen mit den charakteristischen stecknadelkopfgrossen, feuchtglänzenden, halbkugelförmigen, bleichen Kolonien) stand das eugonische Wachstum bei sämtlichen humanen Kontrollstämmen und des schon kulturell im ersten Hauptversuch als human identifizierten Stamm 165 a 324/1 gegenüber (trockenkrümelige, erhabene, streusselkuchenähnliche, gelbliche, Übernagelkopfgrosse Kolonien, die zu einem ebenso beschaffenen, zerklüfteten, an der Röhrenwand osporklotternden Kulturbelag zusammenschossen).

Das sichtbare Wachstum war allgemein nach einer Beobachtungszeit von 6 Wochen abgeschlossen.

In keinem Falle war ein atypisches Wachstum zu beobachten und somit allein schon nach dem Kulturbild eine eindeutige Differenzierung aller Stämme möglich.

Aber auch das erwartete Phänomen des Farbumschlags trat auf. Bei den 13 Stämmen, die auf diesem Nährmedium schon die Wachstumsmerkmale des Typus humanus gezeigt hatten, war eine deutliche Gelb-grün-Färbung des Bromkresolpurpurnährbodens zu erkennen. Diese Reaktion erfolgte bei:

1 Stamm nach 4Y2 Wochen,
 2 Stämme " 5 "
 2 " " 5Y2 "
 5 " " 6 "
 2 " " 6Y2 "
 1 Stamm " 7 "

- 42 -

also durchschnittlich nach 5,8 Wochen. Bei den 104 bovinen Stämmen dagegen konnte auch nicht eine Spur von Verfärbung festgestellt werden; der Nährboden hatte seine atahblaue Farbe konstant beibehalten.

Das Ergebnis des Schlussversuches lässt sich dahingehend zusammenfassen, dass sowohl hinsichtlich Wachstum als auch Farbumschlag der Bromkresolpurpurnährboden bei entsprechend reichlicher Anzüchtung eine eindeutige zweifache Typendifferenzierung zwischen humanen und bovinen Tuberkelbakterien gleichzeitig auf ein und denselben Nährboden gestattet.

- 43 -

E. Besprechung der Ergebnisse.

Sinn und Zweck meiner Arbeit war es, neue Nährmedien zur kulturellen Typendifferenzierung von Tuberkelbakterien auf ihre Brauchbarkeit für die praktische Tuberkulosediagnostik hin zu prüfen, zumal das Tierexperiment sehr kostspielig ist und nach der Literatur (G e r b e r t , 20; B e l l e r , 3,4,5; M i t a c h e r l i c h , 61 u.a.) auch nicht immer eindeutig verläuft. Dabei ging ich von den Erfahrungen W o l t e r s ' und D e h m o l s (97) und der nachfolgenden Autoren bei der Typenunterscheidung auf Petragnani-Nährböden aus und behielt diese in meinen ersten und zum Teil auch in meinen weiteren Versuchen als Vergleich bei.

Die schon von W o l t e r s und D e h m o l (98) mitgeteilte Tatsache, dass für die Subkultur und für die Typentrennung nur glyzerinhaltige Substrate geeignet sind, konnte auch ich bestätigen. Auf dem glyzerinfreien Nährmedium nach Petragnani war meist nur mässiges, typenspezifisches Wachstum zu erzielen (Tabellen I und II). Daran änderte auch eine Unterschichtung mit Sauton-Agar nichts, die schon G o t t a c k e r (23) versucht hatte. Für die diagnostische Ersatzzüchtung boviner Tuberkelbakterien aber eignet sich nach wie vor der glyzerinfreie Petragnani-Nährboden am besten.

Die neuentwickelten Substrate von Gottaacker und von Wegener und Mitscherlich sind Modifikationen von Ein Nährböden mit Glycerinzusatz. Das Hauptmerkmal besteht bei ersterem im Gehalt von reinem Eigelb, bei letzterem im Zusatz von Bromkresolpurpur als Säureindikator.

Zu meinem Vorversuch hatte ich glyzerinfreie und glyzerinhaltige Nährböden beigezogen, um die Wuchsformen bekannter Tuberkelbakterienstämme aller drei Typen eingehend studieren zu können. Die hierbei gewonnenen Erkenntnisse verwertete ich dann in grösseren Versuchsreihen (erster und zweiter Hauptversuch) und konnte so auf dem Vergleichsweg die brauchbarsten Differenzierungsnährböden herausfinden. Dies waren die glyzerinhaltigen Substrate nach Petragnani und Gottaacker. Während sich schon auf dem ersteren die aus der Literatur bekannten Typenmerkmale deutlich erkennen liessen, traten diese auf dem letzteren noch viel prägnanter zutage.

Im einzelnen boten sich auf dem neuen Spezialnährboden nach Gottaacker folgende Bilder: Die Kulturen des Typus gallinaceus waren auffallend hellbraun pigmentiert und bildeten teilweise Ringkolonien, was W o l t e r s und D e h m o l (100), P a l l a s k e - E b e r (68), M e y n (55)

- 44 -

und *Colarieti* (10) als typenspezifisch ansehen. Auch die bovinen Stämme hatten sich gegen Wachstumsende stärker und dadurch typischer entwickelt als auf dem glyzerinhaltigen Petragrani-Nährboden. Noch wesentlich ausgeprägter war dies beim Typus *humanus* der Fall. Dessen trockenkrümelige Kolonien erreichten eine Grösse (nagelkopfgross) und Farbsättigung (ooker) wie bei weitem auf keinem anderen Nährboden. Obwohl in Wachstumsbeginn kein Unterschied gegenüber den anderen 4 Nährsubstraten festzustellen war, fand eine derart rasche Entwicklung statt, dass geradezu der Eindruck einer Selektivwirkung entstand, die das Nährmedium auf humane Stämme ausübt.

Weitere Vorzüge des Eigelbnährbodens nach Gottsacker waren einerseits die Kondenswasserbildung, die einen Bouillonzusatz überflüssig machte, und andererseits das Fehlen von Eintrocknungserscheinungen, wodurch sich die Anwachfläche vergrösserte.

Einer Verwendung des Gottsacker-Nährbodens zur Erstkultur, besonders im Masseneinsatz, steht seine kostspielige Herstellung (reines Eigelb) im Wege. Sie bleibt daher auf die Differenzierung von Tuberkelbakterien in Subkulturen beschränkt. Dass sich das Nährmedium dazu vortrefflich eignet, haben meine Versuche klar dargetan; denn die Tuberkelbakterientypen liessen sich sowohl

nach der Farbe (Typus *bovinus*: bleich, gelblich weiss,
Typus *humanus*: ooker,
Typus *gallinaeus*: hellbraun)

als auch

nach der Form der Kolonien

(Typus *bovinus*: klein, feuchtglänzend, halbkugelförmig, glatt,
Bildung eines feuchtglänzender Kulturrausens = dygonisch
Typus *humanus*: gross, trockenkrümelig, erhaben, zerklüftet, üppig = eugonisch
Typus *gallinaeus*: üppige, feuchtschmierige, salbenartige Boläge, später zum Teil Bildung von Ringkolonien = eugonisch)

sehr gut unterscheiden.

Das in der Literatur mitgeteilte Ineinanderübergehen der Kolonietypen bei fortgezüchteten bovinen und humanen Tuberkelbakterienstämmen (u.a. *Steiner*, 81; *Schön*, 77) konnte von mir weder in erster noch in zweiter Subkultur beobachtet werden. Es bedarf danach hierzu wohl mehrerer Kulturpassagen.

- 45 -

In meinem Schlussversuch konnte ich nun noch nachweisen, dass sich das zweite von mir verwendete neue Differenzierungs-Nährmedium, der Bromkresolpurpur-Nährboden, bei der Differenzierung humaner von bovinen Tuberkelbakterien ausgezeichnet bewährt. Voraussetzung ist eine ausreichende Beimpfung, was schon *Wagener* und *Mitschurlich* (88) besonders betonen. Dazu wurde je Nährbodenröhrchen Material von 1 bis 2 üppig gewachsenen Subkulturen verbraucht. Wenn auch in meinen Versuchen der Farbumschlag von stahlblau nach grünlich-gelb (beim Typus *humanus*) schon früher aufgetreten ist, so dürfte doch zu empfehlen sein, die von den Autoren geforderte Beobachtungszeit von 8 Wochen einzuhalten, um auch Spätfälle zu erfassen.

Vorteile des Bromkresolpurpur-Nährbodens sind seine einfache, rasche und preiswerte Herstellung ohne Bouillonzusatz. Unerreichbar aber ist sein zweifacher diagnostischer Vorteil: Er zeigt die typischen Kulturbilder (eugonisch oder dysgonisch) und zugleich den untrüglichen diagnostischen Farbumschlag beim Typus *humanus*.

Meine Versuchsergebnisse legen die Schlussfolgerung nahe, die beiden optimalen Nährmedien (das nach *Gottacker* und das nach *Wagener* u. *Mitschurlich*) kombiniert zu verwenden, um eine höchstmögliche Sicherheit der kulturellen Typendifferenzierung zu erreichen.

Überblickt man meine Differenzierungsergebnisse bei 100 typenunbekannten Tuberkelbakterienstämmen boviner Herkunft aus laufendem Einwandmaterial der Anstalt, so unterstreichen diese die obigen Ausführungen. In 99 Fällen entsprachen die Kulturbilder einwandfrei nur denen des Typus *bovinus*, während in einem Falle die Kulturmerkmale des Typus *humanus* eindeutig auftraten. Die Bestätigung dieser Ergebnisse auf dem Bromkresolpurpur-Nährboden sowohl hinsichtlich des Koloniebildes als auch durch den für den Typus *humanus* charakteristischen Farbumschlag war rascher, billiger und eindeutiger gelungen als mit einem Tierversuch, bei dem mit grossen Virulenzschwankungen und interkurrenten Verlusten zu rechnen ist (*Gerbert*, 20; *Buller*, 5; und *Saxer*, 76). Diesen Rückschluss erlaubt auch die Arbeit von *Mitschurlich* (61). Ein Farbumschlag auf dem Bromkresolpurpur-Nährboden bei bovinen Stämmen, wie ihn *Saxer* (76) in drei Fällen sehen konnte, war in meinen Versuchen nach 8wöchiger Brutzeit nicht aufgetreten. Möglicherweise hängt dies damit zusammen, dass ich nur erste und zweite Subkulturen verwendet habe.

Die Beobachtungen von *Saxer* (75) wie auch die Erfahrungen der Anstalt zwingen stets zur Vorsicht beim Fund von Tuberkelbakterien in der

- 45 -

Milch; denn nur bei Vorhandensein des dazugehörigen mikropathologischen Zellbildes kann mit Sicherheit gesagt werden, dass die Erreger auch tatsächlich der Milchquelle entstammen. Diese Voraussetzung war im vorliegenden Falle des ermittelten humanen Tuberkuloseerregers beim Rind sowohl nach dem tuberkuloseverdächtigen mikroskopischen Zellbild der Milch als auch nach dem klinischen Befund einwandfrei gegeben.

Von derartigen Funden humaner Tuberkelbakterien bei Kühen haben besonders H i l l e r m a r k (34), V e r g e (85) und C h r i - a t i a n e n (8) berichtet. Mit der fortschreitenden Tilgung der bovinen Tuberkulose dürften ähnliche Fälle noch öfters zur Beobachtung kommen. Von Interesse ist in diesem Zusammenhang, dass in Ländern wie Dänemark und Finnland, in denen die Rindertuberkulose gelbacht ist, trotzdem die humane Tuberkulose-Versauhungskurve gleich hoch blieb. Neuinfektionen tuberkulosefreier Rinderbestände sind dort nur auf Bakterienausscheidung unter den Menschen zurückzuführen. Das Schlagwort "Rindertuberkulose - Kindertuberkulose" hat also auch umgekehrt Geltung.

Page Denied

Next 14 Page(s) In Document Denied

STAT

10

b)

**Eine Studie über die die Lebensmittelhygiene in Brasilien
betreffenden gesetzlichen Bestimmungen im Vergleich mit
der entsprechenden deutschen Gesetzgebung**

Heinz Königshöfer

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleißheim
Direktor: Dr. habil. Hans S c h e l l n e r
Vorgelegt vom
Institut für Nahrungsmittelkunde der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Komm. Vorstand: Professor Dr. H. S e d l m e i e r

Eine Studie über die die Lebensmittelhygiene in Brasilien
betreffenden gesetzlichen Bestimmungen im Vergleich mit
der entsprechenden deutschen Gesetzgebung

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität
München

Von
Hwinz Königshöfer
Tierarzt
aus
Stuttgart

München 1953

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. Dr. Johannes Brüggemann
Referent: Prof. Dr. Hans Sedlmeier

Tag der Promotion: 24. Juli 1953

UNI - Druck, München 13, Amalienstr. 85

<u>Inhaltsverzeichnis.</u>		<u>Seite</u>
A:	Abkürzungen	1
	Einleitung	2
B: I.	Verwaltungsmäßiges und Allgemeines	2
	1. Geltungsbereich	2
	2. Gegenstand	3
	3. Durchführung	4
	4. Verordnungen und Strafbestimmungen	5
	5. Kennzeichnung und Identifizierung	6
	II. Hygiene	6
III.	Begriffsbestimmungen für Produkte und Handelklassen sowie Mindestanforderungen bezüglich deren Herstellungswiese, Zusammensetzung und Beschaffenheit	8
	1. Fleisch, Fleischprodukte und Innereien	8
	2. Tierische und gemischte Fette, tierische Öle, Margarine usw.	9
	3. Fische, Fischereiausbeute, Fischereiprodukte	9
	4. Käse	9
	5. Eier	10
	6. Eikonserven	11
	7. Honig und Honigprodukte	11
	8. Andere eßbare Produkte	11
	9. Nicht eßbare Produkte	11
IV.	Milch und Milchprodukte	12
	1. Milch, allgemein	13
	a) Betriebe	13
	b) Registrierung und Erfassung	13
	c) Betriebspersonal	13
	d) Milchvieh	13
	e) Melkung	14
	f) Milch - Begriffsbestimmung	14
	g) Einzelmilch - Mischmilch	14
	h) Begriffsbestimmungen für Milchsorten	14
	i) Bearbeitungsverfahren	15
	j) Höchsttemperaturen der Milch	15
	k) Gefäße	15

	<u>Seite</u>
1) Transportvorschriften	16
a) Milchuntersuchung	16
n) Beanstandungen	17
o) Kennzeichnung	17
2. Vollmilch	17
3. Standardisierte Milch	18
4. Fettarme Milch	18
5. Magermilch	18
6. Rahm	19
7. Butter	20
8. Andere Milchprodukte	20
9. Kennzeichnung	21
V. Fleischbeschaugesetzliche Bestimmungen	21
1. Allgemeines	21
2. Lebendbeschau	24
3. Fleischbeschau	26
a) Bestimmungen zur Sicherung der ordnungsgemäßen Durchführung	26
b) Unterauchungsgang	26
c) Bakteriologische Fleischuntersuchung	28
d) pH-Untersuchung	28
e) Beurteilung	28
VI. Bestimmungen über Export und Import	35
1. Export	35
a) Verschärfte Anforderungen sanitärer und qualitativer Art	35
b) Verschärfte administrative Anforderungen	35
c) Zugeständnisse an die Gesetzgebung der Importländer	36
d) Eier - Exportbestimmungen	36
2. Import	37
C: Zusammenfassung	38
D: Schriftumsverzeichnis	39
Inhaltsgliederung der brasilianischen Vorschrift Lebenslauf	41

- 1 -

Abkürzungen.

B: Brasilianische Vorschrift für die industrielle und sanitäre Inspektion von Produkten tierischen Ursprungs, nach Dekret Nr. 30.691, vom 29. März 1952 (Diario Oficial, I, vom 7. Juli 1952).

D: Deutsche Gesetzgebung.
(Abkürzungen für einzelne deutsche Gesetze und Verordnungen sind am Anfang des jeweiligen Abschnittes erklärt.)

Zahlen in Klammern (), ohne Bezeichnung, beziehen sich stets auf die Artikel der brasilianischen Vorschrift.

Ämtliche brasilianische Abkürzungen:

- D.I.P.O.A. = Divisão de Inspeção de Produtos de Origem Animal (Abteilung für Inspektion von Produkten tierischen Ursprungs).
- D.D.S.A. = Divisão de Defesa Sanitaria Animal (Abteilung für Viehseuchenbekämpfung)
- D.N.P.A. = Departamento Nacional de Produção Animal (Bundesamt für animalische Produktion)
- I.R.P.O.A. = Inapetoria Regional de Produtos de Origem Animal (Regionale Dienststelle der "D.I.P.O.A.")
- S.I.F. = Serviço de Inspeção Federal (Bundesinspektionsdienst)

- 2 -

Einleitung.

Die gegenwärtige Entwicklung des Welthandels macht Studien über die sanitären und industriellen Lebensmittelvorschriften anderer Länder allenthalben notwendig. Nur genaue gegenseitige Kenntnis der gesetzlichen Bestimmungen ermöglicht eine erfolgreiche Zusammenarbeit der verantwortlichen Veterinärstellen auf internationaler Ebene, zum Wohle der Gesunderhaltung von Mensch und Tier und unter Vermeidung von sachlich nicht unbedingt erforderlichen Einschränkungen für Handel und Gewerbe.

Die brasilianische "Vorschrift über industrielle und sanitäre Inspektion von Produkten tierischen Ursprungs" sieht derartige Studien ausländischer Gesetze im Rahmen der Dienstobliegenheiten des Landwirtschaftsministeriums ausdrücklich vor (Art. 919, Art. 854, Ziff. 1). Bei uns hat Eugene Gill im Auftrag der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung eine Studie über die die Fleischhygiene in USA betreffenden gesetzlichen Bestimmungen verfaßt (Inaugural-Dissertation München 1951).

Da es mir durch das Entgegenkommen des brasilianischen Landwirtschaftsministeriums, wofür ich an dieser Stelle Herrn Dr. José Irineu Cabral, Direktor do Serviço de Informação Agrícola do Ministerio da Agricultura, meinen besonderen Dank aussprechen möchte, möglich war, den Text der einschlägigen brasilianischen Gesetze zu erhalten, wurde ich von Herrn Dr. habil. Hans Schellner, Direktor der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung, mit vorliegender Studie über die brasilianische Vorschrift betreffend die industrielle und sanitäre Inspektion von Produkten tierischen Ursprungs beauftragt.

I.

Verwaltungsmäßiges und Allgemeines.

1. Geltungsbereich.

Die Republik der vereinigten Staaten von Brasilien setzt sich aus den Staaten, den Territorien und dem Bundesdistrikt zusammen. - Die hier behandelte Vorschrift hat direkte Geltung für den Umgang mit Produkten tierischen Ursprungs, deren Überwachung die Zuständigkeit eines einzelnen Staates oder Territoriums übersteigt. Dies ist der Fall bei allen Produkten, die den Gegenstand des Handels zwischen Partnern in mehr als einem brasilianischen

- 3 -

Staat oder den Gegenstand des auswärtigen Handels bilden (Artikel 1 des Dekrets). Die Vorschrift hat außerdem vorübergehend direkte Geltung in denjenigen Gebieten, in denen von dem Recht, eigene staatliche, territoriale oder Gemeindegesetze zu erlassen, noch kein Gebrauch gemacht wurde (10, Einz. Par.). Darüber hinaus gilt die Vorschrift als Norm für die Gesetzgebung im ganzen brasilianischen Hoheitsgebiet (1); die Gesetze der Staaten, der Territorien und des Bundesdistrikts dürfen nicht mit ihr in Widerspruch stehen (10; 916).

(D: In der entsprechenden deutschen Gesetzgebung finden sich sowohl unmittelbar geltende Ausführungsbestimmungen, die eigene Ländergesetzgebung ausschließen (z.B. Fleischbeschaugesetzgebung), als auch Rahmengesetze, deren Ausführungsvorschriften zum Teil zentral und zum Teil von den Ländern erlassen werden (z.B. Milchgesetz). Die in B gegebene Möglichkeit, je nach dem Umfang der Handelstätigkeit eines Betriebes entweder Ländergesetze oder Bundesgesetze zur Anwendung zu bringen und demnach je nach dem Maße des sanitär Erforderlichen und wirtschaftlich Zumutbaren eine Staffelung der gesetzlichen Anforderungen vorzunehmen, besteht nach D nicht. Andererseits kann D infolge der anders gelagerten Zuständigkeitsverteilung zwischen Bundes- und Ländergesetzgebung in manchen Punkten stärker auf regionale Unterschiede eingehen als B. Dies ist weitgehend deshalb erforderlich, weil der deutsche Gesetzgeber im wesentlichen eine abgeschlossene Entwicklung vorfindet, während der brasilianische Gesetzgeber es mit einer im Aufbau begriffenen Industrie zu tun hat.)

2. Gegenstand.

Gegenstand der brasilianischen Vorschrift ist die Beschau (Inspektion und Reinspektion) von Schlachttieren, Wild, Fischereiausbeute, Milch, Eiern, Bienenhonig und Bienenwachs, sowie von hieraus gewonnenen Produkten und Nebenprodukten. Die Beschau erstreckt sich auf den gesamten Umgang mit den genannten Objekten und mit den benötigten Hilfsmitteln, von der Erzeugung bis zur Abgabe an den Verbraucher, sowie auf alle hieran beteiligten Betriebe, einschließlich deren Anlage, Einrichtung, Betriebspersonal und Betriebsweise (2; 5; 8; 9; 11; 12; 14; 15).

(D: Der Gegenstand verteilt sich nach D auf das Fleischbeschaugesetz, Milchgesetz, Milch- und Fettgesetz, Lebensmittelgesetz, Gesetz über gesetzliche Handelsklassen für Erzeugnisse der Landwirtschaft und Fischerei, Gesetz über das Schlachten von Tieren, Gesetz über Verkehr mit Vieh und Fleisch, sowie eine Reihe von anderen Gesetzen und eine große Zahl von Verordnungen,

- 4 -

Bekanntmachungen, Runderlassen und Vorschriften, die auf Grund dieser Gesetze erlassen wurden).

3. Durchführung.

Die Durchführung der Überwachung ist nach B Obliegenheit einer eigens hierfür geschaffenen Bundesbehörde, der "D.I.P.O.A." (3). In bestimmten Fällen erfolgt die Überwachung durch das Viehseuchenbekämpfungsamts des Bundes, die "D.D.S.A." (4). Beide Behörden unterstehen dem Bundeslandwirtschaftsministerium und in diesem dem "Amt für animalische Produktion", dem "D.N.P.A." (3; 4). Ihre Tätigkeit erfolgt in enger Zusammenarbeit mit den entsprechenden Dienststellen der Staaten und Gemeinden (915) und mit dem "Amt für öffentliche Gesundheit" (Departamento Nacional de Saude Publica), einer selbstständigen, verwaltungsmäßig mit dem Unterrichtsministerium verbundenen Bundesbehörde (908; 45; 48; 92; 166 Ziff. 9; 527; 528; 675; 676; 768).

Die D.I.P.O.A. kann auf Grund von Kompetenzübertragungen auch die Überwachung im Auftrage der Staaten in deren Zuständigkeitsbereich durchführen (912). Sie kann auch mit der Überwachung pflanzlicher Produkte vertretungsweise betraut werden (34 § 2). Umgekehrt kann die D.I.P.O.A. ihrerseits ihre Kompetenz auf Behörden der Staaten oder der Gemeinden übertragen (52).

Die Überwachung durch die D.I.P.O.A. befreit die betreffenden Betriebe von jeder industriellen oder sanitären Überwachung durch andere Behörden (6; 7). Unbeschadet der Bestimmungen über Nachinspektion (845-850) genießen die aus vom Bund überwachten Betrieben stammenden Rohstoffe und Produkte Freizügigkeit im ganzen Hoheitsgebiet (351). Gegebenenfalls (siehe Abschnitt "Exportbestimmungen") dürfen sie auch den Gegenstand auswärtigen Handels bilden (13; 51; 851).

Die Bundesüberwachung kann ständig oder periodisch erfolgen (11). Im letzteren Falle umfaßt sie die Überprüfung der hier vorgeschriebenen Eigenkontrolle der Wirtschaft (704; 708) (wie nach B). Die ständig überwachten Betriebe werden "registriert", die übrigen "erfaßt" (11; 53; 73). Registrierung oder Erfassung müssen von den Interessenten beantragt werden (51-76). Sie werden nur unter bestimmten Voraussetzungen gewährt (35-50) und beziehen sich nur auf genau umrissene Betriebszwecke (20-31) im angemeldeten Umfang (46).

Es bestehen Bestimmungen über hygienische Mindestanforderungen (77-101), Verpackung (790-793), Kennzeichnung (794-844), Verkehr (851-869), Nachinspektion (845-850) und vorzunehmende Laboratoriumsuntersuchungen (870-875),

- 5 -

außerdem Einzelvorschriften für die Überwachung der verschiedenen Produktionszweige (106-799) sowie einleitende (1-19) und allgemeine und Übergangsbestimmungen (899-952). Die Verpflichtungen der Wirtschaftsunternehmen (33 Zi ff. 14; 102-105) bezüglich Beitrag und Erleichterungen zur Durchführung der Vorschrift gehen, den schwierigeren brasilianischen Verhältnissen angemessen, wesentlich weiter als nach D.

(D):

Zuständige Ministerien:

Innenministerien und Landwirtschaftsministerien des Bundes und der Länder.

Durchführung:

Hauptsächlich untere Verwaltungsbehörde (Ortspolizei) und Eigenkontrolle der Wirtschaft. D kennt, im Unterschied zu B, Einrichtungen unter öffentlicher Leitung (Gemeinschaftshöfe, Tierkörperbeseitigungsanstalten), in denen bestimmte Betriebsbehandlungen ausschließlich durchgeführt werden. B kennt zwar ebenfalls für eine Reihe von Produkten (Fische, Eier, Milch usw.) zentrale Umschlaggebiete ("entreposto"). Diese stehen jedoch, auch wenn sie gelegentlich ganz oder teilweise Eigentum der öffentlichen Hand sind, nicht unter Leitung der mit Überwachungsaufgaben betrauten Behörde).

4. Verstöße und Strafbestimmungen (876-898).

Den deutschen Begriffen "nachgemacht", "verfälscht" und irreführend bezeichnet entsprechen nach B die Begriffe "gefälscht" (adulterado), betrügerisch gefälscht (fraudado) und "nachgemacht" (falsificado).

Diese Begriffe sind durch Beispiele belegt (wie in D), und außerdem grundsätzlich erläutert (879). Als "betrügerische Fälschung" (Fraude) gelten diejenigen Fälle von Fälschung und Nachmacher, in denen der volle strafrechtliche Tatbestand des Betruges als gegeben betrachtet wird. Die Verwertung verdorbenen oder unreinen Materials fällt mit unter den Begriff der Fälschung. Irreführende Bezeichnung, soweit sie nicht unter den Begriff der "betrügerischen Fälschung" fällt, und Nachahmung fremder Patente werden dem "Nachmachen" gleichgesetzt, soweit letzteres nicht nach B unter den Begriff der "betrügerischen Fälschung" fällt.

Die verwaltungsmäßig erteilten Geldstrafen sind, mit D verglichen, sehr hoch (880). Eine Verwarnung an Stelle der Geldstrafe ist nur beim ersten Verstoß zulässig, und auch da nur, wenn dieser offenkundig nicht dolos erfolgte und

- 6 -

das Bewußtsein der Rechtswidrigkeit fehlte.

5. Kennzeichnung und Identifizierung (790-844).

Kein Produkt darf unter einer anderen als der gesetzlich festgelegten Bezeichnung in den Verkehr gebracht werden (wie D). Produkte, für welche keine gesetzliche Begriffsbestimmung vorliegt, dürfen nur mit besonderer Genehmigung hergestellt werden (901). Alle Produkte müssen mit einer genau vorgeschriebenen Beschriftung versehen sein, aus der, unter anderem, entweder die gesetzliche Bezeichnung oder die Handelsbezeichnung und die "genehmigte Formel" (formula aprovada), d.h. die genaue Zusammensetzung und Herstellungsweise hervorgehen.

(D: Vergl. Lebensmittelkennzeichnungsverordnung vom 8.5.1935 (RGBl. I S. 590).)

Die Bestimmungen über Verpackung und Beschriftung sind so gehalten, daß unüberprüfbare Änderungen vor der Abgabe an den Verbraucher nicht möglich sind.

Als zusätzliche Sicherung der Überprüfbarkeit bestehen Vorschriften über "Erkennungstoffe" (revelador), welche dem "Spezial-Rinderfett" (271, § 2 Ziff. 5), dem "Rinderfett" (273, Ziff. 5), dem "gewöhnlichen Rinderfett" (274, Ziff. 5), dem "Olein" (275 § 1, Ziff. 7), dem "zusammengesetzten Fetten" (301) und der Margarine (351, Ziff. 6) zugesetzt werden müssen. Als Erkennungstoffe gelten Baumwollkernöl und Sesamöl. Weitere Stoffe können zugelassen werden (277). Der Margarine darf Butter höchstens bis zu 10 % zugesetzt werden (345).

II.

H y g i e n e.

D: Lebensmittelgesetz vom 5.7.1927 (RGBl. I S. 134), Fassung vom 17.1.1936 (RGBl. I S. 17 ff) und vom 14.8.1943 (RGBl. I S. 488): § 3; § 5; § 7.

Vorschrift für die einheitliche Durchführung des Lebensmittelgesetzes, nach dem Rundschreiben des Reichsministers des Inneren vom 21. Juni 1934 (Reichsgesundheitsblatt 590): Artikel 4 Nr. 5 und 6; Artikel 7; Artikel 8.

Milchgesetzgebung (siehe dort).

Die Einzelbestimmungen sind nach D größtenteils nicht Gegenstand der Bundesgesetzgebung. Ein Vergleich soll deshalb hier nicht durchgeführt werden.

- 7 -

B: Allgemeine Vorschriften beziehen sich auf Grundstück, Baumaterial, Gerätschaften (59) und Lage des Betriebes in Beziehung zur Nachbarschaft (48; 59; 64; 65).

An das Wasser werden bestimmte Mindestanforderungen gestellt (62; 907). Außerdem bestehen Anforderungen bezüglich Wasserversorgung und Verteilungsnetz für kaltes und warmes Wasser und Dampf in allen Betrieben (59; 93; 33 Ziff. 9, 10 und 23) sowie insbesondere in den Betrieben für Fleisch und Fleischprodukte (34; 101) und für Milch und Milchprodukte (35). Ebenso bestehen Vorschriften über Wasserabflüsse, Kanalisierung und Abgussnetz, allgemein (59; 88; 94; 33 Ziff. 11), insbesondere für Fleischbetriebe (34) und für Milchbetriebe (35).

Zweckfremde Benutzung von Räumen und Gebäudeteilen, d.h. wohnen, essen und unterbringen betriebsfremder Gegenstände in den Betriebsräumen, ist verboten (83; 96; 97). Verschiedene Betriebsphasen und Verrichtungen müssen jeweils nach den für die Betriebsart geltenden Bestimmungen in getrennten Räumen erfolgen (32-44). Allgemeine, für alle Betriebe geltende Vorschriften beziehen sich außerdem auf verfügbare Grundfläche, Beleuchtung, Lüftung, Wände, Fußböden, Türen, Fenster, Tische, Behälter, Gerätschaften, Aufzüge, Treppen, Dächer, Raumverteilung, Betriebsräume, Brennstofflager, Mofe, Trukkenvorrichtungen, Kühlanlagen, Sozialräume, sanitäre Einrichtungen (33; 41), Temperaturregelung (42), Schornsteine (43) und Vollständigkeit der Einrichtung (32). Besondere Vorschriften dieser Art gelten für Fleischbetriebe (34; 44; 48), Milchbetriebe (35; 36), Fischereibetriebe (37), Eierbetriebe (38; 39), Wachs- und Honigbetriebe (40).

Für Lebensmittel ist die dauernde oder vorübergehende Verwendung von Gefäßen aus Kupfer, Messing, Zinn, Barium, verzinntes Eisen, Legierungen mit mehr als 2 % Bleigehalt, oder mit schadhafter Verzinnung, verboten. Holzgefäße oder bereits gebrauchte Behälter sind nur in bestimmten Fällen und nur unter bestimmten Bedingungen zulässig (90; 91; 95).

Weitere Vorschriften beziehen sich auf Grundsätze der Betriebshygiene (77), auf Ausbesserungspflicht (86), Reinigung und Desinfektion (79; 87; 95; 98-101), Ungezieferbekämpfung (80), Arbeitskleidung (81), Umgang mit untauglichem Material (82), Trennung von eßbaren und nicht eßbaren Produkten (78; 95), Schutz der Produkte gegen Verunreinigungen (89), Gesundheit des Personals (92), Kühlräume (90), Spuckverbot (84), Rauchverbot (85).

Bestimmungen über jeweils zulässige oder unzulässige Zusätze (Konservierungs-, Naturalisierungs-, Emulgierungs-, Antioxydierungs-, Aromatisierungs- und

- 8 -

Farbstoffe sowie Gewürze, Salze und Bindemittel) und Behandlungsvorfahren (Hydrogenisieren, Schlemmen, Klären usw.) finden sich in den die einzelnen Produkte behandelnden Artikeln, daneben allgemein über Kochsalz (779-784), Gewürze und Farbstoffe (785-787), Nitrate und Nitrite (372; 373; 789), Deklarierungszwang bei bestimmten Zusätzen (811; 813; 818 Ziff. 3; 819 Ziff. 1) und Verbot gesundheitschädlicher Beimischungen (788).

III.

Begriffsbestimmungen für Produkte und Handelsklassen sowie
Mindestanforderungen bezüglich deren Herstellungsweise, Zu-
sammensetzung und Beschaffenheit.

D: Begriffsbestimmungen auf Grund von § 5, Ziff. 5 des Lebensmittelgesetzes vom 5.7.1927 (R.G.Bl. I, S. 134) Fassung vom 17.1.36 (R.G.Bl. I S. 17 ff) und 14.8.43 (R.G.Bl. I S. 488).
 Gesetz über gesetzliche Handelsklassen für Erzeugnisse der Landwirtschaft und Fischerei vom 17. Dezember 1951 (Bundesgesetzblatt I S. 970. Eier; Eierverordnung (E.V.) vom 19. April 1952 (Bundesanzeiger Nr. 77 vom 22. April 1952).

B: Die Nummern der einschlägigen Artikel der brasilianischen Vorschrift sind in Klammern hinter die Bezeichnungen der Produkte gesetzt.

1. Fleisch, Fleischprodukte und Innereien:

Schlachtviehfleisch, Fleisch als Rohmaterial, "Klein" (17); Tierkörper, Hälften, Viertel (18); Därme als Wursthüllen (251, 253, 412, 413); Blasen, Netz, Schweinemagen und Schweinehaut als Wursthüllen (254, 412, 413); Rindermagen (255); Köpfe (256); Rückenmark (257); Herz, Lunge, Leber, Nieren, Hirn, Thymus, Füsse, Zunge (258); Hoden (259); Dosen-Fleischkonserven (378-392, 410); Fleischkonserven mit Zusatz pflanzlicher Produkte in Dosen (390); Rindfleisch in Dosen - Corned beef (393); Schweinefleisch in Dosen - Corned pork, Schafffleisch in Dosen - Corned mutton (394); Rinderbrust - Bricket beef (395); Zunge in Dosen (396); Rinderschwanz-Gulasch (397); Schinken (399); Schweineschulter (400); Schinkenmasse (401); Schweinefleisch-Konserven (402); Fleischbrühe, Suppe, flüssiger Fleischextrakt (403, 404); Fleischextrakt (405, 406); Leberpaste, Zungenpaste, Schinkenpaste und andere Pasten (407, 408, 409); Würste (258, § 3, 376, 412-422); "Gepöckelt" (372-375, 423); "Ge-

- 9 -

"Ruchert" (424); Gorkuchertes Speck (425); Gorkucherte Zunge (426); Lende (402, 427); Gesalzene, gepökelte oder gerucherte Spezialitäten (428); Gepökeltes "Klein" (429); Getrocknet (430); Trockenrindfleisch (431, 432); Dehydriertes Rindfleisch (434).

2. Tierische und gemischte Fette, tierische Öle, Margarine usw.

Tierische Fette (266); Tierische Öle (267); "Spezial-Rinderfett" (271); "Carou-Fett" (272); "Rinderfett" (273); "gewöhnliches Rinderfett" (274); Olein (275); Stearin (276); Schweineschmalz allgemein (278, 283-285, 287, 289-292); Schweineschmalz - nicht raffiniert (280, 281); Raffiniertes Schweineschmalz (282, 288); Kühlhaus-Schweineschmalz (286); Frische Flomen (293, 294); Frischer Speck (295); Aus tierischen und pflanzlichen Rohstoffen zusammengesetzte Fette (296-306); Margarine (341-363).

3. Fische, Fischereiausbeute, Fischereiprodukte.

FrISChe Fischereiausbeute - allgemein (438, 439, 443, 446-449); Gekühlte Fischereiausbeute (444); Gefrorene Fischereiausbeute (445); Frischer Fisch (440); Frische Crustaceen (441); Frische Molusken (442); Einheimischer Kaviar (467); Fischereiwaren - Konserven - Allgemein (448-450, 466, 469); Feine Fischerei-Konserven (451, 458); Gewöhnliche Fischerei-Konserven (459); Fischerei-Konserven in Öl (452); Fischerei-Konserven in Tomatenmark (453); Fischerei-Konserven in Essig (454); Fischerei-Konserven in Weißweinsäure (455); Gerucherte Fischerei-Konserven (456); Fischereiwarenpaste (457); Fischereiwaren in Salzlake (460); Trocken gesalzene Fischereiwaren (461); Trockenfisch (462); Gepökelte Fischereiwaren (463); Gesalzene Fischereiwaren (464); Getrocknete Krabben (465); Fischereiwaren in Gelee (466).

4. Käse.

Allgemeines.

a) Begriffsbestimmung (598); Grundkriterien der Sorteneinteilung (599); Einteilung nach Konsistenz (600, 606); Einteilung nach Fettgehalt (601); Einteilung nach Qualität (602, 604, 605); Punktsystem der Gütebewertung (603, 605); Untauglichkeit (637, 641); Bedingte Tauglichkeit (640, 604); Betrügerische Fälschung (638); Nachahmung (639).

Käsesorten

b) Roquefort (607); Gorgonzola (608); Limburger (609); Frische Ricotta (610); Schmelzkäse (611); Requesijto (612); Nordbrasilianischer Requesijto (613); Mince-Käse (614, 628); Prato-Käse (615); Gouda (616); Edamer (617); Gruyère (618); Emmentaler (619); Estopa (620); Muzarella (621); Frischer

-10-

Provolone (622); Siciliano (623); Fontina (624); Parmesan (625); Cheddar (626); Gereifter Provolone (627); Caccio-cavallo (628); Tilsiter (629); Geräucherte Ricotta (630).

5. Eier.

Frischei:

a) Bestimmungen über Schale, Eiweiß, Dotter, Keim und Geruch für deutsches Frischei (D: E.V. § 4, 1) und brasilianische Frischeier "Especial" (B: Art. 717) und "Comum" (B: Art. 718) übereinstimmend, außer, daß für Schale von "Comum" Fehlen von Deformationen nicht gefordert ist (nur stark, homogen, unversehrt, sauber) - Luftkammer: D: 8 mm, B: Especial: 6 mm, Comum: 10 mm. - Gewicht: D: Gewichtgruppen, B: Mindestgewichte, und zwar für "Especial" 48 g, "Comum" 35 g.

b) Brasilianisches Exportei:

Siehe Export-Bestimmungen.

c) Ausortierte Eier:

(D: E.V. § 5 - B: Art. 720): Begriff übereinstimmend. Unterschied: D: Bei Kennzeichnung freier Verkauf, B: Nur Verkauf an gewerbliche Betriebe zulässig-

d) Kühlhausel:

Muß vor Einlagerung Anforderungen für Frischei genügen (D: E.V. § 6 - B: Art. 731) - Muß gekennzeichnet werden (D: E.V. § 9 Abs. 1 Ziff. 3 und § 10 Abs. 1, Ziff. 2 - B: Art. 728) - Temperatur: D: Unter + 5° C (D: E.V. § 6); B: nicht unter - 1° C, Optimum 0° C - 1° C (B: 731) - Kühlung in inaktivem Gas: D: Erlaubt, B: Empfohlen. - B: verlangt außerdem: Geeignete Luftfeuchtigkeit; andere Gegenstände nicht oder nur mit Erlaubnis der Überwachungsbehörde in Eioragerraum untergebracht; behördliche Überwachung der Einbringung, Lagerung und Auslagerung (B: 724-731).

e) Trennung von Eiern verschiedener Klassen übereinstimmend vorgeschrieben:

(D: E.V. § 14 - B: Art. 723, 742).

f) Untaugliche Eier:

(B: Art. 733); Wie nach deutscher Praxis, außerdem Schmutzeier (Ziff.6) und Knickeier, deren Inhalt mit Verpackung in Berührung tritt (Ziff.7)

- 11 -

untauglich.

g) Bei anderen als Mühneriern Deklarierungszwang:
(709)h) Mindestumsatz des Kennzeichnungsbetriebes
(außer Großerzeuger)B: 500 Dutzend täglich (53 § 1) - D: Eine Million im Vorjahr - E.V. § 15,
Abs. 2 Nr. 1Kennzeichnung-Stampel: B (833 - Modelle 14 - 15) - Unterschiede in
Stempelfarbe: B: Handelsklasse - D: Jahreszeit E.V. § 106. Eikonserven.Eikonserven - allgemein (743-746); Dehydriertes Eiweiß (747-749); Dehydrier-
ter Dottter (750); Dehydriertes Vollei (751-753); Eipaste (755, 756).7. Honig und Honigprodukte.Begriffsbestimmung (757); Untauglichkeit (764); Fälschung (765); Einteil-
lung nach Farbe (758); Honig in Waben (759); Schleuderhonig, Preßhonig
(760); Tafelhonig, Kochhonig (761, 763); Wilder Honig (765); Honigwasser,
Met, Honig-Essig und andere Honigprodukte (768); Kennlichmachung von
Kunsthonig (767).8. Andere eßbare Produkte."Wildgeflügel" aus Züchtereien (106, § 2); Mühnerpaste und andere Pasten
(407, 408, 409); Speisegelatine (433); Speise-Kasavin (690, 691); Milch-
zucker (694); Lab (774-778); Salz (374, 375, 779-784); Gewürze und Farb-
stoffe (364-371, 634, 785-787). - Milch und Milchprodukte, außer den hier
unter "4", "8" und "9" behandelten, siehe "Milch und Milchprodukte".9. Nicht eßbare Produkte.Industriefette (307, 308); Rinderindustriefett (309); Tierfutter animali-
schen Ursprungs (317, 324); Fleischmehl (318); Fleisch und Knochenmehl
(319); Blutmehl (320); Lebermehl (321); Knochenmehl (322); Zubereitete
Futtermittel (323); Animalische Düngemittel (325); Entleiertes Knochenmehl
(326); Blutdüngemittel mit Superphosphat (327); Knochenasche (328);
Digestoren-Rückstand (330-333); Galle (334); Klauenöl (335); Borsten und
Haare (336); Horn (337); Klauen, Horn- und Klauenmehl (338); Sehnen (339);
Ruten (340); Hundefutter in Dosen (411); Fischmehl als Tierfutter,
Fischereiindustrierückstände als Düngemittel, Fischlebertran, Fischleim

- 12 -

und andere (472-474); Industrie-Kasein (690, 692); Pulverisierte Molke (694); Lacto-Albumin als Tierfutter (695).

Bienenwachs - (769-772).

In Anbetracht des Umfangs der hier angeführten Bestimmungen ist eine Wiedergabe der Gesetzesinhalte und Durchführung von Einzelvergleichen im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich. - Der Verfasser hofft jedoch, daß sich mit Hilfe vorstehender Angaben das Auffinden der Bestimmungen in der brasilianischen Vorschrift und der Vergleich mit deutschen Bestimmungen, wo sich Anlaß bietet, ohne größere Mühe durchführen läßt.

IV.

Milch und Milchprodukte

(Siehe auch unter III "Begriffsbestimmungen" "4", "8" u. "9".)

D:

- a) Milchgesetz vom 31. Juli 1930 (R.G.Bl. I S. 421), Fassung vom 20. Juli 1933 (R.G.Bl. I, S. 527) (Abgekürzt: M.G.)
- b) Erste Verordnung des Reichministers für Ernährung und Landwirtschaft und des Reichministers des Inneren zur Ausführung des Milchgesetzes vom 15. Mai 1931 (R.G.Bl. I, S. 150), Fassung der 3. Verordnung vom 3. April 1934 (R.G.Bl. I S. 299), 4. Verordnung vom 20. Dezember 1934 (R.G.Bl. I S. 1267), 6. Verordnung vom 31. März 1937 (R.G.Bl. I S. 431), 7. Verordnung vom 12. Juni 1939 (R.G.Bl. I, S. 1011) (Abgekürzt: V)
- c) Verordnungen der Länder zur Durchführung des Milchgesetzes.
- d) Anordnung Nr. 65 der Hauptvereinigung der deutschen Milch- und Fettwirtschaft vom 1. Januar 1942, betr. Pflichtprüfungen und Eigenkontrolle der Frischmilchbetriebe (Abgekürzt: A.O.), mit Durchführungsbestimmungen für die regelmäßige Prüfung von Trinkmilch, Milchmischgetränken und Sondererzeugnissen (Abgekürzt: P)
- e) Milch- und Fettgesetz vom 28. Februar 1951 (Bundesgesetzblatt S. 135)
- f) Butterverordnung und Käseverordnung vom 2.6.1951 (Bundesanzeiger S.110)
- g) Lebensmittelgesetz und Viehsuchengesetz.

- 13 -

Dem deutschen Viehschutzgesetz entspricht in Brasilien das "Regulamento do Serviço de Defesa Sanitaria Animal", nach Dekret Nr. 24548, vom 3. Juli 1934.

1. Milch, allgemein - einschließlich für Produktionszwecke und Milchbetriebe aller Art.

- a) Mindestanforderungen und allgemeine Bestimmungen für Erzeuger und Molkereibetriebe, nach Betriebsarten und Zwecken geordnet: (24; 25; 27; 35; 36;), Übergangsbestimmungen: (923). (Vergl. D: MG § 7; MG § 14 Abs. 5, MG § 20 Abs. 1 Nr. 3, MG § 33, MG § 52, V § 15; V § 16; V § 18-20, V § 29; Länderbestimmungen).
- b) Der Registrierpflicht unterliegende Milchbetriebe: (53, Abs. 2) und erfaßte Betriebe: (53 § 2; 24). Nachweis der Bezugsquellen: (105).
- c) Betriebspersonal: Ausbildung der Betriebsleiter: (104) (Vergl. D: MG § 14 Abs. 5 Nr. 2, MG § 52 Abs. 1 Nr. 1) Gesundheit des Personals: (92) - (Vergl. D: MG § 13).
- d) Gesundheit des Milchviehs: - (D: MG § 3; MG § 4, MG § 21; MG § 22, MG § 30; V § 3 Nr. 1, V § 4).

B: Milchvieh: (483; 486) - Kontrolle durch beamtete Tierärzte: (484; 909) - Bekämpfung der Tbc., Brucellose und anderer Milchviehkrankheiten; biologische Reaktionen: (485, 489) - Ausschluß von Tieren mit bestimmten Krankheitszeichen: (488) - Gehöftaperré bei Seuchenausbruch: (487)...

Ein ins Einzelne gehender Vergleich der hier einschlägigen Bestimmungen wäre nur sinnvoll bei gleichzeitiger Berücksichtigung der beiden Viehschutzgesetze, was den Rahmen dieser Arbeit übersteigen würde. Wesentliche Unterschiede sind, daß nach B grundsätzlich alle an Tuberkulose oder Brucellose erkrankten oder verdächtigen Tiere von der Milchproduktion auszuschließen sind - (D: Tuberkulose nur in bestimmten Formen oder bei Vorzugmilch und Markenmilch, Brucellose unter gewissen Umständen nur bedingt) - und daß eine bedingungsweise Verwertung als Trinkmilch bei gesundheitlicher Beanstandung von Tier oder Gehöft nach B nicht vorgesehen ist. - (D: MG § 4) - Tiere mit Euterentzündung sind von der Produktion auszuschließen, wobei der gelbe Galt nicht ausgenommen ist (488 - Vergl. D: V § 3 Nr. 1e).

- 14 -

- e) Melkung: - (D: V § 17; V § 17a; V § 17b)
B: Hygienische Milchgewinnung: (482), - Melkplatz: (490), - Melken: (491), -
 Danach Geihen: (492), - und sofortige Kühlung auf 10° C: (493). - Aufbe-
 wahren der Abendmilch bis zum nächsten Morgen nur bei Verarbeitungsmilch
 zulässig: (494)
- f) Milch-Begriffsbestimmung: (475; 491; 494) -
 (D: V § 1 Abs. 1) Unterschied. D erlaubt im Gegensatz zu B das Mischen
 von Milch verschiedener Melkzeiten. - Sonst Übereinstimmend.
 Eigenschaften normaler Milch: (476; 537) - Festsetzung regionaler Mindest-
 anforderungen und Standardbestimmungen (477, 533) - (D: MG § 23).
 Milch anderer Tierarten: (480; 481; 504; § 1; 504 b).
 (D: MG § 1 Abs. 2; V § 8 Nr. 7; V § 9 Nr. 6; V § 10 Nr. 3; V § 11 Nr. 7) -
B und D verlangen Kennzeichnung, auch bei Produkten. - Mischung siehe
 unter "g".
- g) Einzelmilch - Mischmilch - Begriff: (532) - Mischverbote bestehen für: Milch
 verschiedener Melkzeiten: (494) - (D: Nicht verboten); Milch verschiedener
 Erzeuger, solange keine individuellen Proben entnommen wurden: (497) -
 (D: Siehe Untersuchungsverordnungen) Milch verschiedener Tierarten, bei
 Verbrauchsmilch: (532 Einz.Par.) - (D: Grundsätzlich auch für Milcherzeug-
 nisse: V § 8 Nr. 7; V § 9 Nr. 6, jedoch bei Kennzeichnung zulässig:
 V § 8).
- h) Begriffsbestimmungen für Milchaorten und Einteilung:
 (504, 510) Verbrauchsmilch: (507-509; 504a Nr. 1).
 (D: Verbraucher: MG § 2 Abs. 1 + 2)
 Verarbeitungsmilch: (504 a Ziff. 2) - (D: Milchwirtschaftliche Unterneh-
 men als Abnehmer: MG § 2 Abs. 3).
 Vollmilch: (504 § 2; 533; 537 § 1) - (D: V § 1 Abs. 2 Nr. 1). Standardi-
 sierte Milch: (504 § 3; 510e; 538).
 (D: Länderbestimmungen und "Milch- und Fettgesetz" § 10 Abs. 2).
 Fettarme Milch: (504 § 4; 510 d; 539) - (D: V § 1 Abs. 2 Nr. 1).
 Magermilch: (504 § 5, 510 d) - (D: V § 2).
 Roh: (504 § 6; 509) - Pasteurisiert: (504 § 7) - Rekonstituiert: (504 § 8,
 510 e; 510 § 16) - Homogenisiert: (530) - (D: V § 1 Abs. 3 Nr. 1) -
 Gekocht, sterilisiert, usw.: (513) - (D: V § 1 Abs. 3; V § 10 Nr. 7).

- 15 -

i) Begriffsbestimmung für Bearbeitungsverfahren: - Sammelbegriff Veredelung: (514) - (D: MG § 12; V § 1 Abs. 3) - Reinigung: (515) - (D: V § 23) - Mahlung: (518) - (D: V § 23) - Abfüllung: Siehe: GefäÙe".

Einfrieren: (519): Teilweises Einfrieren, unter besonderen Bedingungen. Für Auftauen ebenfalls besondere Bedingungen erforderlich (D: Nicht vorgesehen). - Spontan gefrorene, nicht mehr homogene Milch nach B und D untauglich (V § 8, Nr. 3).

Vorwärmung: (516; 923): Ein leichtes Erhitzen, zum Zwecke der Verminderung des Melagehaltes, wobei jedoch die enzymatischen Reaktionen der Rohmilch erhalten bleiben müssen. Pasteurisierung: (508; 517) - (D: V § 1 Abs. 3 Nr. 2b; weiteres D: MG § 4; MG § 12; MG § 30 Abs. 1 Nr. 4; MG § 32 Abs. 2 V § 13).

Hoherhitzung: B: 91° C, 1-3 min.
D: Mindestens 85° C

Kurzzeiterhitzung: B: 72-75° C, 15-20 sec.
D: 71-74° C

Dauererhitzung: B: 62 - 65° C, 30 min.
D: 62 - 65° C, mind. 30 min.

Hoherhitzung im Wasserbad: Siehe: "Rehm".

Wiederholte Pasteurisierung verboten (517 § 7).

Apparatetypen für Pasteurisierung bedürfen nach B und D der Genehmigung (517 § 3).

Hoherhitzung ist nach B nur für fettarme und Magermilch zulässig (517 § 4).

j) Höchstemperaturen der Milch: (D: Verschiedene gesetzliche Bestimmungen der Länder) - B: In den Betrieben: 5° C (511, Ziff. 1-4); bei Übergabe an Verbraucher: 10° C; (924 Ziff. 3) - Auf Transport vom Erzeuger zur Molkerei: 18° C (502).

k) GefäÙe:

(D: MG § 7 Abs. 2; MG § 9 Abs. 1; MG § 11 Abs. 1; MG § 51 I Nr. 1; V § 3 Nr. 3; V § 19; V § 21). B: Mindestanforderungen: (486, 90, 91); - Melk-eimer (491 § 2); Kästen für Milchflaschen (524); - Karton und Paraffin-papierbehälter für Trinkmilch (522); Flaschen und Flaschenabfüllung;

- 16 -

(520; 521; 526; 512) - (D: MG 9 Abs. 3) - Flaschenreinigung: (521; 35 A Ziff. 3, Ziff. 8, Ziff. 9) - (D: MG § 7 Abs. 3; V § 19 Nr. 7) - Verschlüsse: (523; 520 § 1; 521) - (D: MG § 9 Abs. 1 Nr. 1; MG § 9 Abs. 2; V § 21 Abs. 1).

Kannermilch für Verbrauch nur in Sonderfällen zugelassen: (527) - (D: Gleiche Bestimmung nur für Markenmilch: MG § 25).

Beschriftung: (520; 523 Abs. 3) - (D: MG § 9 Abs. 1 Nr. 2, MG 20 Abs. 2).

Gefäßabfüllung nach Melken: (492) - Sauberkeit bei Milch-Abfüllung: (500) - (D: MG § 9 Abs. 3) - Wascher und Sterilisierern der Gefäße vor Rücksendung an Ursprungsbetrieb (100).

Milch-Kesselwagen: (529-531); - Für Transport unboarbeiteter Milch: (502).

1) Transportvorschriften beziehen sich auf: Höchstzeitspannen (503; 510a Ziff. 8; 510 § 4 Ziff. 1 und 5; 510c Ziff. 2 und 4; 510 § 10) - (D: V § 1 Abs. 3 Nr. 2b); Schutz vor Unbilden und Schädigungen (498-502, 525) - (D: MG § 6; MG § 11 Abs. 1; MG § 30 Abs. 1 Nr. 3; V § 14; V § 16; V § 19; V § 22); Beschaffenheit der Fahrzeuge (525) und Abstellplätze (499; 24 Ziff. 1; 35d); bevorzugte Spezial-Milchzüge: (904 § 2) - (D: Eisenbahn-Vorschriften: MG § 35 Abs. 1) - Kesselwagen: (529-531).

m) Milchuntersuchung: (534-536, 540, 541; 696-705) - (D: AO mit P, außerdem MG § 26-34; V 3 Nr. 2 und Nr. 4) - Gegenstand der Untersuchungen nach B im wesentlichen mit D übereinstimmend. - Säuregradbestimmung: B: Nach Dornis (d.h. titrieren von 100 ccm Milch mit 1/9 Normal-Natronlauge bis zum Phenolphthalein-Umschlag) - (D: Säuregrad nach Soxhlet-Menkel: Titrieren von 100 ccm Milch mit 1/4 Normal-Natronlauge bis zum Phenolphthalein-Umschlag (P. Abschnitt V)).

Enzymatische Reaktionen: Vor Bearbeitung Reduktaseprobe, mit Entfärbungszeit nicht unter 5 Stunden bei Typ "A", nicht unter 3 1/2 Stunden bei Typ "B" und nicht unter 2 1/2 Stunden bei anderer Milch (537 Ziff 5) - (D: Vergl. P. Abschnitt VII Nr. 2) -

Bei pasteurisierter Milch: Phosphataseprobe negativ, Peroxydaseprobe positiv (540 § 1).

Keimzahl: Vor Pasteurisierung: Typ "A" 10.000, Typ "B" 500.000; nach Pasteurisierung: Typ "A" 500, Typ "B" 50.000, andere Milch 300.000 (540 § 2) - Koligürprobe muß bei Typ "A" in 1 ccm negativ, darf bei Typ "B" in

- 18 -

erhitzen" und "Einfrieren" verboten: (510 § 2 und § 7) - Unter bestimmten Voraussetzungen darf Vollmilch (keine andere Milch), wenn Pasteurisierung undurchführbar, auch roh an Verbraucher abgegeben werden, innerhalb 3 Stunden nach Melkschluß: (509) - (D: Entgegengesetzte Einstellung; D betrachtet Pasteurisierung als Notbehelf, dessen Anordnung oder Duldung zwar in der Regel unumgänglich, jedoch so wie wie möglich zu vermeiden ist. Grundsätzlich auch rohe Markenmilch (MG § 12 Abs. 1, 3 und 4; MG § 32) und normalerweise nur rohe Vorzugsmilch (MG § 12 Abs. 2 Nr. 1 und Abs. 4; Länderverordnungen) vorgesehen; außerdem Abgabe roher Milch in Erzeugerbetrieb (MG § 12, Abs. 2 Ziff. 2)). Weitere Vorschriften: Siehe "Milch allgemein".

3. Standardisierte Milch (Milch Typ "C").

Fettgehalt auf 3 % eingestellt (504 § 3). Standardisierung nur in hierzu berechtigter Molkerei zulässig. Entmilchen auf Gehöften verboten (495) - (D: In Länderverordnungen analoge Bestimmungen; Milch- und Fettgesetz § 10 Abs. 2).

"Einfrieren" zugelassen, kann vorgeschrieben werden: (519) - (D: Siehe 1 i: "Begriffsbestimmung") - "Vorerrhitzung" zulässig: (516 § 3) - (D: Nicht vorgesehen. D sieht allgemein vor, daß "durch zweckmäßige Maßnahmen einer nachteiligen Veränderung der Milch vor dem Pasteurisieren entgegen gewirkt wird" - V § 1 Abs. 3 Nr. 2 b).

Pasteurisierung vorgeschrieben: (508) - Vertrieb in Keeselwagen unter besonderen Voraussetzungen zugelassen: (510 § 12, 529-531) - Vorschriften für Erzeugerbetriebe: (25 Abs. 1 und 35 B a) - Erzeugung und Bearbeitung: (510 c) - Mindestanforderungen und Beschaffenheit, vor und nach Pasteurisierung: (538, 537, 540, 541) - Übergangsbestimmungen (924) - Preisregelung (930) - (D: MG § 38 Abs. 8 - Durch "Milch- und Fettgesetz außer Kraft gesetzt. - Allgemeine Gesetzgebung über Höchstpreise). Weitere Vorschriften: Siehe "Milch-allgemein".

4. Fettarme Milch.

Fettgehalt unter 3 %, über 2 % (504 § 4) - (D: Begriffsbestimmung V § 1 Abs. 2 Nr. 1) - Erzeugung und Bearbeitung (510 d, 495), Mindestanforderungen (539); Vertrieb in Keeselwagen zulässig (529-531). Sonstige Vorschriften wie für "Standardisierte Milch".

5. Magermilch.

Nahezu fettfrei (504 § 5) - (D: Begriffsbestimmung V § 2 Ziff. 2) Erzeugung und Bearbeitung (510 d, 495) - Darf nach B nur an Gewerbe, nicht un-

- 17 -

0,5 ccm, bei Typ "C" und fettarmer Milch in 0,2 ccm positiv sein (541) - (Vergl. D: P. Abschnitt VII Nr. 2).

Suche nach pathogenen Keimen (D: P. Abschnitt IV) ist nach B allgemein bei Untersuchung von Tieren stammender Lebensmittel vorgeschrieben (874 Ziff. 5). - Bearbeitung von Milch, in der pathogene Keime gefunden werden, ist verboten (537 Ziff. 2).

- n) Bezeichnungen und Beurteilung: Bedingungsweise Verwertung zu Verarbeitungszwecken: (543 § 1 und § 2) - Einordnung in mindere Handelaklasse: (544) - Genußuntauglich: (542) - (D: V § 5 - B) - Zur Bearbeitung nicht zugelassen: (537) - Betrug, Fälschung, Nachahmung: (543) - (D: V § 8-11; MG § 44). Colostrum (479) und innerhalb von 30 Tagen vor dem Kalben gewonnene Milch (478) sind genußuntauglich. - (D: " - kurz vor oder in den ersten fünf Tagen nach dem Kalben - " : V § 6 Nr. 1).
- o) Kennzeichnung der einzelnen Sorten und Handelaklassen: (820; 523 Abs. 3; 529 Ziff. 9) - (D: MG § 9 Abs. 1 Nr. 2; MG § 20 Abs. 2; V § 10; V § 11).

2. Vollmilch.

(Typ "A", Typ "B" und rohe Verbrauchs-Vollmilch).
Begriff: (504 § 2; 535; 537 § 1) - (D: V § 1 Abs. 2 Nr. 1). Es werden bei Verbrauchsvollmilch zwei Handelaklassen unterschieden: Typ "A" und Typ "B" - (D: "Vorzugsmilch" und "Markenmilch": V § 1 Abs. 2 Nr. 2 und 3; MG § 20-34; außerdem Länderverordnungen).

Bei Typ "A" und Typ "B" ist regelmäßige Untersuchung des Milchviehs auf Tbc. und Brucellose, nach amtlichen Verfahren, durch einen besetzten oder praktischen Tierarzt vorgeschrieben (489). - (D: MG § 21; MG § 22; MG § 30 Abs. 2).

Bei beiden Sorten ist für die Gewinnung ein besonderer Melkplatz vorgeschrieben (490).

Bei jeder der beiden Sorten bestehen für die Erzeugerbetriebe besondere Vorschriften: Typ "A": (25 Abs. 3; 35 B c) und Typ "B" (25 Abs. 2; 35 B b) - (D: MG § 20 Abs. 1 Nr. 3; MG § 33; außerdem Länderverordnungen), - Bestimmungen für Erzeugung und Bearbeitung: Typ "A", (510 a) und Typ "B": (510 b, 510 § 4-3). Zusammensetzung und Beschaffenheit, vor und nach der Pasteurisierung: (537, 540, 541) - (D: MG § 23 - 25).

Beide Sorten müssen pasteurisiert sein: (508). - Offener Verkauf, "Vor-

- 18 -

erhitzen" und "Einfrieren" verboten: (510 § 2 und § 7) - Unter bestimmten Voraussetzungen darf Vollmilch (keine andere Milch), wenn Pasteurisierung undurchführbar, auch roh an Verbraucher abgegeben werden, innerhalb 3 Stunden nach Melkschluß: (509) - (D: Entgegengesetzte Einstellung; D betrachtet Pasteurisierung als Notbehelf, dessen Anordnung oder Duldung zwar in der Regel unumgänglich, jedoch so wie wie möglich zu vermeiden ist. Grundsätzlich auch rohe Markenmilch (MG § 12 Abs. 1, 3 und 4; MG § 32) und normalerweise nur rohe Vorzugsmilch (MG § 12 Abs. 2 Nr. 1 und Abs. 4; Länderverordnungen) vorgesehen; außerdem Abgabe roher Milch im Erzeugerbetrieb (MG § 12, Abs. 2 Ziff. 2)). Weitere Vorschriften: Siehe "Milch allgemein".

3. Standardisierte Milch (Milch Typ "C").

Fettgehalt auf 3 % eingestellt (504 § 3). Standardisierung nur in hierzu berechtigter Molkerei zulässig. Entrahmen auf Gehöften verboten (495) - (D: In Länderverordnungen analoge Bestimmungen; Milch- und Fettgesetz § 10 Abs. 2).

"Einfrieren" zugelassen, kann vorgeschrieben werden: (519) - (D: Siehe 1 i: "Begriffbestimmung") - "Vorerhitzung" zulässig: (516 § 3) - (D: Nicht vorgesehen. D sieht allgemein vor, daß "durch zweckmäßige Maßnahmen einer nachteiligen Veränderung der Milch vor dem Pasteurisieren entgegen gewirkt wird" - V § 1 Abs. 3 Nr. 2 b).

Pasteurisierung vorgeschrieben: (506) - Vertrieb in Kesselwagen unter besonderen Voraussetzungen zugelassen: (510 § 12, 529-531) - Vorschriften für Erzeugerbetriebe: (25 Abs. 1 und 35 B a) - Erzeugung und Bearbeitung: (510 c) - Mindestanforderungen und Beschaffenheit, vor und nach Pasteurisierung: (538, 537, 540, 541) - Übergangbestimmungen (924) - Preisregelung (930) - (D: MG § 38 Abs. 8 - Durch "Milch- und Fettgesetz außer Kraft gesetzt. - Allgemeine Gesetzgebung über Höchstpreise). Weitere Vorschriften: Siehe "Milch-allgemein".

4. Fettarme Milch.

Fettgehalt unter 3 %, über 2 % (504 § 4) - (D: Begriffbestimmung V § 1 Abs. 2 Nr. 1) - Erzeugung und Bearbeitung (510 d, 495), Mindestanforderungen (539); Vertrieb in Kesselwagen zulässig (529-531). Sonstige Vorschriften wie für "Standardisierte Milch".

5. Magermilch.

Nahezu fettfrei (504 § 5) - (D: Begriffbestimmung V § 2 Ziff. 2) Erzeugung und Bearbeitung (510 d, 495) - Darf nach D nur an Gewerbe, nicht un-

- 19 -

vorarbeitet an Verbraucher abgegeben worden: (505 § 2) - (D: erlaubt Verkehr bei Kenntlichmachung V § 8 Nr. 2) - Sonstige Vorschriften wie für Putzarme und standardisierte Milch, soweit anwendbar.

6. Rahm.

- a) Begriff (546) - Fettgehalt 20-50 % (560 Ziff. 4), Tafelrahm mindestens 25 % (551 Ziff. 3) - (D: V § 2 Nr. 8: Kaffeesahne mindestens 10 %; V § 2 Nr. 10: Schlagahne mindestens 28 %) - Gütebeurteilung (560) - Untauglichkeit (567).
- b) Tafelrahm - süß, sauer, sterilisiert: Begriff (548; 549) - (D: V § 2 Nr. 8, 9 und 10) - Bestimmungen für Produktion, Transport, Flaschenabfüllung: Wie für Milch Typ "c" (553) - Bearbeitung innerhalb 18 Stunden nach Entrahmung (550 Ziff. 2) - Flaschenverschluß und Beschriftung (553 § 2 + 3).
- c) Verarbeitungsrahm - Begriff (554; 555) - Entrahmungsstation (26 Abs. 4; 35 Bg; 556; 495) - Auf Entrahmungsstation erlaubt B, bis auf Widerruf, Erhitzung des Rahmens im Wasserbad auf ungefähr 80° C, auf die Dauer von 10 - 15 Minuten (558 Ziff. 1) - (D: erlaubt Hocherhitzung im Wasserbad, in besonderen Fällen, für Milch: Mindestens 85° C auf die Dauer von mindestens einer Minute - (V § 1 Abs. 3 Nr. 2b)) - Fristen für Bearbeitung (557) - Bearbeitung; vorher Untersuchung und Einteilung bei Anlieferung (559) - Sorte "Extra" (561) - 1. Qualität (562) - 2. Qualität (565) - Verwendungszwecke (563, 564) (565 § 1, 559 § 1-3).
- d) Abweichungen zwischen B und D:
- B erlaubt, bis auf Widerruf, Zusatz von bestimmten Konservierungsmitteln bei zur Butterherstellung bestimmtem Rahm, oder Zusatz von Salz (558) - (D: Verboten: V § 5 Nr. 4; V § 9 Nr. 5).
- B erlaubt Zusatz von aus Trinkwasser hergestelltem Eis, wenn auch nur bei Rahm 2. Qualität (566) - (D: Allgemein verboten: V § 9 Nr. 4).
- B erlaubt bzw. verlangt Neutralisierung mit anschließender Pasteurisierung und Zusatz von Säurewecker - Reinkultur bei Verarbeitungsrahm (559 § 1, 3 und 4; 568, Einz.Par.); bei Tafelrahm auch nach B verboten (553 § 4) - (D: Allgemein verboten: V § 5 Nr. 4).
- B verbietet Abgabe von rohem Rahm an Verbraucher (552) - (D erlaubt: V § 2 Nr. 8; V § 11 Nr. 5, mit Einschränkung MG § 4).
- B verbietet Abgabe von spontan sauer gewordenem Rahm als Tafelrahm

- 20 -

(549 Ziff. 2; 551 Ziff. 2) - (D: Bei Kenntlichmachung erlaubt: V § 2 Nr. 9; V § 7 Nr. 3).

7. Butter.

- a) Allgemein: - Begriff (568, 569) - Gütebeurteilung (581) - Mindestanforderungen und Echtheitszeichen: (583, 584) - Lagerung: (577, 578, 592, 593, 594) - Verbotene Zusatzstoffe: Mittel zur Konservierung, Aromatisierung, Regenerierung und gegen Oxydierung sowie fremde Fette: (585) - Farbstoffe verboten bei "Extra"-Tafelbutter: (686, 786, 787, 573 Ziff. 2) - Untauglichkeit: (587) - Betrug: (569, 591)
- b) Butter anderer Tierarten: (569, 591)
- c) Handelklassen: Aus frischem oder fermentiertem Rahm: (568) - gesalzen oder ungesalzen: (570) - Tafelbutter oder Kochbutter: (571; 572) - Tafelbutter "Extra": (571; 573; 577) - Tafelbutter 1. Qualität: (571; 574; 577; 579) - Gewöhnliche Tafelbutter: (571; 575; 579) - Kochbutter: (571; 580) - Geschmolzene Butter: (571; 596; 597; 580).
- d) Verpackung (588; 589) und Kennzeichnung (595; 622; 569) - Kennzeichnung anderer Fette, zum Unterschied: (818) - (Zusatz vorgeschriebener Erkennungstoffe zu anderen Fetten und Margarine: Siehe Seite 6).
- e) Erhitzungszwang: Besteht grundsätzlich, wenn der Rahm neutralisiert wurde: (559 § 4) - Sonst muß nur für Tafelbutter "Extra" und "1. Qualität" der Rahm erhitzt werden (559 § 2) (Ausnahme: 926).

8. Andere Milchprodukte.

- a) Käse (598-632): Siehe "Begriffsbestimmungen". Verwendung von Natriumnitrat: (633) - Erlaubte Farbstoffe (634) - Verpackung, Transport, Beschriftung (35; 636); Beanstandungen (637-641).
- b) Dehydrierte Milch - Begriff (642) - Allgemeine Bestimmungen (643-648; 677; 678) - Beschriftung (823) - offene konzentrierte Milch: (649-653) - Ungezuckerte Kondensmilch: (654-656) - (D: V § 2 Nr. 11 aa) - Gezuckerte Kondensmilch: (657; 658) - (D: V § 2 Nr. 11 bb) - "Doce de Leite" = "Milchsüßigkeit", der Blockmilch (D: V § 2 Nr. 11 oo) Ähnliche Produkte: (659-663) - Trockenmilch und Trockermilchmischprodukte (664-676; 646; 687b).
- c) Fermentierte Milch (680-688) - (D: V § 2 Nr. 1b) Begriff: (681) - Be-

- 21 -

triebvoraussetzungen: (680) - Aufbewahrung bei Temperatur unter 10°C;
(684) - Beanstandungen: (685; 686) - Kefir: (681 § 1) - Joghurt: (682)
- Acidophilus-Milch (683).

- d) Sauermilch (688) - (D: V § 2 Nr. 1a) - Nach B nur das infolge des Zusatzes von Milchsäurebakterien gewonnene Erzeugnis aus Vollmilch und auch aus standardisierter oder Magermilch. - Spontan sauer gewordene Milch darf nach B auch bei Kenntlichmachung nicht an Verbraucher abgegeben werden (542 Ziff. 1)
- e) Buttermilch (687) (D: V § 2 Nr. 6).
- f) Milchmischgetränke (689) - (D: P. Abschnitt 8)

9. Kennzeichnung von Milch und Milchprodukten:

B: (820-825)

V.

Fleischbeschaugesetzliche Bestimmungen.

D:

- a) Fleischbeschaugesetz vom 29. Oktober 1940 (abgekürzt: FG).
- b) Verordnung über die Durchführung des Fleischbeschaugesetzes vom 1. November 1940 (RMBl. S. 289) - (abgekürzt: VO), mit Ausführungsbestimmungen (abgekürzt: AB).

1. Allgemeines.

Die beiden Viehseuchengesetze sollen nicht zum Vergleich herangezogen werden, aus Gründen, die bereits im Falle der Milch angeführt wurden. - Allgemein sei jedoch vermerkt, daß, infolge der anders gelagerten Zuständigkeitsverteilung, B auch in den rein fleischbeschaulichen Kapiteln stärker auf veterinärpolizeiliche Belange eingehen muß, als die deutsche Fleischbeschaugesetzgebung, zumal nach B auch der Schlachtvieh-Hof zum Schlachthof gehört (B: 21; 34; 107); - besonderer Nachdruck wird auf die Aufdeckung etwa neu in das Inland eingeschleppter Seuchen gelegt (116 § 2; 214 § 2; 219; 221).

Die Lebend- und Fleischschau erstreckt sich auf folgende Tierarten:

- 22 -

(B: 106 - D: FG § 1).

Übereinstimmend nach B und D: Boviden, Schweine, Schafe, Ziegen, Einhufer.

Nach B außerdem: Kaninchen, Geflügel.

Nach D außerdem: Hunde.

(Bemerkung: Unter den Begriff "Rinder" fallen fleischbeschaulich nach D, laut Kommentar, auch Zebu und Büffel - also sinngemäß Übereinstimmung mit "Bovideos" in B).

Trichinenschau: Nach B und D: Schweine (B: 116 § 2; 214 - D: außerdem andere fleischfressende Tiere (D: AB.A § 37)).

Probeentnahme für Trichinenschau: B: Zwerchfellpfeiler, Zungenrund, Kehlkopf-muskulatur (214) - D: In der Regel nur Zwerchfellpfeiler (D: ABA § 40; 41).

Ort der Beschau nach B: Nur in zugelassenen Betrieben unter Bundesinspektion (21; 34; 106) - Ambulante Fleischbeschau entfällt, da die betreffenden Schließungen nach B nicht in die Zuständigkeit des Bundes und der direkten Bundesgesetzgebung fallen (Siehe B: 3 und 2 § 1).

Beschau-Zeiten: B: (107 § 3) - (D: VO § 17).

Anmeldung: B: (102 Abs. 4 und 5; 107) - (D: AB.A § 1).

Zuständigkeit des Fleischbeschauerarztes: B: Lebendbeschau und "Endfleischbeschau" (111 § 1; 152; 176 § 5, Ziff. 4; 225 § 2) - (D: Bei Einhufern stets: FG § 18, bei anderen Tieren für Lebendbeschau nur in besonderen Fällen: VO § 9; AB.A § 8, und Ergänzungsbeschau: VO § 29, § 30).

Begriffe "Endbeschau" (B) und "Ergänzungsbeschau" (D) decken sich nicht. - "Endbeschau" bei jeder Beanstandung erforderlich (152).

Höchstuntersuchungszahlen: (D: Für Fleischbeschau: VO § 18; - Für Trichinenschau: AB.A § 46) - Nach B ergibt sich die Höchstuntersuchungszahl von selbst aus der amtlich festgelegten Höchstleistungsgrenze des Betriebes (46; 880 b 10).

Buchführung - Berichterstattung - Anzeigepflicht: B: (102 Abs. 3 und 15; 105; 129; 116 § 1 und 2; 127; 242) - (D: AB.A § 53; FG § 11; AB.A § 3 Abs. 2b; § 31) - Nach B Berichterstattung an vorgesetzte Dienststelle nur bei Soucheffällen und besonderen Vorkommnissen angeordnet.

- 23 -

Überwachung und Behandlung der bei der Lebendbeschau untauglich erklärten Tiere und der Konfiskate: B: (34 Ziff. 4 und 10 - 13; 116; 126; 152; 247; 310 - 315) - (D: VO § 30 und 31; AB.A 60 und 61; AB.C Anh. Nr. 1).

Vorgehen bei Seuchenverdacht: B: (116; 117) bei Milzbrandverdacht: B: (108), bei Milzbrand: B: (166).

Allgemeine sanitäre Vorschriften: B: (34; 156; 248; 146).

Einhufe-Fleisch: Sonderbestimmungen betreffend getrennte Betriebe und deutliche Kenntlichmachung grundsätzlich Übereinstimmend: B: (199; 200; 202; 203) - (D: FG § 18).

Schlachtung: B: (135 - 146) - D: Gesetz über das Schlachten von Tieren vom 21.4.1933 - Starke Abweichungen.

Tierchutz: B: (109) - D: Tierschutzgesetz vom 24.11.1933.

Notachtlachtung im Sinne von D, AB.A § 2 Nr. 1a, ist nach B verboten (B: 132). Als "Emergenz - Schlachtung" gilt eine vorzeitige, in Gegenwart des Beschausers im überwachten Schlachthofbetrieb vorgenommene Krankachtlachtung (130-133). Unter diesen Begriff fällt auch das sofortige Ausbluten von im Betriebsablauf tödlich verunglückten Tieren (134).

Vorgehen: Wie nach D AB.A § 27 Abs. 1 und Abs. 2b oder AB.A § 32 Abs. 2. Vollkommene Ausblutung ist nach B grundsätzlich vorgeschrieben (140). - Die Beurteilung "minderwertig" (D: AB.A § 47 Abs. 1 Nr. 4, bei unvollkommener Ausblutung), ist nach B nicht möglich.

Kennzeichnung nach besendeter Fleischbeschau: B: (153; 830-832; 833 A, B, E, J, K, L, M, Modelle 1, 2, 5, 10, 11, 12, 13): Auf der Außenseite jedes Viertels; bei weiterer Zerlegung auf jedem Stück; bei Geflügel beiderseits. (Vergl. D: AB. A § 49 - 52).

Behandlung bedingt tauglichen Fleisches: B: (243; 250 § 3) - (D: § 55, 56).

Hilfeleistung bei der Beschau, bzw. Hilfspersonal, kann gefordert werden, nach B (120 Ziff. 2 und § 1) ständig, nach D (AB.A § 18) im Bedarfsfall.

Strafbestimmungen: Gegen Unternehmer: (Tierbesitzer): B: (876; 880 b 7, 10 c 1, 4, d 25, 895) - (D: FG § 26 - 28) - Gegen Beschauser: B: (893; 894) - (D: VO § 20).

- 24 -

2. Lebendbeschau.(B: 107 - 129; - D: AB.A § 3 - 13)

- a) Ausführung: Nach B: Bei Anlieferung (107) und noch einmal am Tage der Schlachtung (111) - (D: Nur eine Lebendbeschau, möglichst kurz, längstens innerhalb von 2 Tagen vor Schlachtung, in Sonderfällen nur unmittelbar vor Schlachtung - (AB.A § 3, Abs. 1) - B: Lebendbeschau (hier 2. Lebendbeschau) durch den gleichen Tierarzt, der die End-Fleischbeschau vornimmt (111 § 1 - (D: Ähnliche Regelung, Schlachthöfe jedoch ausgenommen - AB. A § 14) - Zuständigkeit des Fleischbeschau-Tierarztes: Siehe oben.

Lebendbeschau bei Geflügel: (227 - 229) - (D: Nicht vorgeschrieben).

Vorgang: B: - Überprüfung der Ursprungspapiere (nur bei 1. Beschau) und Gruppenuntersuchung (107 § 1; 111). - In Verdachtsfällen klinische Einzeluntersuchungen (107 § 2; 111 § 2 -) - Fiebermessung (124) - (D: AB.A § 4 Abs. 2) - (Untersuchungsgang nach D: AB.A § 4). Nach B Untersuchungsgang bei klinischer und Gruppenuntersuchung nicht vorgeschrieben.

- b) Schlachterlaubnis: Schlachtung ohne ausdrückliche Erlaubnis nach B und D verboten. (B: 112 - D: FG § 5 Abs. 2) - B: Falls keine Beanstandung, Schlachterlaubnis in der Regel 24, in keinem Fall früher als 6 Stunden nach Anlieferung. - Während dieser Zeit Ruhe, nur Wasser-Tränkung, keine Fütterung. (Vergl. D: AB.A § 6 Abs. 2).

c) Maßregeln bei Beanstandung:

- aa) Verbot der Einlieferung in den bundesüberwachten Schlachthofbetrieb: (Nur nach B . - Ist nach D Gegenstand der Viehseuchengesetzgebung):

Bei zwecks Serumgewinnung gegen Schweinepest hyperimmunisierten Schweinen, wenn aus den Dokumenten nicht hervorgeht, daß die Hyperimmunisierung vor mindestens 15 Tagen abgeschlossen wurde. (120) - (D: AB.A § 12 - Nach AB.A Anlage 2: Keine andere Behandlung als natürlich infizierte Tiere).

bb) Vollkommene Untauglichkeitsklärung auf Grund der Lebendbeschau:

- 1) B: (116 § 1) und D: (AB.A § 6 Abs. 1): Milzbrand, Rauschbrand, Rotz, Rinderpest; (Nach D außerdem: Wild- und Rinderseuche, Tollwut, ansteckende Blutarmut der Einhufer.)

- 25 -

Maßnahme: Nach D: Bei Verdacht Schlachtverbot; veterinärpolizeiliche Erledigung nach Viehschutzgesetz: -
Nach B: In erwiesenen Fällen unschädliche Beseitigung.

In allen anderen Fällen erfolgt nach D die endgültige Beurteilung erst auf Grund der Fleischschau (AB.A § 6 Abs. 2), bzw. der bakteriologischen Fleischuntersuchung (AB.A § 27 - AB.A Anlage 1).

2) B: (116 § 1): Gasgangrän, Lungenseuche, Rotlauf. (Unschädliche Beseitigung) - (D: Nach Fleischschau: AB.A § 32 oder § 34 - Lebendschau: AB. A § 10 Abs. 2 § 12, § 13, § 8).

B: (115): Paralyse nach der Geburt und "Eisenbahnkrankheit". (Rücksendung zwecks Behandlung zulässig) -

D: Beurteilung nach Fleischschau - Lebendschau: AB.A § 5, § 8).

B: (118) Anasarca, Oedem ausgedehnt und generalisiert.
D: Nach Fleischschau: AB. A § 32 oder § 47).

B: (122): Nicht ansteckende Krankheiten, die nach Fleischschaubestimmungen vollständige Untauglichkeit bedingen (Tötung in Nekropsie - Abteilung).

B: (124): Fieber und Untertemperatur. - (D: AB.A § 5, § 8 und § 27).

cc) Die Schlachtung ist nach B verboten in folgenden Fällen:
(Kann nicht mit D: AB.A § 6 Abs. 1 gleichgesetzt werden !)

B: (121): Nicht kastrierte oder offenkundig erst vor kurzem kastrierte Eber - (D: Nach Fleischschau: AB.A § 32 oder § 47).

B: (114): Seuchenfreie weibliche Tiere, die vor weniger als 10 Tagen abortiert oder geboren haben - (D: AB.A § 5, § 8 - Keine Einschränkung).

dd) Die Schlachtung gemeinsam mit anderen Tieren ist nach B verboten in folgenden Fällen: (Entspricht etwa D: AB.A § 15 und § 10 Abs.2)

B: (116): Verdacht einer ansteckenden Krankheit.

B: (123): Isolierte Fälle ansteckender Krankheiten, die nach Fleischschaubestimmungen zur Beurteilung als "bedingt tauglich" Ursache geben (Schlachtung am Ende des Schlachttages).

- 26 -

B: (93B): Zwecks Impfatoffgewinnung mit MKS - Virus geimpfte Tiere (Schlachtung am Ende des Schlachtages).

B: (11B § 1): Nicht generalisierte Ödem der Rinder (Abaonderung zwecks Behandlung zulässig - 11B § 2).

ee) Die Schlachtung ist nach B (113) tunlichst zu vermeiden bei weiblichen Tieren in vorgeschrittenem Stadium der Trächtigkeit; kachektischen Tieren; Tieren mit weniger als 30 Tagen extrauterinen Lebens; Tieren, die an einer Krankheit leiden, welche Genüßuntauglichkeit des Fleisches bedingt.

ff) Aufschub der Schlachterlaubnis: Der Fall D AB.A § 6 Abs. 2 kann nach B infolge der generellen Regelung (110) nur ausnahmsweise eintreten (110 § 3).

Der Fall D AB.A § 8 Abs. 2 kann nicht eintreten, da nach B (111 § 1) die Lebendbeschau stets vom Fleischbeschautierarzt vorgenommen wird. Aufschub ist nach B vorgeschrieben bei Milzbrandverdacht (108) und bei Transporten, in denen sich seuchenkranke (117) oder tote Tiere (128) befinden. -

Aufschub bis zum Ende des Schlachtages: Siehe oben, unter "dd".

3. Fleischbeschau.

- a) Bestimmungen zur Sicherung der ordnungsgemäßen Durchführung:
(Vergl. D: FG § 6; AB.A § 14) - B: Ausschlachtung nur in Anwesenheit des Beschauers (143) - Kopf und Organe werden vor Loslösung zwecks Identifizierung gekennzeichnet (144) - . Alle Organe, auch Nieren (außer gegebenenfalls bei Exportschlachtung) müssen vom Tierkörper getrennt werden (151) - . Tierkörper wird (außer gegebenenfalls bei Exportschlachtung) in der Mitte geteilt (155) - . Entfernung oder Unkenntlichmachung von Veränderungen vor der Beschau verboten (154) - . Bei Schweinen kann innerhalb des Schlachthofbetriebes beliebig oft Nachuntersuchung durch einen anderen Beschauer angeordnet werden (149). Köpfe sind nach B (256) allgemein zu spalten. Augen, Nasenmuscheln, Siebbaine und Ohrenauschnitte sind zu entfernen (Vergl. D: AB.A § 14 Abs. 2 § 24; § 25).
- b) Untersuchungsgang: (Vergl. D: AB.A § 19 - 26) - Nach B (147) und D (AB.A § 21 Abs. 2) sind grundsätzlich alle Teile und Gewebe des Körpers als Gegenstand der Untersuchung anzusehen. Die Beschauhand-

- 27 -

lungen bestehen nach B: (147) und D: (AB.A § 20 Abs. 2) in Besichtigung, Durchtastung und soweit erforderlich, Anschneiden des Parenchyms und der Lymphknoten.

Die Bestimmungen über den regelmäßig einzuhaltenden Untersuchungsgang sind, im Ganzen gesehen, nach B in allgemeineren Formen gehalten als nach D, besonders was die Art der im einzelnen anzustellenden Untersuchungen, insbesondere die anzulegenden Parenchymschnitte und die Technik der Lymphknotenschnitte anbelangt.

Blut: (148 Nr. 1): Übereinstimmend mit D (AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 1 und § 20 Abs. 2).

Am Kopf: (148 Nr. 2) - (D: AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 2) sind nach B auch die Speicheldrüsen zu untersuchen. - Kaumuskelschnitte beim Rind angeordnet (176 § 5 Ziff. 1), aber nicht so genau beschrieben wie in D (AB.A § 22). - Zunge beim Rind (176 § 5 Ziff. 2): Wie D AB.A § 22 und 33 Nr. 1).

Die Organe der Bauch- und Brusthöhle (148 Ziff. 3 und 4) sind nicht einzeln aufgeführt. (D: AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 3-10), mit Ausnahme der Nieren (B: 151), welche stets (für Export Sonderreglung) herauszunehmen sind. (D: AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 9: Nur bei Verdacht akuter Miliartuberkulose). - Das Herz (176 § 5 Ziff. 3) wird auf Rinderfinnen untersucht und, wie nach D (AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 4), aufgeschnitten. - Würden in Kopf oder Zunge bereits Finnen gefunden, sind möglichst zahlreiche weitere Herzschnitte anzulegen, wie nach D (AB.A § 33 Nr. 1).

Die Milchdrüsen sind unversehrt auszulösen und besonders sorgfältig zu untersuchen (183) - (Vergl. D: AB.A § 21, Abs. 1 Ziff. 11; § 20 Abs. 2; § 22).

Tierkörper: B: (148 Ziff. 5; 155; 176 § 5 Ziff. 4). - (Vergl. D: AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 12) - Bei Rinderfinnigkeit Schnitte wie nach D (AB.A § 33 Nr. 1). - Die Anweisungen nach B gehen hier mehr ins Einzelne (176 § 5).

Unnötige Schnitte, die den Wert des Tierkörpers vermindern, sind nach B (176 § 5 Ziff. 4) und D (AB.A § 19 Abs. 1) zu vermeiden. D erlaubt nur ausdrücklich vorgeschriebene Schnitte.

Untersuchung auf Icterus nach B (186 § 4) immer bei Tageslicht.

D: In Gesetz und Ausführungsbestimmungen nicht ausdrücklich vermerkt,

- 28 -

gilt jedoch als Teil der im Verkehr notwendigen Sorgfalt.

Bei Verdacht der generalisierten Tuberkulose (195 § 1) sind nach B, zusätzlich zu den nach D (AB.A § 21, Abs. 1) regelmäßig untersuchten Organen, noch besonders zu beachten: Eierstöcke, Hoden, Nebennieren, sowie Hirn und Rückenmark mit ihren Membranen.

Das Rückenmark ist nach B (155) stets zu untersuchen.

Lymphknoten: Müssen nach B (148) am Kopf, in den Körperhöhlen an den Organen und am Tierkörper, soweit zugänglich, untersucht werden (D: Vergl. AB.A § 19 - 21).

Bezüglich der Art der Untersuchung ist vermerkt, daß die Leisten- oder Euterlymphknoten, die Darmbeinlymphknoten, die Kniefaltelymphknoten, die Buglymphknoten und die Achselymphknoten stets anzuschneiden sind (150). Bei Schafen und Ziegen bildet die bloße Palpation der Bug- und Kniefaltelymphknoten die Regel; im Verdachtsfalle sind sie auch hier anzuschneiden (150 § 2). - (Nach D: AB.A § 21 Abs. 1 Nr. 12 sind die Fleischlymphknoten nur im Verdachtsfalle anzuschneiden).

Bei Geflügel müssen nach B (150 § 2) die lymphatischen Gebilde, wo vorhanden, ebenfalls untersucht werden, insbesondere bei Wassergeflügel.

c) Bakteriologische Fleischuntersuchung: (131) - wie D: AB.A § 27, abgesehen von den Fällen, die nach B ohne weiteres als untauglich beurteilt werden.

d) p^H - Untersuchung: Deutlich saure Reaktion unmittelbar nach der Schlachtung (Krankschlachtung) bedingt nach B Untauglichkeit.

e) Beurteilung.

aa) Totale Untauglichkeit nach B, verglichen mit D AB.A § 32:

Erster Absatz:

1. Milzbrand: (166; 116) - Örtlicher Milzbrand bei Schweinen nach B nicht ausgenommen. Sonst Übereinstimmend.
2. Rauchbrand: (164; 116): Übereinstimmend.
3. Wild- und Rinderseuche (164): Übereinstimmend: nach B bei allen hämorrhagischen Septikämien Untauglichkeit.

- 29 -

4. - (Tollwut fleischbeschaulich nach B nicht einzeln erwähnt - Lebendbeschau: (116); bakteriologische (131) und P^H -Untersuchung (133) wegen Krankenschlachtung).
5. Rotz (116) : Übereinstimmend (B auf Grund Lebendbeschau).
6. Rinderpest (116) : Übereinstimmend.
7. Blutvergiftung (157; 164; 171; 173; 174) : Untauglichkeit nach B auch bei leichten sinnfälligen Veränderungen des Muskelfleisches: Wenn, besonders bei Kälbern, Schweinen und Einhufern gleichzeitig entzündliche Veränderungen gastro-intestinalen Ursprungs bestehen; wenn Degeneration des Myocard, der Leber oder der Nieren oder Reaktion des lymphatischen Systems bei Muskelfleischveränderungen vorliegen. - Untauglichkeit stets bei Lumbago - Untauglichkeit, auch ohne Muskelfleischveränderungen, wenn bei Lebendbeschau Fieber vorlag. In anderen Verdachtsfällen bakteriologische und P^H -Untersuchung. - Erhebliche sinnfällige Veränderungen des Muskelfleisches: Wie D.
8. Fleischvergifter (174); Sehr allgemein gefaßt: "Für Toxiinfektionen verantwortliches Fleisch", mit Aufzählung bezeichnender Veränderungen).
9. Rotlauf (116; 219) : B: Totale Untauglichkeit, ohne Ausnahmen.
10. Schweinepest (211) : Ausnahme nach B: Geringfügige Veränderungen in nur einem Organ oder Gewebe, einschließlich Nieren und Lymphknoten, ohne Eiterherde, Kachexie oder Allgemeinerscheinungen. (Ferkelgrippe und Schweineelähme: B: Nicht aufgeführt).
11. - (Starrkrampf B: Fleischbeschaulich nicht erwähnt. - Lebendbeschau: 116 -; bakteriologische und P^H -Untersuchung).
12. Gelbaucht (186; 210; 224) : Übereinstimmend.
13. Wassersucht: (160; 170) : Übereinstimmend. - Nach B auch bei mäßiger Wässerigkeit untauglich.

- 30 -

(D: AB.A § 47 Abs. 1 Nr. 1: Minderwertig).

14. Geschwülste (158; 201; 107): Übereinstimmend. -
Bei bösartigen Geschwülsten nach B auch ohne
Metastasenbildung totale Untauglichkeit.
15. - (Entfällt, da die von D angeführten Tierarten nach B nicht
Gegenstand der Trichinen- oder Fleischschau sind. -
Trichinöse Schweine nach B total untauglich: 214).
16. Widerlicher Geruch oder Geschmack (172): Untauglichkeit nach
B auch in den Fällen, die nach D (AB.A § 47 Abs.1
Nr. 1) als minderwertig beurteilt worden, einschließ-
lich Farbabweichungen und abstoßendes Aussehen.
17. Vollständige Abmagerung infolge einer Krankheit (157; 168;
179; 180; 181; 194; 195 Ziff. 2): Übereinstimmend. -
Kachektisches Geflügel ohne Berücksichtigung der
Ursache untauglich (232).
18. Fäulnis (171 § 1): Nach B bereits bei beginnender Fäulnis
totale Untauglichkeit.
19. Ansteckende Blutarmut der Einhufer (201): Übereinstimmend.

Zweiter Absatz:

Natürlicher Tod, verzögertes Ausweiden, Tötung im Verenden usw.
B: (134; 143 § 1, 212): Übereinstimmend.

aa) Totale Untauglichkeit nach B außerdem bei folgenden Mängeln:

Ungenügende Entwicklung der Jungtiere (161) - (D: AB.A § 47,
Abs. 1 Nr. 3: Unreife Kälber minderwertig).

Brucellose mit ausgedehnten Veränderungen bei Rindern (163), bei
Schafen und Ziegen stets (221). - (D: Nur veränderte Teile untaug-
lich: AB.A § 34 Nr. B)

Anaplasmoose, bazilläre Haemoglobinurie der Rinder, bösartiges
Katarrhalfleber, Piroplasmose, Pocken (164) - (D: Nur veränderte
Teile untauglich AB.A § 34 Nr. B - Bei mangelnder Ausblutung Übri-

- 31 -

ges Fleisch minderwertig AB.A § 47 Abs. 1 Nr. 4 - Bakteriologische Untersuchung AB.A § 27).

Generalisierte Quetschung (177).

Vorgeschrittene Trächtigkeit, kurz zurückliegende Geburt (182) - (D: Ohne Einfluß auf Tauglichkeit).

Knotige nekrotisierende Leterentzündung, bei gleichzeitigem Auftreten anderer Veränderungen (185) - (D: Veränderte Teile untauglich, AB.A § 34 Nr. 8; bakteriologische Untersuchung AB.A § 27).

Tiere, die medikamentell oder accidentell toxische Stoffe aufgenommen haben (187).

Infektiöse oder Organkrankheiten der Schweine, die mit umfangreichem Hautempyem einhergehen (207).

Folgende Krankheiten der Einhufer: Cerebrospinale Meningitis, infektiöse Encephalomyelitis, Paratyphus, Beschälseuche, Mal de cadeiras, Azoturie, Lumbago, Druse und alle sonstigen mit Entzündungen oder bösartigen Geschwülsten einhergehenden Krankheiten der Einhufer (201).

Tuberkulose: (196). Außer in den Fällen D AB.A § 32 Abs. 1 Nr. 17 (D und B 195 Ziff. 2 übereinstimmend), erfolgt nach B totale Untauglichkeitsklärung noch in folgenden Fällen:

- 1) Wenn bei der Lebendbeschau Fieber vorlag (D: Bakteriologische Untersuchung AB.A § 27).
- 2) Bei Anämie (D: Minderwertig AB.A § 47 Abs. 1 Nr. 1).
- 3) Wenn tuberkulöse Veränderungen in Muskeln, Knochen, Gelenken oder Körperlymphknoten auftreten (D: AB.A § 34 Nr. 4: Bei Knochentuberkulose das ganze Skelett untauglich, Muskelfleisch tauglich - Liegt nur eine Erkrankung der Fleischlymphknoten vor und kommen § 36 II Nr. 1 oder § 47 Abs. 1 Nr. 1 nicht in Betracht: Der ganze Tierkörper tauglich).
- 4) Wenn Verkäisungen gleichzeitig in Organen der Brust- und Bauchhöhle auftreten, mit Veränderungen der Serosen (D: Bei Anzeichen frischer Blutinfektion: Bedingt tauglich AB.A § 36 II Nr. 1, sonst unveränderte Teile tauglich).
- 5) Bei miliaren Veränderungen der Parenchyme oder Serosen (D: Falls

- 32 -

akut: Bedingt tauglich AB.A § 36 II 1, sonst unveränderte Teile tauglich).

- 6) Bei multiplen, akuten und aktiv progressiven Herden mit akuter Entzündung in der Umgebung der Herde, Liquefaktionsnekrose und jungen Tuberkeln (D: Bedingt tauglich. AB.A § 36 II 1).
- 7) Generalisierte Tuberkulose (D: Bei Anzeichen frischer Blutinfektion: Bedingt tauglich AB.A § 36 1, sonst unveränderte Teile tauglich).

(Veränderte Teile auch nach D in allen Fällen untauglich AB.A § 34 Nr. 4).

Für Exportzwecke E (196 § 6): Totale Untauglichkeit bei jeder Form von Tuberkulose.

- bb) Der ganze Tierkörper, ausgenommen Fett, ist nach B bei folgenden Mängeln untauglich:

Gesundheitsschädliche Finnen: Übereinstimmend mit D: AB.A § 33 Nr. 1: B (176; 206; 223).

Sarcoporiiden: Übereinstimmend mit D: AB.A § 33 Nr. 2 B (213; 226).

Trichinöse Schweine (D: AB.A § 33 Nr. 3) sind nach B (214) vollkommen genußuntauglich).

Außerdem dürfen nach B (218) beanstandete Schweine, wenn die Veränderungen nur isolierbare Muskelpartien betreffen, nach Entfernung der veränderten Teile zur Schmalz-Gewinnung verwertet werden.

Bei tuberkulösen Veränderungen, deren Umfang keine totale Untauglichkeitsklärung rechtfertigt, jedoch das Maß der für bedingungsweise Verwertung zulässigen überschreitet, ist nach B (196 § 4) Verwertung des Fettes zulässig.

- cc) Nach B bedingt tauglich: (Vergl. D: AB.A § 36; 55; 56)

- 1) Tauglichmachen durch Erhitzen (Sterilisierung durch Hitze): Brucellose des Rindes, bei örtlich beschränkten Herden, nach Entfernung der veränderten Teile (163) - Verunreinigung durch Berührung des Fußbodens, nach vollkommener Reinigung (165 § 2) - Mittelmäßiger Befall mit Rinderfinnen, nach Entfernung der veränderten Teile (176 § 2 Ziff. 2) - Weniger als 5 Schaffinnen (223) - Schweinepest, wenn nicht die Bedin-

- 33 -

gungen für vollständige Untauglichkeit gegeben sind (211 § 3) - Tuberkulose geringen Umfangs, wenn keine Anzeichen frischer Blutinfektion vorliegen (196 § 2 Ziff. 4 und § 3).

- 2) Tauglichmachen durch Pökeln in Kühlräumen oder durch Tiefkühlung:
Wenn Teile des Tierkörpers wegen schwachen Befalls mit Rinderfinnen untauglich erklärt wurden (176 § 2 Ziff. 1). - Dauer des Pökeln: In der Regel 21 Tage: bei auf 1° C gleichbleibender Temperatur nur 10 Tage.
- 3) Tauglichmachen durch Pökeln, Konservverarbeitung oder Verwurstern:
Örtliche Quetschungen, nach Entfernen der veränderten Teile (177).
- 4) Tauglichmachen durch Konservverarbeitung oder Verwurstern:
Hochgradige Magerkeit, wenn kein pathologischer Prozeß vorliegt (169).
- 5) Tauglichmachen durch Verwurstern:
Zungen mit vollkommen abgetheilten Narben (184; 258 § 3) - Herzen mit Lymphangiektasie (188).
- 6) Tauglichmachen nach Ermessen der Bundesinspektion:
Nach 24 Stunden noch anhaltende Gelbfärbung, ohne andere Veränderungen oder Krankheitszeichen (186 § 2) - Lebern, aus denen vereinzelte Echinococcen entfernt wurden (180 § 2).

dd) Bei allen sonst angeführten Mängeln werden die veränderten Teile untauglich erklärt.

(Vergl. D: AB.A § 34) - B: 158-160; 162; 163; 165; 167; 171; 173; 175; 176 § 2; 177-181; 183-185; 188-195; 196 § 2; 205-209; 211 § 3; 215; 216; 222; 223 § 2; 247; 253).

Abweichungen von D: (Soweit nicht bereits aus dem Vorhergehenden ersichtlich): Bei parietaler Serosentuberkulose auch die angrenzende Brust- oder Bauchwand untauglich (196 § 2 Ziff. 2) - Bei schwacher Mesenteriallymphknoten-tuberkulose in einem sonst tuberkulosefreien Tier; ist nach B (196 § 2 Ziff. 6) das Gekrösefett tauglich, ebenso der zugehörige Darmabschnitt als Wurthülle (außer für Export 196 § 6) - (Nach D AB.A § 34 Nr. 4 untauglich).

Bei lokaler Lymphknotenentzündung ist nach B (159) auch der zugehörige Teil des Körpers untauglich.

- 34 -

Bei Verunreinigung mit Kot (165) Eiter (183 § 1), tuberkulösem Material (196 § 2 Ziff. 3) oder Milzbrand (166 Ziff. 10) erfolgt Untauglichkeits-
erklärung - Reinigung und bedingte Verwertung ist nur bei Verunreinigung
durch Fußböden und Ähnliches vorgesehen (165 § 2).

ee) Die Bestimmung nach D AB.A § 35 über stets untaugliche Teile deckt
sich zum Teil mit Bestimmungen nach B:

D: Geschlechtsteile untauglich

B: Ovarien: Zur Zubereitung von Lebensmitteln untauglich (260).

Hoden: Zerkleinerung und Verarbeitung verboten (259).

Ruten: Müssen als nicht eßbare Nebenprodukte getrocknet werden
(340)

D: Foeten: untauglich (ohne Ausnahme).

B: Foeten untauglich, mit der Ausnahme, daß der Verkauf über 7 Monate
alter Foeten unter bestimmten Voraussetzungen, zwecks Berücksichti-
gung regionaler Gepflogenheiten erlaubt werden darf. - Lagerung und
Verarbeitung von Foeten stets verboten (182).

D: Augen und Ohrtrumschnitte untauglich.

B: Augen, Ohrtrumschnitte, Nasenauschnitte, Siebbeine untauglich (256).

D: Mandeln von Rindern und Schweinen untauglich.

B: Mandeln aller Tiere zur Zubereitung von Lebensmitteln untauglich
(260)

Außerdem sind nach B (260) stets zur Zubereitung von Lebensmitteln
untauglich: Milz, Speicheldrüsen, andere Drüsen, Lymphknoten.

D: Dickdarm von Einhufern, Hundedärme und in der Regel Afterauschnit-
te untauglich.

B: Därme von Rindern, Schweinen, Schafen und Ziegen dürfen als Wurst-
hüllen verwendet werden; im übrigen Därme untauglich (251).

D: Nabelbeutel der Schweine untauglich.

B: Nicht erwähnt.

ff) Die Beurteilung "sinderwertig" (D: AB.A § 47) ist nach B nicht
vorgesehen.

gg) Die Mängel des Geflügels und der Kaninchen worden in den Artikeln B
(229-241) behandelt. - Nach D sind sie Gegenstand des Lebensmittelge-
setzes und des Viehschlachtgesetzes.

- 35 -

VI

Bestimmungen über Export und Import.

(Nach B, ohne vergleichende Gegenüberstellung mit D.)

1. Export.

Die registrierten Betriebe, welche nach der hier behandelten brasilianischen Vorschrift überwacht werden und ihre Mandelstätigkeit über die Grenzen eines einzelnen brasilianischen Staates hinaus ausdehnen dürfen, sind grundsätzlich auch berechtigt, ihre Produktion Exportzwecken zuzuführen (13; 851). In diesem Falle kommen in einigen Punkten neben bzw. an Stelle der allgemeinen Vorschriften gewisse Sonderbestimmungen zur Anwendung. Diese lassen sich in zwei Gruppen einteilen:

- 1.) Verschärfte Anforderungen sanitärer, qualitativer und administrativer Art,
- 2.) Zugeständnisse an die Gesetzgebung der Importländer.

a) Verschärfte Anforderungen sanitärer und qualitativer Art:

Tiere, die irgendeine Form von tuberkulösen Veränderungen aufweisen, sind vollkommen exportuntauglich (196 § 6). - Bei Schweinen sind alle irgendwie fehlerhaften Organe, oder Organe, aus denen Teile wegen irgendeiner Beanstandung entfernt werden mußten, exportuntauglich (217). - Dosenkonserven dürfen nur nach besonderer bakteriologischer Untersuchung jeder Partie exportiert werden (387). - Bei Meeresfrüchten sind nur bestimmte Sorten exportfähig (756). - Bei Geflügel muß, wenn das Ausweiden der Brusteingeweide auf Grund einer Vorschrift des Einfuhrlandes unterbleibt, jedes Tier einzeln lebend beschaut werden (228). - Nicht eßbare Produkte, wie Häute, Wolle, Hörner, gewerbliche Nebenprodukte und dergleichen, müssen, wenn sie nicht aus von der D.I.P.O.A. überwachten Betrieben stammen, für Exportzwecke vorschriftsmäßig desinfiziert werden. Sie dürfen nur aus seuchenfreien Gebieten stammen. Die Desinfektion erfolgt nach den Vorschriften des Einfuhrlandes; falls solche nicht bestehen, nach brasilianischen Bestimmungen (865).

b) Verschärfte administrative Anforderungen:

Nur nach Vorlage sanitärer Zeugnisse und nur, wenn die vorgeschie-

- 36 -

bene amtliche Kennzeichnung vorhanden ist, können Produkte tierischen Ursprungs die Häfen und Grenzstationen passieren (858). Diese sanitären Zeugnisse werden auf besonderen Formblättern ausgestellt (868). Sie können, wenn dies vom Einfuhrland verlangt wird, zweisprachig (stets auch portugiesisch) abgefaßt werden (860) und müssen von dem zuständigen beamteten Tierarzt unterschrieben sein (863). - Für die Belieferung von Schiffen, die internationale Linien befahren, gelten die gleichen Bestimmungen (869). Fleisch von Eihufnern, auch verarbeitet, darf nur mit der ausdrücklichen Zustimmung des Einfuhrlandes exportiert werden (199).

- c) Zugeständnisse an die Gesetzgebung der Importländer:
 Schlachtung nach religiösen Vorschriften (Schächten) ist erlaubt, wenn das Importland dies vorschreibt (135 § 2) - Die Zerlegung des Tierkörpers darf nach den Vorschriften des Einfuhrlandes erfolgen (18 § 3). - Die Hiere darf am Tierkörper verbleiben, wenn das Einfuhrland dies verlangt (151). - Bei Exportgeflügel dürfen die Brüsteingeweide im Tierkörper verbleiben, wenn dies vom Einfuhrland verlangt wird und wenn jedes Tier einzeln lebend beschauf wurde (228). - Bei Margarine (360) und Fleischkonserven (377) können Zusätze und Behandlungsverfahren unter besonderen Vorkehrungen erlaubt werden, wenn diese nach der Gesetzgebung des Einfuhrlandes zulässig sind. Die zugesetzten Farbstoffe, Konservierungsmittel oder anderen Substanzen müssen dann ausdrücklich nennenswert in der Beschriftung angegeben werden (813). - Die Beschriftung der Exportwaren darf mehrsprachig, in Ausnahmefällen rein fremdsprachig erfolgen. Beschaufstempel und deutlich ersichtbare Angabe des brasilianischen Ursprungs müssen stets vorhanden sein (804). Die Verpackung darf, abweichend von sonst geltenden Bestimmungen, nach den Vorschriften des Einfuhrlandes erfolgen (791).
- d) Eier-Exportbestimmungen: Für Export-Eier bestehen einige Sondervorschriften. - Kennzeichnung: Grüner Stempelabdruck am runden Pol, bestehend aus einem Kreis von 15 mm Durchmesser, in diesem das Wort "Brasil" horizontal, in der Mitte, (833, r Modell 15), oder nach Vorschrift des Einfuhrlandes (826 b1). - Mandaklasseneinteilung nach Farbe (B = weiß, C = getönt, M = gemischt) und nach Gewicht (737). - Die Verpackung erfolgt nach besonderen Vorschriften (738-742), darf jedoch abweichend hiervon nach Vorschrift des Einfuhrlandes erfolgen (741 § 2). - Auch Export von Eiern ohne Schale ist in Verpackung nach

- 37 -

Vorschrift des Einfuhrlandes zulkässig (742). - Die Kennzeichnung der Verpackung erfolgt nach bestimmten Vorschriften (826 b). - Die Gewichtsklassen des brasilianischen Exporteies sollen mit dem Gewicht der Handelklassen des deutschen Frischeies verglichen werden: (D: Eierverordnung § 4 Abs. 2).

<u>Brasilianisch:</u>	<u>Deutsch:</u>
--	S: 65 g und darüber
Seleto: 60 g und darüber	A: 60 g - 65 g
Extra: 55 g - 60 g	B: 55 g - 60 g
Especial: 48 g - 55 g	C: 50 g - 55 g
Unter 48 g: Nicht export- fähig	D: 45 g - 50 g
--	Klein: Unter 45 g

2.

Import.

Aus Ländern, in denen gefährliche Tierseuchen, im Sinne der brasilianischen Viehseuchengesetzgebung, herrschen, dürfen keine animalischen Produkte nach Brasilien eingeführt werden (855). Länder, welche an der Ausfuhr animalischer Produkte nach Brasilien interessiert sind, müssen ihre sanitären Vorschriften, einschließlich der Modelle der Beschaustempel und Formblätter, dem brasilianischen Landwirtschaftsministerium zwecks Anerkennung unterbreiten (918). - Solange dies nicht erfolgt ist, können die importierten Produkte während der Übergangszeit nur unter zwei Voraussetzungen von der Zollbehörde freigegeben werden:

- 1) Vorlage eines von der zuständigen Behörde des Ausfuhrlandes ausgestellten und vom brasilianischen Konsulat mit Sichtvermerk versehenen sanitären Zeugnisses,
- 2) gründliche brasilianische Nachschau durch die D.I.P.O.A. (918 § 1). -

Grundsätzlich ist die Anerkennung der sanitären Vorschriften des Ausfuhrlandes durch das brasilianische Landwirtschaftsministerium Voraussetzung für die Einfuhrgenehmigung (854 Ziff. 1). - Falls die Vorschriften des Exportlandes keine Einzelheiten über Beschaustempel und Formblätter enthalten, muß deren Anerkennung einzeln beantragt werden (854 Einz.Par.). - Bei der Einfuhr sind amtliche Kennzeichnung der Produkte (854 Ziff. 3), Vorlage des sanitären Zeugnisses mit Sichtvermerk des brasilianischen Konsulats (854 Ziff. 2; 856) und brasilianische Nachschau (856 Einz. Par.; 858 § 1)

in jedem Fall erforderlich.

Zusammenfassung.

Die brasilianische Vorschrift für die Beschau animalischer Produkte wurde besprochen.

Die Bestimmungen über Anwendungsbereich, Gegenstand der Beschau und Durchführungsweise wurden kurz wiedergegeben und mit deutschen Verhältnissen verglichen. - Umfang und Gegenstand der brasilianischen Bestimmungen über Hygiene der Betriebsanlagen und Arbeitsweisen wurden aufgezeigt. - Es wurde ein Verzeichnis der in der brasilianischen Vorschrift enthaltenen Begriffsbestimmungen für Produkte und Handelklassen angefertigt, unter Anführung der einschlägigen Artikel. Die Bestimmungen über Eier wurden hierbei mit den Bestimmungen der deutschen Eierverordnung verglichen. - Die Inhaltgebiete der Vorschriften über Milch und Milcherzeugnisse sowie über Schlachtvieh- und Fleischbeschau wurden in stichwortartiger Zusammenstellung wiedergegeben, unter Anführung der einschlägigen Artikel der brasilianischen Vorschrift und der entsprechenden Paragraphen der deutschen Gesetzgebung, wobei auf wesentliche Übereinstimmungen und Unterschiede hingewiesen wurde.

Die in der brasilianischen Vorschrift enthaltenen Bestimmungen für Export und Import wurden im Hinblick auf deren praktische Bedeutung zusammenfassend dargestellt.

Die vergleichende Betrachtung hat gezeigt, daß die brasilianische Vorschrift und die entsprechende deutsche Gesetzgebung im wesentlichen von den gleichen Grundsätzen ausgehen, wobei die Anwendung dieser Grundsätze den sehr verschiedenen Voraussetzungen klimatischer, allgemein landwirtschaftlicher und soziologischer Art angepaßt ist. - Prinzipiell verschiedene Auffassungen finden sich nur in wenigen Punkten, auf die jeweils hingewiesen wurde.

Die Erklärung für den sehr hohen Standard der brasilianischen Bestimmungen ist, nach Ansicht des Verfassers, vor allem auf staatsrechtlichem Gebiet zu suchen, weshalb ihre Erörterung den Rahmen dieser Arbeit übersteigen würde.

- 39 -

Literatur.

- 1) American Public Health Association:
Standard Methods for the Examination of Dairy Products. -
8th Ed. 1941
- 2) C a r v a l h o : Tratado de Gallinocultura (Rio de Janeiro 1918)
- 3) E.S.A.V. (Landwirtschaftliche Hochschule in Vazouras, Brasilien):
Skripten über Milchkunde und Molkereiwirtschaft.
- 4) G i l l : Eine Studie über die die Fleischhygiene in USA
betreffenden gesetzlichen Bestimmungen
(Vet.Diss. München 1951)
- 5) Hopfengärtner : Leitfaden der tierärztlichen Lebensmittelüberwachung
Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart 1939)
- 6) K l i m m e r u n d Milchkunde.
S c h ö n b e r g : (Vorlag Richard Schoetz, Berlin 1947)
- 7) Lachen Schmid : Praktikum der tierärztlichen Schlachtier- und
Fleischschau (Ferdinand Enke Verlag, Stuttgart
1943).
- 8) P i ř a : Die Verwertung von Rohstoffen und Abfällen tieri-
schen Ursprungs vom Standpunkt der Hygiene und
Wirtschaftlichkeit (Zvěrolékařský obzor 32 Nr. 7
S 153 - Brünn 1939).
- 9) S c h e l l n e r : Bericht über die Amerikareise 1950 zum Studium
des dortigen Veterinärwesens.
(Tierärztliche Umschau 1951, Nr. 5 - 18).
- 10) S c h ö n b e r g : Die Untersuchung von Tieren stammender Lebens-
mittel.
(Verlag M. und H. Schaper, Hannover 1950).
- 11) Schroeter-Hellich : Das Fleischbeschaugesetz nebst Durchführungsverord-
nung und Ausführungsbestimmungen, sowie den Be-
stimmungen über Kosten und Gebühren.
(Verlag Richard Schoetz, Berlin 1942).

Deutsche Gesetzgebung: Zit. nach Schroeter-Hellich, Lachenschmid,
Klimmer und Schönberg, Schönberg.

Außerdem:

Gesetz über gesetzliche Handelaklassen für Erzeugnisse der Landwirt-
schaft und Fischerei, vom 17.12.1951 (Bundesgesetzblatt I S. 970).

Gesetz über Verkehr mit Vieh und Fleisch, vom 25. April 1951
(Bundesgesetzblatt I S. 272).

Milch- und Fettgesetz, vom 28. Febr. 1951
(Bundesgesetzblatt I S. 135).

Butterverordnung und Käseverordnung, vom 2. 6. 1951
(Bundesanzeiger S. 110).

Eierverordnung vom 19. April 1952
(Bundesanzeiger Nr.77 vom 22.4.1952).

- 41 -

Inhaltsgliederung der brasilianischen Vorschrift für die industrielle und sanitäre Inspektion von Produkten tierischen Ursprungs, nach Dekret Nr. 30 691 vom 23. März 1952 (Diario Oficial, Seção I, Ano XCI - No. 155, p. 10785, vom 7. Juli 1952.)

(Die 245 Schreibmaschinenseiten umfassende Übersetzung dieser Vorschrift wurde der Arbeit als nicht für den Druck bestimmter Anhang beigelegt und kann im Dekanat der tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilian-Universität in München eingesehen werden).

- 42 -

<u>Hauptabschnitt I</u>	:	Einleitende Bestimmungen	(1-19)
<u>Hauptabschnitt II</u>	:	Klassifizierung der Betriebe	(20-31)
Kapitel I:		Betriebe für Fleisch und dessen Derivate	(21-23)
Kapitel II:		Betriebe für Milch und deren Derivate	(24-27)
Kapitel III:		Betriebe für Fische und Fischereiaufbeute sowie deren Derivate	(28)
Kapitel IV:		Betriebe für Eier und deren Derivate	(29)
Kapitel V:		Betriebe für Bienenhonig und Bienenwachs	(30)
Kapitel VI:		Großhandeleinzelhandel	(31)
<u>Hauptabschnitt III</u>	:	Bedingungen für die Betriebsgenehmigung	(32-50)
<u>Hauptabschnitt IV</u>	:	Registrierung und Erfassung von Betrieben	(51-76)
Kapitel I:		Registrierung und Erfassung	(53-73)
Kapitel II:		Übertragung von Registrierung und Erfassung	(74-76)
<u>Hauptabschnitt V</u>	:	Betriebshygiene	(77-101)
<u>Hauptabschnitt VI</u>	:	Verpflichtungen der Firmen	(102-105)
<u>Hauptabschnitt VII</u>	:	Industrielle und sanitäre Inspektion von Fleisch und dessen Derivaten	(106-474)
Kapitel I :		Lebendbeobachtung der Schlachttiere	(106-129)
Kapitel II:		Schlachtung	(130-146)
		Abschnitt I: Notchlachtung	(130-134)
		Abschnitt II: Normale Schlachtung	(135-146)
Kapitel III:		Fleischbeobachtung "post mortem"	(147-248)
		Abschnitt I: Allgemeines-Boviden (Rinderartige)	(147-198)
		Abschnitt II: Einhufer	(199-203)
		Abschnitt III: Schweine	(204-219)
		Abschnitt IV: Schafe und Ziegen	(220-226)
		Abschnitt V: Geflügel und Kleintiere	(227-242)
		Abschnitt VI: Verschiedene Bestimmungen	(243-248)
Kapitel IV:		Eingeweideabteilung	(249-261)
Kapitel V:		Fettverwertungstelle	(262-340)
		Abschnitt I: Allgemeines	(262-265)
		Abschnitt II: Eßbare Fettprodukte	(266-306)

- 43 -

A) Rinderfette	(271-277)
B) Schweinefett	(278-295)
C) Zusammengesetzte Fette	(296-306)
Abchnitt III: Nicht eßbare Fettprodukte	(307-315)
Abchnitt IV: Nicht eßbare Nebenprodukte	(316-340)
Kapitel VI: Margarine	(341-363)
Kapitel VII: Konserven	(364-437)
Kapitel VIII: Fischereiausbeute und Derivate	(438-474)
Abchnitt I: Fischereiausbeute	(438-449)
Abchnitt II: Konserven	(450-471)
Abchnitt III: Nicht eßbare Nebenprodukte	(472-474)
<u>Hauptabchnitt VIII: Industrielle und sanitäre Inspektion der Milch und ihrer Derivate</u>	(475-705)
Kapitel I: Milch im Naturzustand	(475-545)
Kapitel II: Rahm	(546-567)
Kapitel III: Butter	(568-597)
Kapitel IV: Käse	(598-641)
Kapitel V: Dehydrierte Milch	(642-678)
Kapitel VI: Andere Milchprodukte	(679-695)
Kapitel VII: Inspektion der Milch und ihrer Derivate	(696-705)
<u>Hauptabchnitt IX: Industrielle und sanitäre Inspektion von Eiern und deren Derivaten</u>	(706-756)
Kapitel I: Eier im Naturzustand	(706-742)
Kapitel II: Eikonserven	(743-756)
<u>Hauptabchnitt X: Industrielle und sanitäre Inspektion von Bienenhonig und Bienenwachs</u>	(757-772)
Kapitel I: Honig	(757-768)
Kapitel II: Bienenwachs	(769-772)
<u>Hauptabchnitt XI: Gerinnungs-, Konservierungs-, Reifungsmittel und andere</u>	(773-789)
Kapitel I: Gerinnungsmittel	(774-778)
Kapitel II: Konservierungsmittel, Farbstoffe, Gewürze und dergleichen	(779-789)

<u>Hauptabschnitt XII:</u>	Verpackung und Beschriftung	(790-844)
Kapitel I:	Verpackung	(790-795)
Kapitel II:	Beschriftung	(794-844)
Abschnitt I:	Beschriftung im Allgemeinen	(794-810)
Abschnitt II:	Beschriftung im Einzelnen	(811-829)
Abschnitt IV:	Der Inspektionsstempel und sein Gebrauch	(830-833)
Abschnitt V:	Registrierung der Beschriftung	(834-844)
<u>Hauptabschnitt XIII:</u>	Industrielle und sanitäre Nachinspektion von Produkten tierischen Ursprungs	(845-850)
<u>Hauptabschnitt XIV:</u>	Verkehr mit Produkten tierischen Ursprungs	(851-869)
<u>Hauptabschnitt XV:</u>	Laboratoriumsuntersuchungen	(870-875)
<u>Hauptabschnitt XVI:</u>	Vorsüde und Strafbestimmungen	(876-898)
<u>Hauptabschnitt XVII:</u>	Allgemeine und Übergangsbestimmungen	(899-952)

Page Denied

Next 1 Page(s) In Document Denied

1 (P)



STAT

**Die Ferkelsterblichkeit in zwei bayerischen Landkreisen,
ihre Ursachen und die Möglichkeiten ihrer Bekämpfung**

Walter Hölzle

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleissheim
Direktor: Professor Dr. Hugo Grau

Die Ferkelsterblichkeit in zwei bayerischen Landkreisen,
ihre Ursachen und die Möglichkeiten ihrer Bekämpfung.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Walter H ö l z l e
Tierarzt
aus
Tann / Niederbayern

München 1952

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Dr. J. Brüggemann
Referent: Professor Dr. H. Grau

Tag der Promotion: 19.12.1952

U N I - Druck, München 13, Amalienstr. 85

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
Einleitung und Literaturübersicht	1
Eigene Untersuchungen	4
Das Untersuchungsgebiet und seine Schweinezucht	4
Die Erscheinungsbilder der Ferkelsterblichkeit im Untersuchungsgebiet	5
Ursachen der Ferkelsterblichkeit im Untersuchungsgebiet	9
a) Praxisbeobachtungen	9
b) Statistische Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf des Ferkelsterbens zur Ermittlung seiner Ursachen	14
Bekämpfungsmöglichkeiten der Ferkelsterblichkeit im Untersuchungsgebiet	19
Schlussbetrachtung	25
Zusammenfassung	27
Literaturverzeichnis	29

- 1 -

Einleitung und Literatur-Übersicht.

Im Laufe der vergangenen Kriegs- und Nachkriegsjahre haben sich in Deutschland und seinen Nachbarlande Österreich die Ferkelverluste erheblich erhöht. Während vor dem Kriege bei normaler Ferkelaufzucht durchschnittlich 10 - 12% der geborenen Ferkel eingebüßt wurden, haben nach Mitteilungen von P a s c h o r r (39), G r a u (20), L ü b k e (29) und vielen anderen Autoren die Verlustzahlen in den Kriegs- und Nachkriegszeiten eine Höhe von dreissig bis zu achtzig Prozent erreicht, so dass sich der Begriff des Ferkelsterbens gebildet hat.

Von den verschiedensten Seiten wurde das Problem dieser erhöhten Ferkelverluste aufgegriffen und durch zahlreiche Untersuchungen über die Erscheinungsbilder, die Ursachen und die Bekämpfungsmöglichkeiten zu ergründen versucht.

Aus einem Gemisch von klinischen Symptomen, unter welchen Ferkel verschiedenen Alters zugrunde gingen, haben sich in der Hauptsache drei Erscheinungsbilder herausgeschält. Nach Beobachtungen und Untersuchungen in Süddeutschland hat G r a u (20) das Ferkelsterben auf folgende drei Haupterscheinungsformen zurückgeführt:

1. die Neugeborenenkrankheiten des Schweines,
bei denen er "Wasserferkel",
Anämie der Neugeborenen und
cyanotische Ferkel
unterscheidet,
2. die Ferkelruhr,
3. die Ferkelgrippe.

In ähnlichen Einteilungen anderer Autoren wie R o o t s - H a u p t - G e i s a l e r (45) oder G l a s s e r - H u p k a - W e t z e l (18) sind ebenfalls die Ruhr und die Grippe als wichtige Erscheinungsbilder zu finden. An Stelle der Neugeborenenkrankheiten ist aber bei diesen Autoren der Begriff "Lebenschwäche der Ferkel" aufgeführt. G r a u (20) betont jedoch, dass sich aus dem früheren Begriff "Lebenschwäche" ein oder einige wohl charakterisierte Krankheitsbegriffe herausgeschält hätten, welche die Ferkelverluste im unmittelbaren Anschluss an die Geburt betreffen, und bezeichnet diese als Neugeborenenkrankheiten. Eine von R o o t s - H a u p t und G e i s a l e r (45) noch aufgeführte Krankheitsgruppe der Mangelkrankheiten mit Symptomen von Rachitis und Krämpfen dürfte wohl mehr bei

- 2 -

Älteren Ferkeln in Eracheizung treten. Für die Jungferkel ist also trotz verschiedener schematischer Gliederung des Ferkelsterbens tatsächlich eine Dreifaltigkeit von Erscheinungsbildern: die Neugeborenenkrankheiten, die Ruhr und die Ferkelgrippe vorhanden, welche für die hohen Verluste im wesentlichen verantwortlich sind.

Als Ursachen des Ferkelsterbens wurden hauptsächlich schlechte Fütterung, schlechte Haltung und erbliche Einflüsse geltend gemacht. Die Ansichten über die Bedeutung der einzelnen Faktoren sind jedoch nicht einheitlich. Nach P s c h o r r (39) und G r a u (20) gibt es keine Einzelursache, sondern Ursachenkomplexe, welche die hohen Ferkelverluste bedingt haben. Unter ihnen sind als erstes die Fütterungs- und dann die Haltungsfehler von grosser Bedeutung, und ausserdem wirkt oberflächliche und falsche Zuchtwahl ihren Schatten auf das Gedeihen der Ferkel. Auch R o o t a - H a u p t und B e i s l e r (45) kommen in ähnlicher Weise zu der Überzeugung, dass Haltungs- und Fütterungsfehler die Ursachen der Ferkelkrankheiten sind, betonen aber, daß das Vorliegen konstitutioneller Fehler (bedingt durch Inzucht und Inzestzucht) sehr fragwürdig ist. S c h ä p e r (48) und M a i e r (32) dagegen lassen nur erbliche Einflüsse als Ursachen gelten und messen der Fütterung nur eine geringe Bedeutung zu.

Bei den einzelnen Haupterscheinungsformen gelten für das Auftreten der Wasserferkel und der Ferkelruhr Fütterungsfehler als wesentliche ursächliche Faktoren, während die Ferkelgrippe als eine echte Infektionskrankheit betrachtet wird, auf welche allerdings die schlechte Haltung der Tiere einen entscheidenden Einfluss ausübt.

Das mit den hohen Ferkelverlusten in Süddeutschland häufig aufgetretene Erscheinungsbild der Wasserferkel war in seinen Ursachen nicht bekannt und wurde in ziemlich gleichlaufenden Forschungsarbeiten von H a n f - s t i n g l (22), L i e b i e c h (28) und L ü b k e (29) aufgeklärt. Es handelt sich dabei um eine Mangelkrankheit infolge Jod- und Eiweissmangels des Mutterschweines, wodurch es zu einer klinisch latenten Insuffizienz der mütterlichen Schilddrüse kommt. Den Mangel an Schilddrüsenhormonen, insbesondere Thyroxin, kann aber die bereits intrauterin inkretorisch tätige foetale Schilddrüse nicht ausgleichen und so kommt es wie beim kongenitalen Myxoedem des Menschen zur Ausbildung von Ödemen und Haarlosigkeit, die das Krankheitsbild der Wasserferkel hauptsächlich kennzeichnen.

Die Bedeutung der viel erwähnten Fütterungsfehler bei Ferkelruhr unterstreicht R o l l e (44) durch seine neuen Erkenntnisse über die Schädigungen der Darmflora. Durch die Einwirkung der verschiedensten Futtererschädlichkeiten wird das *Bacillus coli* "wild". Es wandert in den Dünndarm und zern-

- 3 -

fällt im Duodenum, wodurch eine chronische Vergiftung des Körpers oder eine Colloptikämie eintritt.

Bei genauer Betrachtung des Schrifttums ist also sowohl aus allgemeinen Urteilen wie aus den Forschungen über die Ursachen der Wasserferkel und die Ferkelruhr eine vorwiegende, die übrigen ursächlichen Faktoren überragende Bedeutung der schlechten Fütterungsverhältnisse für das Ferkelsterben zu erkennen. Von einigen Autoren (z.B. Grau und Weiss) wurde sogar vorausgesagt, dass die Ferkelverluste sich wieder verringern werden, sobald besser gefüttert werden kann.

Auch bei den Bekämpfungsmassnahmen wurde infolgedessen von vielen Autoren die Verbesserung der Fütterung als ein wichtiger Faktor angesehen. Der Mangel an Jod und Eiweiss, welcher zur Entstehung der Wasserferkel führt, ist praktisch nur durch eine bessere Ernährung der Mutterschweine während der Trächtigkeit auszugleichen. Vor einigen Jahren betonten G r a u (20) und W e i s s (53) die Wichtigkeit einer ausreichenden und richtigen Fütterung der Mutterschweine und empfahlen besonders zur Verhütung der Wasserferkel eine weisereiche Ernährung während der Trächtigkeitzeit, wobei nach Möglichkeit jod- und eiweissreiches Fischmehl verwendet werden soll.

Für die Bekämpfung der Ferkelruhr wurde in zahlreichen Literaturangaben auf die Beseitigung von Beifütterungsfehlern und die Verbesserung feuchter und kalter Aufzuchtställe hingewiesen, für die Ferkelgrippe dagegen gilt es seit langer die zuletztgerannten Mißstände zu beseitigen.

Während ich meine Untersuchungen über die Ferkelsterblichkeit in zwei bayerischen Landkreisen im Jahre 1950 begann, waren nach allen Beobachtern dieses Problems die Ferkelverluste bereits im Rückgang begriffen. Nachdem ich durch die Literaturangaben auf die Bedeutung der Fütterung aufmerksam gemacht war, habe ich mir deshalb vorgenommen, dies bei meinen Untersuchungen besonders im Auge zu behalten und nach den Ursachen für den Rückgang der Verluste zu suchen und damit wiederum die Richtigkeit der Prognose zu prüfen, dass bei Besserung der Fütterung das Ferkelsterben zurückgehen werde.

- 4 -

Eigene Untersuchungen.

Auf Anregung von Herrn Professor Dr. H. G r a u habe ich die Fernrelativität in zwei benachbarten bayerischen Landkreisen hinsichtlich ihrer Erscheinungsformen, ihrer Ursachen und der Möglichkeit ihrer Bekämpfung untersucht. Dabei konnte die Bearbeitung der beiden Landkreise im Sinne des Themas in folgenden Punkten erfolgen:

- a) Ermittlungen bei Antiatierärzten und praktischen Tierärzten,
- b) Ermittlungen beim Tierzuchtamt,
- c) eigene Beobachtungen und Behandlungsversuche,
- d) Untersuchung von statistischem Material.

Die Untersuchungen wurden vom Sommer 1950 bis Herbst 1951 durchgeführt.

Das Untersuchungsgebiet und seine Schweinezucht.

Das Untersuchungsgebiet besteht aus den zwei benachbarten bayerischen Landkreisen Altötting und Pfarrkirchen.

Der Landkreis Altötting liegt im Südosten Oberbayerns, seine Kreisstadt ist der bekannte Wallfahrtsort Altötting. Der aus den Alpen kommende Inn durchfließt den Landkreis in östlicher Richtung und die in den Inn mündende Salzach stellt eine natürliche Grenze zum Nachbarland Österreich her. Flacheres und steileres Hügelland ist dicht bestreut mit gräbenteeils einzeln stehenden Bauernhäusern. Ausgedehnte Mischwälder wechseln mit Wiesen und Wäldern ab und geben der Landschaft ein freundliches, abwechslungsreiches Gepräge.

Der benachbarte Landkreis Pfarrkirchen liegt im Regierungsbezirk Niederbayern und erstreckt sich ebenfalls bis zur österreichischen Grenze. Er ist der mittlere der drei Rottaler Kreise Eggenfelden, Pfarrkirchen und Griesbach. Das breite Rottal ist fast ausschliesslich mit fruchtbaren Wiesen und Äckern übersät, welche die Wälder in das nach Norden und Süden sich anschliessende Hügelland verdrängen. Dort ist das Landschaftsbild des des Landkreises Altötting sehr ähnlich.

An den wirtschaftlichen Verhältnissen der beiden Landkreise hat die Landwirtschaft erheblichen Anteil. Bäuerliche Mittel- und Kleinbetriebe mit Viehzucht und -haltung, Acker- und Waldwirtschaft bestimmen das betriebs-

- 5 -

wirtschaftliche Gepräge. Die Viehwirtschaft steht in allen Betrieben der Acker- und Waldwirtschaft gleichbedeutend an der Seite und nimmt im Rottal eine dominierende Stellung ein. Es finden sich dort auch mehr Mittel- als Kleinbetriebe.

Die Schweinezucht der beiden Landkreise baut sich hauptsächlich auf der Rasse des veredelten Landschweines auf, welches in 90% der Betriebe anzutreffen ist. Das Cornwellschwein hat sich während der Vorkriegsjahre in einzelnen Gehöften eingeführt, wird aber kaum rein gezüchtet, sondern mit dem veredelten Landschwein gekreuzt. So mischen sich immer mehr die schwarz-weißen Cornwell-Landschweinbestände unter das rein gezüchtete, veredelte Landschwein. Das deutsche Edelschwein ist in einem Gutabtrieb des Landkreises Altötting vorzufinden.

Planmäßige Zucht wird in beiden Landkreisen fast nur in den Herdbuchbetrieben mit dem veredelten Landschwein durchgeführt. Die meisten bäuerlichen Betriebe verfolgen lediglich eine Schweinevermehrung, ohne ein Zuchtziel anzustreben. Es werden vereinzelt ungekürzte Eber verwendet; lediglich auf die Vermeidung von Inzucht wird im allgemeinen geachtet.

Die Schweine sind durchwegs in Massivställen untergebracht, deren hygienische Verhältnisse in einem Teil der Betriebe sehr im Argen liegen. Solche schlechten Stallungen mit den allbekannten Mängeln ihrer Kälte, Nässe und mangelhaften Belichtung werden nicht nur Mastschweinen, sondern auch Saugferkeln zugesetzt.

Der Auslauf für die Schweine wird in vielen Betrieben noch vermisst. Meist steht dies im Einklang mit mangelhaften Stallverhältnissen. Nur in etwa der Hälfte aller Betriebe dürfte schätzungsweise die reine Stallhaltung durch irgendeine Form des Auslaufes unterbrochen werden. Neben Betrieben mit einem regelrechten Weideplatz werden die Tiere für einige Stunden oder nur kurzzeitig während der Stallreinigung ins Freie gelassen. Während der Wintermonate kommen die Schweine durchwegs nicht aus dem Stall.

Die Erscheinungsbilder der Ferkelsterblichkeit im Untersuchungsgebiet.

Bei den Beobachtungen und Untersuchungen über die Ferkelsterblichkeit des Untersuchungsgebietes konnte ich im wesentlichen die in der Literaturbesprechung festgestellte Dreifaltigkeit der Erscheinungsbilder finden, nämlich die Neugeborenenkrankheiten, die Ferkelruhr und die Ferkelgrippe. Natürlich treten daneben auch noch andere Ferkelkrankheiten auf, wie Einzelfälle chro-

- 6 -

nischer Ferkelpest, anämischer Saugferkel, Wurmbefall und Ähnliches. Diese sollen aber wegen ihrer seltenen Erscheinung nicht gesondert aufgeführt werden, denn sie verursachen insgesamt nur etwa 10 bis 15% aller Ferkelverluste.

Die Ferkelruhr.

Diese nach G r a u (20) verbreitetste Form des Ferkelsterbens in Süddeutschland ist auch im Unterauchungsgebiet in vielen Ställen zu finden. Die Ferkelruhr ist dort die häufigste Ferkelkrankheit und verursacht etwa 55% aller Verluste. Die Krankheit tritt zu den nach R o l l e (44) für die Darmflora kritischen Zeitpunkten der ersten Nahrungsaufnahme und der Futterumstellung, d.h. der Zeit der beginnenden Beifütterung und des Absetzens auf. Am häufigsten sind Durchfallerkrankungen zur Zeit der ersten Beifütterung und daher fallen die meisten Verluste an Ruhr auch in die dritte bis vierte Lebenswoche der Ferkel.

Außer den vielfach beschriebenen Symptomen dieses Krankheitsbildes ist meines Erachtens besonders auf die Beschaffenheit des Kotes zu achten. In den überwiegenden Fällen sind die Darmentleerungen von heller bis gelblicher, grauer Farbe, breiiger Konsistenz, häufig mit Gasbläschen durchsetzt, daher mehr oder weniger schaumig und säuerlich riechend. Weitens seltener sind dunklere, breiige bis flüssige Fäces, die penetrant stinkenden, fauligen Geruch haben. In den häufigeren Fällen sind die Darmentleerungen säuerlich, gärender Natur, seltener herrscht dagegen ein Fäulnisakt vor. Für die diätetische Behandlung dieser Ferkeldiarrhoen ist die Feststellung der eben beschriebenen Unterschiede in den Darmentleerungen von Wichtigkeit. Die Heftigkeit und Hartnäckigkeit der Durchfälle schwanken sehr erheblich, desgleichen auch die Verluste.

Mit dem Rückgang der Ferkelsterblichkeit im Unterauchungsgebiet sind auch die Verluste infolge Durchfallerkrankungen geringer geworden. Die Krankheit tritt zwar heute noch häufig in Erscheinung, wird aber nach allgemein übereinstimmenden Urteilen der Praktiker in milderem Verlauf beobachtet als vor einigen Jahren. Heute können die Verluste wieder lediglich durch medikamentöse Behandlung, Abstellen der Ursachen oder durch sogenannte "Hausmittel" des Landwirtes, wie Tierkohle, Pfefferminz- oder Eichenrindentee auf ein erträgliches Maß reduziert werden. Daneben gibt es aber auch heute noch Ställe, in denen das Leiden so sehr heftig ist, dass es über Jahre hin herrscht, fast sämtliche Würfe befällt und nahezu alle Ferkel als Tribut fordert. Immer wieder müssen dort kümmernde, magere,

- 7 -

struppige Ferkel, mit hartnäckigen Durchfällen und Russ behaftet, abgeschafft werden, weil auch langdauernde Mastversuche ergebnislos geblieben sind.

Die Wasserferkel oder der Hydrops neonatorum.

Dieses Erscheinungsbild gehört zu dem von Gra u (20) geprägten Begriff der Neugeborenenkrankungen des Schweines. Die Wasserferkel als die zweithäufigste Erscheinungsform des Untersuchungsgebietes darzustellen, ist eigentlich etwas willkürlich und gilt deshalb nur für die Hochzeiten des Ferkelsterbens. Kein anderes Erscheinungsbild hat nämlich in Bezug auf die Häufigkeit seines Auftretens während des letzten Jahrzehntes größere Veränderungen erfahren als das der Wasserferkel. Nach Berichten der Praktiker und eigenen Beobachtungen waren sie im Untersuchungsgebiet sehr häufig festzustellen. Doch mit dem Rückgang des gesamten Ferkelsterbens sind auch die Wasserferkel weniger geworden, man kann sagen in parallelem Verlauf hierzu. Sie erfordern heute nur noch etwa 5 - 10% aller Ferkelverluste des Untersuchungsgebietes.

Ihr klinisches Bild ist öfters beschrieben und die Diagnose bereitet keine Schwierigkeiten, falls die kennzeichnenden Ödeme der Haut und Unterhaut deutlich ausgeprägt sind. Die Tierchen bekommen dadurch ein gedunsenes, speckiges Aussehen. Die hydroptischen Schwellungen sind teigig weich und Fingereindrücke bleiben darin eine Zeitlang bestehen. Die Haut erscheint glasig durchscheinend, und die Ferkel haben eine rötliche bis cyanotische Farbe. Haarlosigkeit ist stets vorhanden. Innerhalb eines Wurfes kann die Wasserüchtheit verschieden stark ausgebildet sein und bei milder gut ausgeprägten Symptomen können auch einmal Zweifel bestehen über das Vorliegen eines Wasserferkelwurfes. Bei derartigen Verlusten sollte immer die chronische Ferkelpest ausgeschlossen werden, vor deren Übersehen W i r t h und D i e r n h o f e r (55) eindringlich warnen. Im Untersuchungsgebiet wurde bei einem Wurf mit pathologisch-anatomisch gesicherter chronischer Ferkelpest zuerst die Diagnose "geringgradiger Hydrops neonatorum" gestellt. Erst nach dem Verlust von drei Ferkeln ist die wirkliche Erkrankung erkannt worden.

Mit den Wasserferkeln stehen in enger ätiologischer Beziehung die sogenannten Dickhalsferkel. Diese treten im Untersuchungsgebiet vereinzelt immer wieder auf, verursachen aber infolge der günstig wirkenden medikamentösen Behandlung nur geringe Verluste. Die Ferkel erkranken in der Regel mit einem Alter von 3 - 4 Wochen, selten später. Bis zu dieser Zeit er-

- 8 -

entweder die Tierchen gesund und werden von ihren Besitzern vielfach für schöne, mästige Ferkel gehalten, bei denen lediglich geringe Lebhaftigkeit bemängelt wird. In dem genannten Alter sterben häufig plötzlich ein oder zwei Tiere, welche oft morgens tot im Stall gefunden werden und geben Anlass zur Beiziehung des Tierarztes. Es ist jedoch meist der ganze Wurf, mit nur geringgradigen Unterschieden in der Ausbildung der Symptome, erkrankt. Die trägen Ferkel liegen in der Stallbucht umher, haben nur geringe Sauglust, zeigen einen blöden Blick und einen dicken Nacken mit wurstförmigen Milaten. Insgesamt machen die Tiere einen plumpen, wohlgenährten Eindruck, erscheinen aber bei genauer Betrachtung für ihr Alter klein und kurzkräftig. Sofern solche Ferkel sich selbst überlassen bleiben, sind weitere Todesfälle zu erwarten. Sie sind jedoch mit einer medikamentösen Behandlung zu vermeiden. Die Ferkel gelangen durch sie sogar in der Regel wieder zu normalem Habitus.

Die Ferkelgrippe.

Von den Erkrankungen der Atmungsorgane hat für das Ferkelsterben nur die Ferkelgrippe eine Bedeutung. Gelegentlich vorkommende andere Erkrankungen des Respirationapparates beschränken sich auf einzelne Tiere und rufen keine grösseren Verluste hervor.

Die Ferkelgrippe ist hauptsächlich als die Krankheit grösserer Schweinezuchtbetriebe in Norddeutschland beschrieben worden. Doch auch in den mittelgrossen hiesigen Betrieben ist die Krankheit gar nicht so selten zu finden. Durch Ankauf von hustenden Ferkeln wird sie auch in kleine Betriebe verschleppt. Die Grippe-Symptome wie zeitweiliges Husten, Konjunktivitis und rauhes Haarkleid werden von den Besitzern, denen die Krankheit nicht bekannt ist, anfänglich nicht sehr ernst genommen. Erst wenn sich verminderte Fresslust, der sogenannte Ferkelruus und ein allmähliches Kümern der Tiere einstellen, wachsen die Bedenken um das Gedeihen der Ferkel. Solche kümmernden Tiere werden in der Regel erst nach langen, nicht lohnenden Fütterungsversuchen, Futterwechsel und ähnlichen Mühen geschlachtet und der Schaden ist dann doppelt gross.

Ausser häufigeren Grippeerkrankungen während der kalten Jahreszeit wird die Krankheit in immer gleichem Umfang beobachtet. Sie hat in Bezug auf die Häufigkeit ihres Auftretens während der Zeit des grossen Ferkelsterbens nicht so arge Veränderungen mitgemacht wie die Wasserferkel und verursacht auch heute noch etwa 20% aller Ferkelverluste.

- 9 -

Ursachen der Ferkelsterblichkeit im Untersuchungsgebiet.a) Praxisbeobachtungen.Ursachen der Ferkelruhr.

Für die Entstehung von Ferkeldurchfällen waren Fehler in der Fütterung der Mutterschweine, in der Beifütterung der Ferkel und schlechte Stallverhältnisse festzustellen. Vielfach wirkten diese Ursachen zusammen, denn in Behöften, in denen sich schon der Schweinestall in stark vernachlässigtem Zustand befindet und recht ungünstige Einflüsse für die Ferkel aufweist, wird auch auf eine ordnungsgemäße Fütterung der Schweine wenig geachtet.

Die für Durchfallerkrankungen bedeutenden Fütterungsfehler liegen nicht nur in der häufig erwähnten Beifütterung der Ferkel, sondern mehrmals konnte ich als primäre Ursache eine völlig unzureichende Fütterung der Mutterschweine vor und während der Säugeperiode beobachten. Der Kraftfutterbedarf von 1,5 kg mit ca. 15% Eiweißfutter in den letzten Wochen der Trächtigkeit wurde nur annähernd zur Hälfte erfüllt. Ausserdem wurde noch Grundfutter in Form von Futterrüben, Zuckerrüben oder Kartoffeln eingespart, damit die an sich schon mageren Mutterschweine für die herannahende Geburt nicht zu vollleibig werden. Für den weiteren Futterbedarf in der Säugezeit wurden bei obigem Grundfutter nur etwa 2 kg Futterschrote und etwa ebensoviel Magermilch täglich verfüttert. Die Milchleistung der Mutterschweine war dadurch ungenügend, die hungrigen Ferkel suchten frühzeitig nach Beifutter und nahmen von dem für das Mutterschwein bestimmten Futter auf. Bei den mangelhaft ernährten, in ihrer natürlichen Resistenz geschädigten, erst 10 bis 14 Tage alten Tierchen wirkte sich das für sie ungeeignete Futter besonders ungünstig aus und verursachte heftige Durchfälle. Die ungenügende Milchleistung der Mutterschweine war ferner der Anlass für eine sehr frühzeitige Beifütterung von warmem, suppenartigem Futter, in der Meinung, damit den Ferkeln die Muttermilch ersetzen zu können. Das sehr früh verabreichte Beifutter hat aber ebenso wie die Aufnahme von für das Mutterschwein bestimmtem Futter bei den 10 - 14 Tage alten Tieren zu Durchfällen geführt. In der Beifütterung der Ferkel ergaben sich sehr verbreitete Fütterungsfehler, wie die Verabreichung von bereits angesäuertem Milch oder die Fütterung aus schlecht gereinigten, unhygienischen Behältnissen. Als Ursache der im vorigen Abschnitt beschriebenen stark gärenden, schaumigen, säuerlichen Durchfälle habe ich stets sehr kohlehydrathaltige Futtermittel, meist zusammen mit etwas Kuhmilch vermengt, als Beifutter be-

- 10 -

beachtet. Überreichliche Mengen von gedämpften Kartoffeln, auch Futtermehlen, mit etwas Magermilch versetzt, wurden den Ferkeln gereicht. Dieses Beifutter hat aber den Nachteil, dass es besonders leicht in Gärung gerät und dann als Futterverderb oder schon mit ganz kleinen Mengen leicht angegohrer Milch versetzt ausserordentlich heftige Durchfälle der beschriebenen Art hervorruft. Solch kohlehydratreiches Ferkelfutter trägt aber bei seiner Anwendung mit Milch nicht nur die Gefahr von Gärungsdurchfällen in sich, sondern wird auch dem Nährstoffbedarf der wachsenden, einmischungsartigen Ferkel nicht gerecht.

Die Durchfälle im Abpflur-Alter der Ferkel hatten eine Entwöhnung der Muttermilch schon mit einem Alter von 5 - 6 Wochen und eine sich daran anschliessende Futterumstellung durch den Verkauf der Tiere als Ursache.

Bei allen diesen Ferkeldurchfällen treten nach R o l l e (44) Störungen und Schädigungen der Darmflora mit sich anschliessender Allgemeinerkrankung des Organismus auf. Wie aber in vorhergehenden Kapitel festgestellt wurde, sind die Verluste infolge der Ferkelruhr heute geringer, die Allgemeinerkrankungen und der Verlauf milder und ungefährlicher als vor einigen Jahren. Die Ursachen hierfür sehe ich in dem Wandel von der allgemeinen Mangelfütterung der vergangenen Notzeit - von S o m m e r (50) und E i s m a n n (11) dargestellt - zu einer im allgemeinen befriedigenden Fütterung der Ferkel, lediglich mit einzelnen Fütterungsfehlern wie sie eben beschrieben wurden. Durchwegs werden nämlich heute die Mutterschweine und Ferkel wieder nährstoffreicher, mineral- und vitaminhaltiger gefüttert als vor einigen Jahren. Es gelangen heute wieder mehr Kuhmilch, Futtermittel, tierische Futtermittel, auch Mineralzuzugemische in den Schweinestall, die Ferkel sind resistenter gegen einzelne Fütterungsschäden als vor einigen Jahren, und eintretende Erkrankungen nehmen einen mildereren Verlauf.

Sehr bössartige Durchfälle, welche auch bei der heutigen geringeren Ferkelsterblichkeit beobachtet wurden, hatten ihre Ursache in einem Zusammenspiel sehr knapper Fütterung der Muttertiere, Beifütterungsfehlern und schlechten Stallverhältnissen. In diesen Fällen ist das Leiden über längere Zeit heftig und haftet auch sehr an solchen "Ruhrfällen", Tatsächlich sind dabei die schlechten Stallverhältnisse ein wesentlich ursächlicher Faktor der Erkrankungen, wie ein Beispiel über das Ferkelsterben eines Quetsbetriebes zeigt. Seit langem erkrankten dort die Ferkel im Alter von einigen Wochen an Durchfällen in alten Abferkelstall, welcher die bekannten Mängel eines Betonbodens und von Betonwänden im Verein mit vernachlässigter

- 11 -

Reinigung aufwies. Veranschaulicht man im neuerrichteten Mäststall, welcher die Vorzüge eines Holzbodens und hölzerner Buchtenwände aufwies, zwei Mutterachweine bei reichlicher Einstreu aufzuerkeln. Im Gegensatz zu den vorhergehenden Würfen blieben dort die Ferkel gesund. Als man umgekehrt in einem über ein Jahr lang leergestandenem "Ruhrstall" eines kleinen Bauernhauses die Schweinezucht mit einem trächtigen Mutterschwein aus einem ruhrfreien Bestand wieder aufnahm, erkrankten die Ferkel schon innerhalb der ersten Lebenswoche wieder an Durchfall. Dieser Vorfall ereignete sich in den Sommermonaten, in einer Zeit also, in der sich die Kälte und Feuchtigkeit des Stalles nicht sehr auswirken konnten. Möglicherweise sind es nicht nur die Kälte und Nässe des Stalles, welche immer wieder die Ruhr bedingen, sondern hatten auch die für die normale Darmflora antagonistischen Mikroorganismen (R o l l e) sehr lange und hartnäckig in einem Stall.

Ursachen der Wasserferkel.

Meine Untersuchungen über die Ursachen der Wasserferkel habe ich auf Grund der Forschungsergebnisse von G r a u (20), H a n f s t i n g l (22), L i e b i a c h (26) und L u b k e (29) in erster Linie auf die Fütterung der trächtigen Wasserferkelmütter gelenkt und dabei wiederum auf den Eiweißgehalt der Nahrung besonders geachtet.

Bei 15 Wasserferkelwürfen war 11mal eine sehr eiweißarme Fütterung der Mutterachweine während ihrer gesamten Trächtigkeitzeit festzustellen. In 3 Fällen gelang es nicht, Angaben über die Fütterungsverhältnisse zu erhalten und in 1 Fall lag eine den gewöhnlichen Futteranprüchen eines trächtigen Mutterachweines gerecht werdende Futterzuteilung vor.

In den 11 Fällen handelte es sich durchwegs um eine ausgesprochene Winterfütterung, welche äusserst knapp bemessen, vor allem sehr eiweißarm und miltönig war und ferner mit vitaminarmen Futtermitteln durchgeführt wurde. Ein Teil der Wasserferkel wurde in recht primitiven, kleinen Schweinezuchtbetrieben beobachtet, in denen nur annähernde Gewichtsangaben über die Fütterung zu erfahren waren. Die zur Ernährung der Mutterachweine aller 11 Fälle verwendeten Futtermittel waren vielfach dieselben und beschränkten sich insgesamt auf erstaunlich wenige. Es wurden zerkleinerte Runkelrüben, Zuckerrüben, Kohlrüben, gedämpfte Kartoffeln, gehöckeltes Roggen-, Weizen- oder Gerstenstroh und in einem Fall etwas Kleie als Grundfutter verwendet. Das Beifutter fehlte gänzlich oder bestand aus Weizen-, Gersten-, Hafer- oder Maischrot, auch Weizen- oder Gerstenkleie, jedoch immer nur in Mengen von ein bis einige Handvoll, welche das Gewicht von einem halben Pfund keineswegs

- 12 -

Überschritten haben. Auch geringe Gaben von fragewürdigen Mineralnalgemischen wurden zugefüttert. Die angegebenen kasserat kärglichen Grundfuttermengen schwankten um 5 bis 8 kg Rüben und 1 bis 1/2 kg Kartoffeln, dagegen wurden Strohhäcksel verschiedener Art bis zur Sättigung verwendet. Das in einem Fall einem völlig abgedügten Mutterschwein zusätzlich alle 3 Tage gereichte Kleeheu beschränkte sich auf einige Handvoll und wurde von der Mitte der Trächtigkeit ab wieder entzogen, damit das Schwein ja nicht zu vollleibig werde.

Wenn auch nicht ganz genaue Angaben über das Grundfutter in allen Einzelfällen zu erfragen waren, so ging daraus trotzdem die Eiweissarmut der Nahrung hervor, weil bei nur annähernder Einhaltung der genannten Mengen auch bei volumemässiger Sättigung der Tiere der Eiweissbedarf nicht gedeckt werden konnte. Aus genauen Aufzeichnungen über eine verhältnismässig gute Fütterung einer Wasserferkel-Mutter ergab sich beispielsweise folgender Wert an verdaulichem Reineiweiss:

8 kg Gehalterüben	= 40 g
1 " ged. Kartoffeln	= 11 g
1 - 2 " gehäcks. Weizenschrot	= 6 g
1/4 " Gerstenschrot	= 19 g

76 g verdauliches Eiweiss.

Die für ein trächtiges Mutterschwein nötige Eiweissmenge von täglich 150 bis 200 g wurde daher der Zuchtsau nur knapp zur Hälfte gefüttert.

Ferner enthielten die hauptsächlich verwendeten Futtermittel nicht nur wenig Eiweiss, sondern keines ist ausser dem einmalig verabreichten Kleeheu als wesentlicher Träger eines der wichtigen Vitamine A, B1, B2 und D bekannt.

Im Winterfutter der Wasserferkelmütter fehlten daher besonders eiweiss- und vitaminhaltige Futtermittel, wie sie in Grünfutter aus jungen Pflanzen, Heubinsen, Luzernemehlen und biologisch vollwertigen Eiweissfuttermitteln tierischer Herkunft gegeben sind. Nur eines der 15 Mutterschweine wurde jedoch den gewöhnlichen Futturenprüchen einer trächtigen Zuchtsau einigermaßen entsprechend gefüttert. Es bekam angeblich etwa 5 - 6 kg Kartoffeln und 1/2 kg Roggen- oder Gerstenmische täglich, gelegentlich Magermilch und 20 - 30 g Fischmehl. Von dieser Ausnahme abgesehen lag in den 11 Fällen eine Mangel-fütterung der Mutterschweine vor.

Während in den Kriegs- und Nachkriegsjahren die ungenügende Fütterung der Wasserferkel-Mütter durch die Not der Zeit bedingt war und daraus Krankheitbild viel häufiger als in den letzten beiden Jahren auftrat, ist heute mehr die Unkenntnis des notwendigen Futterbedarfes eines trächtigen Schweines

- 13 -

die Ursache dieser knappen Fütterung und damit der Wasserferkel. Es berichtete ein Bauer, dass er sein Mutterschwein, nachdem es schon einmal so "dicke Ferkel" brachte, noch knapper, nur mit Strohhäcksel und einigen Händen voll Schrot gefüttert habe und trotzdem wiederum Wasserferkel gefallen seien. Der Bauer meinte, dass er, weil so dicke Ferkel fallen, das Mutterschwein während der Trächtigkeit dürftiger füttern müsse. Die Feststellung zu knapper, vor allem eiweißarmer Fütterung der Zuchtsauen deckt sich mit den Darlegungen von G r a u (20), der bereits vor einigen Jahren das vermehrte Auftreten der Wasserferkel während der Kriegsjahre durch folgende Überlegung erklärte: "Die Thyroxinbildung durch die Schilddrüse ist nicht allein von der Jodzufuhr, sondern auch von ganz bestimmter Eiweißzufuhr und manchen Vitaminen abhängig. Im Kriege fehlte das jodhaltige Fischmehl, das eiweißhaltige Fleischmehl und der Lebertran."

Nun sind in der Zwischenzeit die Wasserferkel erheblich in der Zahl gesunken und heute ziemlich selten geworden. Die Ursache hierfür dürfte zweifellos in der heutigen besseren Fütterung der Mutterschweine zu suchen sein. Große Unkenntnisse über die Fütterung eines trächtigen Mutterschweines sind doch nur auf Einzelfälle beschränkt, und so ist mit der Besserung der gesamten Fütterungsverhältnisse, vor allem der reichlicheren Verwendung von Kraftfutter, auch die Ursache für Wasserferkelwürfe beseitigt worden.

In diesem Zusammenhang sind Beobachtungen über den Einfluss der Ernährung auf Schilddrüsenstörungen des Menschen interessant. H a u b o l d (23) hat in einem Artikel "Kropf und soziale Struktur" Beobachtungen seit über 100 Jahren zusammengefasst, wonach in Kropfgebieten verschiedener Länder die obere, guternährte Schicht der Bevölkerung von Kropfveränderungen durchwegs verschont blieb. Die schlecht ernährte, sogenannte Arbeiterklasse ist dagegen an denselben Orten, unter den gleichen klimatischen und biologischen Bedingungen lebend, häufig an kropfigen Schilddrüsenveränderungen erkrankt. Analog der unterschiedlichen, sozial bedingten Ernährungsweise des Menschen war die schlechte Ernährung der Mutterschweine in der vergangenen Notzeit die Ursache für das zeitlich bedingte häufige Auftreten der Wasserferkel, die ja ausnahmslos Schilddrüsenstörungen aufweisen.

Ferner wird, von ursächlichen Fütterungsschäden abgesehen, auf die Möglichkeit hingewiesen, dass eine gewisse Minderwertigkeit der Thyreoidea vererbt werden könne (M u a i l, 35). Sofern man aus solchen Überlegungen an die Abschaffung von Wasserferkelmüttern denkt, ist meines Erachtens in jedem Fall zu prüfen, ob diesem Schwein während seiner Trächtigkeit das Minimum an notwendigen Futterstoffen, insbesondere Eiweiß, gewährt wurde. Bei ausgesprochenem Mangel an Fütterung ist meines Erachtens die Abschaffung einer solchen Wasserferkelmutter nicht unbedingt erforderlich.

- 14 -

Ursachen der Ferkelgrippe.

Wie in der Einleitung bereits dargelegt wurde, kommt als Ursache für die Ferkelgrippe den prädisponierenden Umweltfaktoren grosse Bedeutung zu. Kalte, feuchte und zügelte Stallungen begünstigen die hauptsächlich in Grossbetrieben vorkommende Krankheit ausserordentlich.

Das Auftreten der Ferkelgrippe in den Mittel- und Kleinbetrieben des Untersuchungsgebietes fördern vor allem drei ungünstige Umstände. Einmal wird die Krankheit durch den heute wieder in voller Blüte stehenden Ferkelhandel verbreitet. Ferner sind häufig Massivstallungen vorzufinden, welche die bekannte Mängel ihrer kältestrahlenden Stallwände und der dort herrschenden Feuchtigkeit aufweisen. Schliesslich fehlt in vielen Betrieben der Auslauf. Diese Umstände sind aus wirtschaftlichen Gründen schwer zu beseitigen und sorgen für ständige Krankheitsherde im Untersuchungsgebiet.

Ein Überblick über die Ursachen der einzelnen Erscheinungsbilder ergibt für die Ferkelruhr und die Wasserferkel eine grosse Bedeutung der Fütterung von Mutter Schweinen und Ferkeln. Die Verluste an Wasserferkeln sind fast ausschliesslich, die an Ferkelruhr zu einem erheblichen Teil von einem richtigen, ausreichenden Futter im Schweinestall abhängig. Die Hauptursachen der Ferkelgrippe dagegen liegen in schlechten Haltungsbedingungen der Tiere, ihre Verbreitung ist durch den Ferkelhandel bedingt.

b) Statistische Untersuchungen über den zeitlichen Ablauf des Ferkelsterbens zur Ergründung seiner Ursachen.

Die Ferkelruhr und die Wasserferkel waren in Süddeutschland am meisten an dem vergangenen grossen Ferkelsterben beteiligt und die Hauptursachen ihres Auftretens sind, wie aus dem Vorhergehenden zu ersehen ist, in der Futternot zu suchen. - Um nun die Zusammenhänge zwischen dem häufigen Auftreten dieser Erkrankungen und der Futternot bzw. der ungenügenden Fütterung auch auf andere Weise zu klären, habe ich die Höhe der Ferkelverluste während der letzten 14 Jahre im Untersuchungsgebiet auf Grund statistischer Berechnungen ermittelt.

Es sollten diese Untersuchungen eine rechnerische Ergänzung der eigenen Beobachtungen darstellen und die Frage prüfen, ob eine Parallelität des Ferkelsterbens mit dem Vorherrschen der schlechten Fütterungsverhältnisse aus diesen Ermittlungen abgelesen werden kann.

Den Umfang und den Verlauf der Ferkelverluste habe ich neben mündlichen Mitteilungen hauptsächlich auf Grund der Viehzählungslisten der Landkreise festgestellt und dabei von den vierteljährlichen Zählergebnissen

- 15 -

folgende Daten verwendet:

1. Zahl der Ferkel bis zum Alter von 2 Monaten,
2. Zahl der trächtigen Zuchtschweine.

Mit Hilfe dieser Angaben kann erstens die Zahl der in einem Jahr gezählten Ferkel und zweitens die Zahl der in einem Jahr geborenen Ferkel ungefähr ermittelt werden. Subtrahiert man die gezählten, also wirklich vorhandenen Ferkel von der aus Ziffer 2 errechneten Zahl der Ferkelgeburten bzw. geborenen Ferkel eines Jahres, so erhält man die Verluste.

In einzelnen werden die gezählten und die geborenen Ferkel eines Jahres auf folgende Weise ermittelt:

1. Addiert man die 4 Zählergebnisse der bei den vierteljährlichen Zählungen erfassten Ferkel, so hat man natürlich die Jahressumme. Dabei ist aber folgender Fehler unterlaufen: bei den vierteljährlichen Zählungen werden nur die Ferkel bis zu 2 Monaten gezählt, die Ferkel des 3. Monats bleiben bei jeder Zählung unberücksichtigt. Es werden also bei den vier Zählungen des Jahres nur die Ferkel von 4 x 2, das sind 8 Monaten gezählt.

Um aber wirklich einen Jahreswert zu bekommen, ist zur Summe der vier Zählergebnisse 2 x der Durchschnittswert aus den vier Zählungen des Jahres zu addieren. Dann sind für ein Jahr 6 x 2 Monatswerte anstatt 4 x 2 Monatswerte in Rechnung gestellt.

2. Die Zahl der in einem Jahr geborenen Ferkel erhält man durch folgende Überlegung:

• Ein Mutter Schwein bringt gewöhnlich 2 Würfe im Jahr und ist dabei 8 Monate des Jahres trächtig. Die durchschnittliche Wurfstärke beträgt nach G ö t z e (41) 9 - 10 Ferkel. Multipliziert man Wurfstärke und Wurfzahl mit der durchschnittlichen Zahl der Mutterschweine, so erhält man die im Jahr geborenen Ferkel. Da aber immer ein Teil der gezählten Mutterschweine nicht trächtig wird, liegt hier eine Fehlerquelle und man rechnet besser mit dem Durchschnitt der während des ganzen Jahres trächtigen Mutterschweine, welcher sich aus der Zahl der bei jeder Zählung vorhandenen trächtigen Zuchtsauen leicht ermitteln lässt. Da die Trächtigkeitsdauer rund 4 Monate beträgt, bringt der Durchschnitt der während des ganzen Jahres trächtigen Mutterschweine nicht 2, sondern 3 Würfe im Jahr.

Die Zahl der in einem Jahr geborenen Ferkel ergibt sich dann, indem man den Durchschnitt der während des ganzen Jahres trächtigen Zuchtsauen mit der Wurfzahl 3 und der Wurfstärke von 9 - 10 Ferkeln vervielfacht.

Als Beispiel sei die Berechnung des Jahres 1949 für den Landkreis Pfarrkirchen aufgeführt:

- 16 -

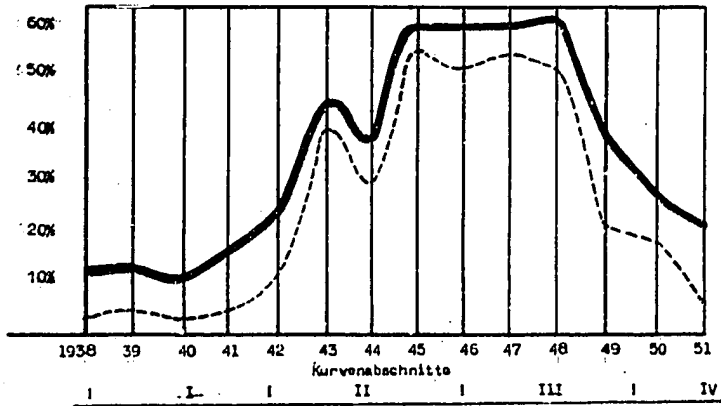
1.	2.
<u>Gezählte Ferkel</u>	<u>Geborene Ferkel</u>
4 142 Die 4 Zähl-	Durchschnitt der während des ganzen
5 657 } ergebnisse	Jahres trächtigen Mutterschweine:
6 123 } des	1 582 Die 4 Zähl-
+ 5 878 } Jahres	1 368 } ergebnisse
21 840	1 184 } des
<u>Mittelwert aus den 4 Zählergebnissen:</u>	<u>+ 1 306</u> Jahres
21 840 : 4 = 5 460	5 440 : 4 = 1 360
<u>Wirklicher Jahreswert:</u>	<u>Zahl der geborenen Ferkel im Jahr:</u>
21 840	1 360 x 3 (Wurfzahl) x 10 (Wurfstärke)
5 460	= <u>40 800</u>
+ 5 460	
<u>32 760</u>	
Der Jahresverlust an Ferkeln ergibt sich aus 2 - 1:	Verlust in %:
40 800	40 800 : 8 040 = 5,0 = <u>20%</u>
-32 760	
<u>8 040</u>	

Selbstverständlich könnte man gegen diese Art der Berechnung manchen Einwand erheben; sie wurde gewählt, trotz des Bewusstseins, dass die Fehlerquellen enthält, jedoch in der Überzeugung, dass aus ihnen sich ergebende Fehler bei Vergleich einer grösseren Anzahl von Jahren immer in gleicher Weise auftreten und so trotzdem einen Anhaltspunkt über die ungefähren Ferkelverluste während der Vorkriegs-, der Kriegs- und der Nachkriegsjahre gestatten.

Die Berechnungen habe ich auf die genannte Zeitpanne ausgedehnt und dabei folgende Ergebnisse erhalten.

<u>Verluste in</u>			
<u>Landkreis Altötting</u>		<u>Landkreis Pfarckirchen</u>	
1938	- 11%	1938	- 2%
1939	- 12%	1939	- 4%
1940	- 9%	1940	- 2%
1941	- 15%	1941	- 4%
1942	- 21%	1942	- 10%
1943	- 43%	1943	- 38%
1944	- 36%	1944	- 28%
1945	- 56%	1945	- 53%
1946	- 58%	1946	- 47%
1947	- 56%	1947	- 52%
1948	- 59%	1948	- 49%
1949	- 36%	1949	- 20%
1950	- 26%	1950	- 16%
1951	- 19%	1951	- 3%

Ein anschauliches Bild dieses Zahlenmaterials ergibt eine graphische Darstellung der Werte jedes Landkreises für sich. Dabei erhält man folgende Verlaufskurven:



- 18 -

Beide Kurven laufen annähernd parallel. Die Kurve P (Pfarrkirchen) liegt 3 - 10% unter Kurve A (Altötting). Der Verlauf beider Kurven lässt sich in 4 Abschnitte gliedern:

- I. Die vor dem Krieg üblichen Verluste steigen bis zum Jahre 1942 leicht an. Die bereits 10% höher liegende Kurve A nimmt dabei einen steileren Verlauf.
- II. Während der Kriegsjahre 1942 - 1945 steigt die Sterblichkeitskurve in steilem Verlauf zu bisher unbekannter Höhe von 53 - 56% an. Die ständig steigende Tendenz der Verluste wird lediglich durch das Jahr 1944 mit einem Rückgang der Verluste um 10% unterbrochen. Die Verluste beider Landkreise nähern sich in diesem Abschnitt einander sehr stark.
- III. Beide Kurven verharren in den Jahren 1945 - 1948 mit geringen Schwankungen auf der von ihnen erklommenen Höhe. Der Landkreis P liegt hier wiederum bis zu 10% unter dem Landkreis A.
- IV. Mit dem scheidenden Jahr 1948 setzt ein starker Rückgang der Verluste ein. Der steile, abfallende Ast beider Kurven erfährt in den Jahren 1950 - 1951 eine Abflachung, gelangt aber im Jahre 1951 bis in die Nähe der Vorkriegsverluste.

Diese Darstellung der Ferkelsterblichkeit im Untersuchungsgebiet gibt ein anschauliches Bild über die Höhe der Verluste während der Kriegs- und Nachkriegsjahre und besagt, dass heute die Zeit des grossen Ferkelsterbens wieder vorbei ist. Der zeitliche Ablauf der Sterblichkeitskurven scheint ein besonderes Kriterium der Ursachen des vergangenen Ferkelsterbens zu sein: Der Anstieg der Verluste während der ständigen Verschlechterung der menschlichen und tierischen Ernährung und ihr Rückgang bei Besserung der Fütterungsverhältnisse kann nur durch die letzteren in der Hauptsache verursacht gewesen sein. Aus dem Verlauf der Kurven ist geradezu abzulesen, dass das vermehrte Ferkelsterben zu dem Zeitpunkte seinen Anfang nahm, in dem die allgemeine Lebensmittelknappheit den Menschen zwang, zur Sicherstellung seiner eigenen Ernährung die Hand auf Nahrungsmittelvorräte zu legen, die sonst der Ernährung der Schweine dienten, und dass es zu dem Zeitpunkt sein Ende nahm, in dem, nach der Währungsreform im Jahre 1948, der Mensch auf dem Gebiet der Ernährung als Konkurrent für das Schwein mehr und mehr ausstie.

Die anderen in der Literatur für das Ferkelsterben genannten ursächlichen Faktoren, wie durch Personalmangel bedingte schlechte Reinigung der Ställe oder oberflächliche Zuchtwahl haben sich in den vergangenen 10 Jahren nicht derart verschlechtert und verbessert, dass sie die Verluste in dem

Ausmaß sowie ihren charakteristischen Verlauf hätten bedingen können. Ferner herrscht noch heute in der Landwirtschaft ein empfindlicher Personal-
mangel und die Stallverhältnisse haben sich ausser einigen Neubauten und Ver-
besserungen wenig geändert.

So hat sich die Ansicht jener Autoren bestätigt, welche das grosse Fer-
kelsterben hauptsächlich durch die damaligen schlechten Fütterungsverhältnis-
se verursacht sehen: Ein Rückgang der Verluste nach Besserung der Fütterung
ist eingetreten.

Bekämpfungsmöglichkeiten der Ferkelsterblichkeit im
Unterauchungsgebiet.

Wenn heute das grosse Ferkelsterben der vergangenen Notzeit wieder
vorüber ist, so bleibt es doch ein ständiges Bestreben des Landwirtes, die
Aufzuchtverluste im Schweinestall so klein wie möglich zu halten. Nur zu
schnell ist die Rentabilität der Schweinezucht durch hohe Ferkelverluste be-
droht, und es gibt heute noch zahlreiche Ställe, in denen die Ferkelverlu-
ste zu hoch liegen.

Für die Bekämpfung dieser auch jetzt noch zu beobachtenden Ferkelver-
luste erachte ich folgende Punkte von Wichtigkeit:

1. Vermeidung von Futterchädlichkeiten für Mutterschweine und Ferkel.
2. Verbesserung der Umwelteinflüsse durch
 - a) Verbesserung der Stallverhältnisse,
 - b) Gewährung von Auslauf.
3. Medikamentelle Maßnahmen.
4. Vermeidung züchterischer Fehler.

Innerhalb der einzelnen Erscheinungsbilder kommt diesen 4 Punkten folgende
Bedeutung zu:

Bekämpfung der Ferkelruhr.

Eine bei der Ferkelruhr vielfach übersehene Bekämpfungsmaßnahme ist,
wie schon hervorgehoben, die richtige Fütterung der trächtigen und säugenden
Mutterschweine. Es soll damit eine ausreichende und vollwertige Säugmilch des
Muttertieres erzielt werden, welche die Widerstandsfähigkeit der Ferkel gegen
Beifutterchäden erhöht. Auf die Erfordernisse in der Fütterung trächtiger
Mutterschweine ist aber im Abschnitt über Wasserferkel noch genauer einzuge-

- 20 -

hen, weshalb hier lediglich auf die Beifütterungsschäden hingewiesen werden soll. Die Beifütterung soll bekanntlich um die 3. Lebenswoche beginnen und am besten in Form von trockenem Gerstenbruch, eine Woche später unter Zusatz dicksaurer Magermilch, gereicht werden. Trotz durch unsachgemäße Fütterung der Ferkel Durchfallerkrankungen auf, so sollte sich der Tierarzt mit medikamentösen Massnahmen allein nicht zufrieden geben. Er sollte mehr als bisher auf gärende oder faulige Beschaffenheit der Darmentleerungen achten, weil sich aus solchen Feststellungen bereits Hinweise für zu kohlehydratreiches oder zu eiweisshaltiges Beifutter ergeben und dadurch eine wichtige diätetische Unterstützung medikamentöser Massnahmen ermöglicht wird.

Stark gärende Durchfälle haben meist sehr kohlehydratreiches Beifutter (z.B. viel Kartoffeln!) zur Ursache, welches häufig mit etwas angereicherter Milch versetzt wurde oder in den Futtertrögen in Gärung geraten ist. Den Besitzern ist dann unbedingt die Abstellung solcher Beifütterung anzuraten. Es sind ihnen eiweissreiche Futterschrote zu empfehlen und es ist darauf zu dringen, die Magermilch nur im dicksauren Zustande zu verwenden, in welchem die Kohlehydrate durch die Milchsäuregärung bereits vergoren sind.

Eine günstige diätetische Wirkung hat bei solchen Gärungsdurchfällen die Verabreichung eines rohen Hühnereidotter gezeigt. Die dünnbreiigen Darmentleerungen verloren dadurch rasch ihren gärenden, schaumigen Charakter, wurden auch feiner und das Allgemeinbefinden der Ferkel hat sich merklich gebessert. Es wurde für 3 Wochen alte Ferkel etwa 1/2 bis 1 Eidotter täglich verordnet und je nach Stärke der Durchfallerscheinungen einen oder mehrere Tage lang gegeben. Geringgradige Durchfälle konnten durch diese Massnahme ohne medikamentöse Hilfsmittel mehrmals beseitigt werden. Die Wirkung des Hühnereidotter dürfte neben seinem Eiweissgehalt, der wohl irgendwie verdauungs-unstimmend wirkt, auf seinen Vitaminreichtum zurückzuführen sein, welcher sich wohl auf das Allgemeinbefinden der Ferkel günstig auswirkt.

Sofern man sich andererseits auf eine medikamentöse Behandlung allein beschränkte, waren die stark gärenden Durchfälle nicht oder nur vorübergehend zu beseitigen.

Bei den selten zu beobachtenden, fauligen, stinkenden Durchfällen ist dagegen Eiweissfutter zu kürzen, sind vor allem tierische Futtermittel einzuschränken, welche vielleicht dem Muttereschwein in zu reichlichem Maße verfüttert wurden.

Ferner bestand Veranlassung, im Untersuchungsgebiet häufig auf die Vermeidung suppiggen Beifutters hinzuweisen, welches nach Z o r n (55) ausgesprochen fehlerhaft ist und gern Tiere mit Entwicklungsmängeln bedingt.

- 21 -

Die Forderungen nach besserer Haltung der Mutterachweine und Ferkel wurden infolge der wirtschaftlichen Schwierigkeiten solcher Massnahmen nur zögernd erfüllt. Es wurde meist anstatt Stallneubauten nur ein Stallwechsel in den Pferde- oder Kuhstall durchgeführt. Die damit erzielten Erfolge waren im ganzen betrachtet nicht sehr überzeugend.

Der Wechsel in den Pferdestall befriedigte nicht. Die dort geborenen Ferkel begannen einige Tage nach der Geburt zu husten und zeigten eine leichte Konjunktivitis. Meist war über die Hälfte eines Wurfs befallen und der Husten verstärkte sich innerhalb einiger Tage. Die Luft des Pferdestalles unterscheidet sich von der anderer Ställe durch ihren hohen Gehalt an Ammoniak, der infolge der leichten Zersetzung des Pferdeharnes entsteht. Das Ammoniak reizt bekanntlich die Schleimhäute der Luftwege. Die hustenden Ferkel wurden in Ställen, in denen 3 und mehr Pferde standen, beobachtet. Die Luft war dort "scharf", wie ein Besitzer sagte. Nachdem der Husten nach Entfernung der Ferkel aus diesen Ställen verschwand, erscheint mir die ammoniakhaltige Luft als Ursache dieses Ferkelhustens. Ein Stallwechsel in den Pferdestall, in dem mehrere Pferde stehen, ist daher nicht empfehlenswert.

Mit der Unterbringung der Mutterachweine im Kuhstall bekommen die dort geborenen Ferkel meist ein wärmeres und trockeneres Lager, welches in der ersten Zeit auch häufiger gereinigt wird. Die Plage leichter, ständiger Ferkeldurchfälle konnte durch diese Massnahme, allerdings verbunden mit prophylaktischen Impfungen von Säuen und Ferkeln, beseitigt werden. In Betrieben mit hartnäckigen, böartigen Durchfällen trat allerdings das Leiden auch im neuen Stall wieder auf. Sofern die Landwirte nicht gleichzeitig mit einer Stallveränderung die anscheinend unumgängliche Behandlung der Muttersau nach R o l l e (44) mit Bierhefe durchzuführen bereit sind, wird das Glück im neuen Stall durch Neuerkrankungen gefährdet bleiben.

An medikamentellen Massnahmen werden prophylaktische Impfungen von trächtigen Mutterachweinen und Ferkeln von den Landwirten immer wieder verlangt. Es werden die stallspezifische Vakzine (Schleissheim) und die weitverbreiteten Präparate wie Suldin, Sulcon, SV 50 (Behring) dazu verwendet. Für die Heilbehandlung dienen Sulfonamide und auch obige Firmenpräparate. Ein dauerhafter Erfolg dieser Massnahmen war bei heftigen Durchfällen von der Beseitigung schwerer Fütterungs- und Haltungsfehler abhängig. Bei Ferkelruhr trotz guter Umwelt- und Fütterungsbedingungen sollten die Beobachtungen E n g e l h a r d t 's (12) berücksichtigt werden, welcher eine Vererbung von Ferkelruhr durch das Vatertier für wahrscheinlich hält. Hier sollte der Tierarzt zum Verzicht eines Erberbesels raten und es nicht bei medikamentösen Massnahmen allein belassen.

- 22 -

Bekämpfung der Wasserferkel.

Trotz der heutigen stabilisierten Fütterungsverhältnisse gibt es vereinzelt immer wieder Wasserferkel. Es müßte sie aber nicht geben, wenn man immer auf eine richtige, ausreichende Fütterung der trächtigen Mutter Schweine achten würde. Zur Verhütung dieser Krankheit ist die Winterfütterung besonders ins Auge zu fassen, da Wasserferkelwürfe in der Regel in den Wintermonaten oder im zeitigen Frühjahr fallen. Wie berichtet, besteht die Winterfütterung im Untersuchungsgebiet grösstenteils aus Rüben, Kartoffeln, Fütterschrot und Mineralsalzgemischen. Um für die Zeit der Geburt möglichst magere Muttertiere zu bekommen, neigen die Schweinezüchter zu allgemein knapper Fütterung während der Trächtigkeitzeit. Sie füttern nicht nur kohlenhydratarm, sondern sparen auch an den eiweisereichen Futtermitteln, und so entsteht leicht eine Eiweissmangelfütterung, wie sie sich bei den beobachteten 11 Wasserferkelwürfen ergeben hat. Diesen Schweinezüchtern ist daher der Futterbedarf trächtiger Zuchtsauen darzulegen und ihnen Verbesserungen ihrer meistenteils auch vitaminarmen Winterfütterung bei geringen materiellen Opfern vorzuschlagen.

Verschiedene auch in den Wintermonaten zugängliche eiweis- und vitaminhaltige Futtermittel kommen nämlich in manchen Betrieben aus "Tradition" nicht in den Schweinestall. Zu ihnen gehören die wertvollen Heublumen, Luzernemehl, Kleieheuhäcksel, Hülsenfruchtschrote, Mohrrüben, wenn vorhanden das sehr eiweis- und vitaminreiche Gähfutter aus jungen Pflanzen und die Bierhefe. Weiterhin sind hier die biologisch vollwertigen, tierischen Eiweissfuttermittel zu nennen, welche ausser der betriebseigenen, wertvollen Magermilch grössere materielle Opfer für den Landwirt bedeuten. Es sind das im wesentlichen die Tierkörpermehle, Blutmehle, Knochenschrote und das von G r a u (20) zur Verhütung von Wasserferkeln empfohlene Fischmehl.

Aus der einen oder anderen genannten pflanzlichen Eiweis- und Vitaminquelle ist bei gleichzeitiger Verwendung von 1 - 2 Litern Magermilch oder 50 - 100 gr der erwähnten tierischen Eiweissfuttermittel der Bedarf eines trächtigen Mutter Schweines von 150 - 200 g verdaulichen Eiweisses ohne grosse Sonderausgaben zu decken. Bei annähernder Einhaltung dieser Futteransprüche wird nicht nur die Entstehung von Wasserferkeln verhindert, sondern sind auch die Voraussetzungen für eine ausreichende Milchleistung zur Gesunderhaltung der Ferkel und Widerstandsfähigkeit gegen Boifütterungsschäden gegeben.

Es wäre sicher eine lohnenswerte Massnahme, wenn in den Landwirtschaftsschulen auf den Futterbedarf trächtiger Mutter Schweine, auf die häufigsten

- 23 -

Fehler bei ihrer Fütterung und auf die noch unausgenutzten eiweiss- und vitaminhaltigen Futtermittel für Mutterschweine hingewiesen würde.

An medikamentösen Massnahmen wurde seit den Ergebnissen der Schilddrüsenuntersuchungen bei Wasserferkeln von L Ü b k o (30), L i e b i s c h (28) und H a n f a t i n g l (22) auf eine prophylaktische Jodmodifikation an trächtige Mutterschweine verwiesen.

Im Untersuchungsgebiet wurden an 6 von 11 Mutterschweinen mit Wasserferkelwürfen in den darauffolgenden beiden Trächtigkeitzeiten prophylaktische Jodgaben von 1 - 3 Tropfen Jodtinktur täglich ins Futter verabreicht. Alle 6 Schweine brachten bei ihren nächsten 2 Würfen wieder gesunde Ferkel. Bei weiteren 3 Mutterschweinen kamen nach Aufklärung ihrer Besitzer über die Futterzuteilungen während der Trächtigkeitzeit ohne Jodgaben ebenfalls nur gesunde Ferkel bei den folgenden zwei Geburten zur Welt. Nur in einem Fall folgte nach einem Wasserferkelwurf im Herbst ein weiterer im späten Frühjahr, nachdem das Mutterschwein noch knapper gefüttert worden war.

Die Jodprophylaxe wurde über zwei Trächtigkeitzeiten hindurch ausgeführt, weil nach Wasserferkelwürfen im Winter auch ohne prophylaktische Jodgaben im folgenden Sommer gesunde Ferkel zu erwarten sind. Wenn auch die übernächsten Würfe während der Wintermonate nach den Jodgaben gesund fielen, so ist das, von dem wenigen Material abgesehen, kein sicherer Beweis für eine gute Wirkung der erwähnten Massnahme. Denn auch bei blosser Besserung der Fütterungsverhältnisse kamen im nächsten Winter gesunde Ferkel zur Welt und mündliche Mitteilungen einiger Praktiker besagen, dass eine Reihe von Mutterschweinen in der Zeit der grossen Ferkelverluste nach Wasserferkelwürfen weiter nur gesunde Ferkel ohne jede Behandlung brachten. Diese Feststellung spricht meines Erachtens ebenfalls für eine weitreichende Bedeutung der Fütterungsverhältnisse zur Verhütung von Wasserferkeln, weil die Fütterung doch dauernden Veränderungen je nach den Futtererträgen eines Jahres unterliegt.

Die günstigen, allerdings insgesamt nur geringen Erfahrungen, die hauptsächlich von L Ü b k o (30) mit der Jodprophylaxe gemacht wurden, geben natürlich Anlass zu ihrer Verwendung. Es erhebt sich aber die Frage, ob sie bei ausreichend eiweissreicher Fütterung der Mutterschweine notwendig ist.

Die Heilbehandlung von Dickhalsferkeln mit Yatron-Vakzine E 104 hatte folgende Ergebnisse: Von 47 behandelten Ferkeln kamen 38 wieder zur Gesundheit und erlangten normalen Habitus. Es war dabei nur eine Injektion von 2 ccm des erwähnten Mittels nötig. Etwa in einem Drittel der Fälle wurde den Tieren 8 Tage nach der Injektion für die Zeit von 14 Tagen täglich

- 24 -

1 - 2 Tropfen Jodtinktur ins Futter verabreicht. Nachdem Dickhalsferkel in der Regel ohne Behandlung verenden, können diese Ergebnisse als günstig bezeichnet werden.

Auch S c h e i b (48) berichtete aus Österreich von guten Ergebnissen bei der Behandlung der Dickhalsferkel mit Yatron-Lösung. Desgleichen konnte B a u m a n n (6) völlige Gesundheit dieser Ferkel mit Thyroson-Tabletten erreichen.

Bekämpfung der Ferkelgrippe.

Das Bekämpfungsverfahren nach W a l d m a n n (51) und K ö b e (25) wird im Untersuchungsgebiet nicht durchgeführt. Es erscheint den Landwirten trotz des damit zu erwartenden Erfolges zu kostspielig und umständlich in seiner Durchführung. Die Ferkelzahl ist in der Regel zu klein als dass sich die erforderlichen Umstände lohnen würden. Daher werden bei Ferkelgrippe höchstens Stallveränderungen, meist in Form von Stallwechsel, durchgeführt. Solche Massnahmen führen, wie ähnliche in der Literatur erwähnte Versuche, natürlich zu keiner Sanierung der Grippebestände. Die Besitzer sehen allerdings einen Wert ihrer Massnahmen, indem das arge Kümmern vermindert wird und die Krankheit einen milderen Verlauf nimmt.

Günstiger als solche Stallveränderungen wirkt sich die Einführung eines gewöhnlichen Auslaufes als Ersatz für das Bekämpfungsverfahren nach W a l d m a n n und K ö b e aus. Gerade in den Grippebeständen, denen durchwegs der Auslauf fehlt, ist unbedingt die Errichtung eines solchen anzuraten und überzeugt die Besitzer bei dieser Krankheit auch von seiner Wirkung. Der Husten der Ferkel wird in der Regel gemindert, ihr Allgemeinbefinden und die Fresslust gebessert, und so kommt wenigstens ein Teil der Tiere aus dem kümmernden Stadium heraus und gelangt zu einer gedeihlichen Entwicklung. In mehreren Gehöften mit Grippebeständen, in welchen die Schweine einen Weideplatz erhielten, hat sich der Ferkelhusten und das Kümmern wesentlich gemildert. Einige Kleinbetriebe haben ihre Schweinehaltung nur auf die Sommermonate mit Weidegang verlegt und sind so der Krankheit Herr geworden.

- 25 -

Schlussbetrachtung.

Mit der vorliegenden Arbeit wurde versucht, zu dem vieldiskutierten Problem der Ferkelsterblichkeit einen Beitrag zu leisten.

Die Untersuchungen über die Ferkelverluste in zwei bayerischen Landkreisen haben gezeigt, dass die abnorm hohe Ferkelsterblichkeit der vergangenen Jahre als eine Zeiterscheinung der Kriegs- und Nachkriegsjahre zu bewerten ist. Die Verluste sind während der Kriegsjahre auf über 50% angestiegen, in den Nachkriegsjahren auf ihrer erklimmenen Höhe verblieben und nach dem Jahre 1948 allmählich wieder zurückgegangen. Die dabei beobachteten Erscheinungsbilder erstrecken sich auch im Untersuchungsgebiet im wesentlichen auf die von G r a u (20) für Süddeutschland genannten Haupterscheinungsformen des Ferkelsterbens, welche nach ihrer Häufigkeit folgendermaßen aufgetreten sind:

1. Ferkelruhr,
2. Neugeborenenkrankungen in Form von Wasserferkeln,
3. Ferkelgrippe.

Für die vieldiskutierte Frage nach den Ursachen des vergangenen hohen Ferkelsterbens und nach den Zusammenhängen zwischen Ferkelsterben und Futtermot ist die zeitliche Häufigkeit des Auftretens der einzelnen Erscheinungsbilder richtungweisend.

In Süddeutschland waren es vor allem die Wasserferkel und die Ferkelruhr, deren Verlustzahlen in den letzten Kriegs- und besonders in den Nachkriegsjahren enorm in die Höhe schnellten, während die Grippekrankungen in ziemlich gleichem Maße anhielten. Von den ersten beiden Erscheinungsbildern sind aber die Wasserferkel fast ausschließlich und die Ferkelruhr zu einem erheblichen Teil durch Fütterungsfehler bedingt. Der parallele Verlauf der Verlustziffern mit den jeweiligen schlechten Fütterungsverhältnissen der vergangenen 10 Jahre lässt die Bedeutung der Fütterung für das Ferkelsterben erkennen; den schlechten Fütterungsverhältnissen ist eine übertragende Bedeutung für das grosse Ferkelsterben zuzusprechen.

In der Bekämpfung der Ferkelsterblichkeit ist viel Aufklärungsarbeit zu leisten, deshalb sollte sich der Tierarzt nicht mit medikamentösen Massnahmen allein begnügen.

Die im Untersuchungsgebiet häufig angetroffenen, recht unklaren und teilweise falschen Vorstellungen der Schweinezüchter über die Fütterung trächtiger Mutterschweine und Ferkel sind unbedingt zu berichtigen, nachdem uns die vergangenen Jahre deren Bedeutung für die Wasserferkel und die Fer-

- 26 -

kelruhr deutlich gezeigt haben. Der Nahrungsbedarf trächtiger Mutterschweine muss in Betrieben mit zu hohen Ferkelverlusten viel mehr beachtet werden. Die Besitzer sind dort über noch unausgenützte, betriebseigene, eiweiss- und vitaminhaltige Futtermittel für ihre Mutterschweine aufzuklären, ihnen bewährtes Beifutter anzuraten und sie auf die Abstellung diesbezüglicher Fütterungsfehler hinzuweisen.

Die Verbesserung der Umweltverhältnisse stösst grösstenteils auf erhebliche wirtschaftliche Schwierigkeiten. Neubauten oder wirklich nutzvolle Verbesserungen schlechter Schweineställe sind den Besitzern zu kostspielig, und so wird als Ersatz gelegentlich ein Stallwechsel durchgeführt. Der Pferdestall hat sich dabei infolge seiner ammoniakhaltigen, die Atemwege der Ferkel reizenden Luft als ungünstig erwiesen. Durch einen Wechsel in den Kuhstall konnten mittelgradige Durchfälle im Verein mit medikamentösen Massnahmen beseitigt und das Klammern der Grippeferkel etwas gemildert werden. Die Einführung eines Auslaufes hatte in Grippebeständen bessere Ergebnisse. Ein Teil der Ferkel hat dadurch sein Klammernstadium überwunden und sich zu schlachtreifen Schweinen entwickelt.

Medikamentöse Behandlungen werden besonders häufig bei Ferkelruhr angewendet. Ihre Erfolge hängen von der Beseitigung schwerer Fütterungs- und Haltungsfehler und ihrer Unterstützung durch diätetische Massnahmen ab. Bei gärenden Durchfällen hat sich die Gabe eines rohen Hühnersidaters günstig auf die Darmentleerungen und das Allgemeinbefinden der Ferkel ausgewirkt. Prophylaktische Jodgeben zur Verhütung der Wasserferkel brachten bei dem geringen Material gute Erfolge, es erhebt sich aber die Frage, ob ihre Anwendung bei guter, eiweissreicher Fütterung der Mutterschweine notwendig ist.

Abchliessend ist zu sagen, dass infolge der schwer zu beseitigenden Fütterungs- und Haltungsfehler weiterhin die Ferkelverluste hauptsächlich in Form von Ferkelruhr und Ferkelgrippe auftreten werden, während mit Wasserferkeln mit dem Vorhandensein von Kraftfuttermitteln nicht mehr in dem bisherigen Ausmass zu rechnen ist.

Z u s a m m e n f a s s u n g .

1. Es wurden Untersuchungen über die Ferkelsterblichkeit in zwei benachbarten bayerischen Landkreisen durchgeführt.
2. Als Erscheinungsbilder des Ferkelsterbens wurden im wesentlichen die von G r a u für Süddeutschland genannten 3 Krankheitsformen beobachtet:
 1. die Ferkelruhr,
 2. die Neugeborenenkrankungen in Form von Wasserferkeln,
 3. die Ferkelgrippe.Besonders das Erscheinungsbild der in der Kriegs- und Nachkriegszeit sehr verbreiteten Wasserferkel ist im Beobachtungsgebiet nach dem Eintreten besserer Fütterungsverhältnisse sehr selten geworden.
3. Die Ursache für das Ferkelsterben der Kriegs- und Nachkriegsjahre bildeten in überragendem Maße die damaligen schlechten Fütterungsverhältnisse.
4. Diese Ansicht wird durch statistische Berechnungen über den Verlauf der Ferkelverluste von 1938 bis Herbst 1951 bestätigt, bei denen sich ein Anstieg der Ferkelsterblichkeit während der Kriegsjahre 1942 - 1945, ein langwährender Höhepunkt mit Verlusten von 49 - 59% in der Zeit von 1945 bis 1948 und ein Rückgang des Ferkelsterbens in den darauffolgenden Jahren bis auf die Vorkriegshöhe ergab.
5. Als Ursache des Rückganges der Ferkelverluste seit dem Jahre 1949 wird die zunehmende Verbesserung der Fütterungsmöglichkeiten angesehen.
6. Alle anderen in der Literatur genannten Ursachen waren für die hohen Ferkelverluste von zweitrangiger Bedeutung.
7. In der Bekämpfung der gegenwärtig, bei normalem Futtervorkommen noch bestehenden Ferkelsterblichkeit sind vor allem Fütterungsfehler und auch Haltungfehler zu beachten. Die Schweinezüchter sind ausserdem über den Nahrungsbedarf und die zweckmässige Fütterung der trächtigen Mutterschweine in den Wintermonaten aufzuklären. Die medikamentöse Behandlung spielt eine sekundäre Rolle.

Page Denied

Next 5 Page(s) In Document Denied

STAT

8



**Die Brauchbarkeit des syrischen Goldhamsters
im Leptospiroseversuch**

Fritz Girbig

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleiachheim
Direktor: Professor Dr. Hugo G r a u
Vorgelegt vom Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Komm. Vorstand: Professor Dr. M. R o l l e

Die Brauchbarkeit des syrischen Goldhamsters im Leptospirose-
versuch.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Fritz Girbig,
appr. Tierarzt

München 1952

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Geheimrat Professor Dr. Dr. R. D e m o l l

Referent: Professor Dr. M. R o l l o

Tag der Promotion: 22.2.1952

U N I - Druck, München 13, Amalienstr. 85

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
A. Einleitung	1
B. Schrifttum	2
C. Eigene Versuche	12
I. Untersuchungen auf Leptospiren beim Hamster	12
a) Mikroskopische Untersuchung	12
aa) Herkunft der Hamster	12
bb) Untersuchungstechnik	12
cc) Ergebnis der Untersuchung	13
dd) Fadenförmige Gebilde	13
b) Serologische Untersuchung	16
aa) Herkunft der untersuchten Hamster	16
bb) Technik der Blutentnahme	16
cc) Ansätze der Blutproben	17
dd) Verwendete Leptospirenstämme	17
ee) Untersuchungsergebnis	19
II. Impfversuche mit Leptospiren	19
Versuchverlauf	21
a) Gruppe I, Impfversuch mit <i>Leptospira icterogenes</i>	26
Ergebnis	27
b) Gruppe II, Impfversuch mit <i>Leptospira pomona</i>	29
Ergebnis	29
c) Gruppe III, Impfversuch mit <i>Leptospira canicola</i>	29
Stamm Utrecht	31
Ergebnis	31
d) Gruppe IV, Impfversuch mit <i>Leptospira canicola</i>	34
Stamm Bella	34
Passage 1	35
Passage 2	37
Passage 3	38
Passage 4	40
Passage 5	41
Kulturversuche	41
Klinische Symptome	42
Sektionsbefund	42
Verhalten der Leptospiren in Organmaterial	43
Untersuchungsergebnis	43

7

Seite:

Nachweis der Leptospiren in der aufbewährten Leber durch den Impfversuch	44
D. Zusammenfassende Beurteilung der Versuchsergebnisse	48
E. Zusammenfassung	51
F. Literaturverzeichnis	52

6

A. Einleitung.

Der syrische Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) wurde im Jahre 1938 in den USA als Laboratoriumstier eingeführt und dort auch erstmalig für Versuchszwecke mit *Leptospiren* verwendet. Infolge der Isolation Deutschlands durch den zweiten Weltkrieg konnte der Goldhamster bei uns erst in den letzten Jahren auf seine Eignung als Versuchstier geprüft werden.

- 2 -

B. Schrifttum.

Nach den Angaben in der Literatur wurden bisher eine ganze Reihe anderer Versuchstiere bei der Leptospiren-Diagnostik verwendet. Als erste berichten U h l e n h u t h und F r o a s e (11) über die Eignung des Meerschweinchens. Sie übertrugen den Erreger der Weil'schen Krankheit des Menschen, die *Leptospira ictero-haemorrhagica*, auf junge Meerschweinchen und konnten dabei beobachten, dass die Infektion ähnliche Symptome wie beim Menschen, Ikterus und Fieber, auslöste. Im Gegensatz dazu gelang es ihnen nicht, bei weissen Ratten durch perorale Gaben infektiösen Materials Krankheitserscheinungen zu bewirken. Unter den Haustieren wurde der Hund von ihnen auf seine Eignung, die Krankheit zu übertragen, geprüft. Ebenfalls mit Hunden stellte W i r t h (35) seine Versuche an. Er erbrachte den Beweis, dass bei Welpen eine Infektion durch Rattenharn, der den Erreger der Stuttgarter Hundeseuche, die *Leptospira canicola*, enthält, per os, subkutan und intraperitoneal möglich ist. Weiterhin beschreibt er den Nachweis der Leptospiren am ersten und zweiten Tag nach der Infektion bei Dunkelfelduntersuchungen des Blutes der Versuchstiere.

Bei diesen Dunkelfelduntersuchungen des Hundematerials fand er neben Leptospiren sog. "Blutfäden". Er weist auf die für den Ungeübten bestehenden Verwechslungsmöglichkeiten mit Leptospiren hin. In Wirklichkeit handelt es sich aber um Fäden, die von Erythrozyten und Leukozyten abgesondert werden. Sie haben keine Eigenbewegung, sondern zeigen nur Molekularbewegung und sind auf Grund dieser Tatsache von Leptospiren zu differenzieren. Ihre Genese ist bisher ungeklärt. W i r t h (34) weist in einer späteren Veröffentlichung noch einmal darauf hin, dass diese Gebilde in jedem Sekret vorkommen. Auch W i t t e (33) erwähnt derartige Beobachtungen. Er schlägt für die Fäden den Namen "Pseudo-Spirochäten" vor, bis ihre Herkunft und Aufgabe geklärt sein wird. Nach seinen Angaben handelt es sich um $1/2 \mu$ dicke Fäden, drei- bis vierfach so lang wie der Durchmesser der Erythrozyten, mit einem leuchtenden Punkt am Ende. Auch er betont, dass ihnen die Eigenbewegung fehlt. A p i n i a (1) beschäftigt sich in einer speziellen Arbeit mit diesen Blutfäden; auch er verzagt ihre Genese nicht zu klären. Unter den Leptospirenforschern sind es besonders R i m p a u (19) und K a l i a h (9), die bei Dunkelfelduntersuchungen diese Blutfäden beobachtet haben und, um dem Ungeübten Verwechslungen zu ersparen, die Unterscheidungsmerkmale gegenüber Leptospiren herausstellten. Nach R i m p a u handelt es sich um flottierende Gerinnsel, die, besonders bei Benutzung der Ölimmersion, mehr-

- 3 -

fach zu Fehldiagnosen geführt haben.

Schumsefelder (Zitat nach Rimpau) erklärt diese Blutfäden als lipoiden Ausströmungen von Erythrozyten oder Gewebezellen. Kallioh beschreibt die Blutgebilde als feine Fäden, die an roten und weissen Blutkörperchen angetroffen werden können. Sie flottieren im Präparat, besonders wenn die Strömung darin noch nicht zur Ruhe gekommen ist, sie seien aber in jedem Falle von den Leptospiren infolge der fehlenden aktiven Beweglichkeit zu unterscheiden. Ausserdem erwähnt er, dass man im Herzblut sowohl gesunder als auch kranker Hunde bald nach dem Tode spirochätenartige Gebilde mit glatten, schlingelnden Bewegungen, sog. Kadaver-Spirochäten, finden könnte. -

Unter den Verfassern, die sich weiterhin in der Leptospirenforschung mit Versuchstieren beschäftigt haben, finden sich u.a. bei Rimpau, Larson (12), Morton (16) und Okansen (17) Angaben über die Eignung des Meerschweinchens. Übereinstimmend kommen diese Autoren zu der Ansicht, dass sich für die Versuche mit der *Leptospira icterogenes* das Meerschweinchen, für Versuche mit der *Leptospira canicola* der syrische Goldhamster eignet. Okansen ist dabei der Ansicht, dass sich das Meerschweinchen in Infektionsversuch in seinen serologischen Reaktionen sehr inkonstant verhält und deshalb nur unter Vorbehalt als Versuchstier zur Differenzierung der Leptospirenarten Verwendung finden sollte. Rimpau betont, dass man für Versuche grundsätzlich nur junge Tiere nehmen müsste. - Unter den schon länger im Laboratoriumsbetrieb verwendeten Tieren wurde auch die weisse Maus zu Versuchen mit Leptospiren herangezogen. Schuffner und Bohlander (25) gewannen die *Leptospira grippotyphosa* aus dem Peritonealpunktat vorher geimpfter weisser Mäuse. Sie vertreten die Ansicht, dass die Maus, was die Empfänglichkeit anbetrifft, anscheinend dem Meerschweinchen gleichwertig, wenn nicht überlegen sei. Blindenhöfer (4) injizierte intraperitoneal verschiedene Kulturen von Leptospiren bei weissen Mäusen und entnahm das Peritonealexsudat nach 30, 60 und 120 Minuten, untersuchte die darin befindlichen Leptospiren mit Hilfe serologischer Methoden und stellte fest, dass diese ihre Antigen-eigenschaften nicht verändert hatten. Ebenfalls verwendete Wagner (30) weisse Mäuse bei Versuchen mit Leptospiren und gibt an, dass man sie gut als Versuchstiere in der Leptospirendiagnostik benutzen könnte.

Erst in neuerer Zeit wurde damit begonnen, mit dem syrischen Goldhamster im Leptospirenlaboratorium zu arbeiten. Zunächst waren es die Amerikaner Morton (16), Larson (12) und Brunner (3), die ihre Erfahrungen bei den Versuchen mit dem Goldhamster veröffentlichten. Ihre Versuche begannen fast immer mit infektiösem Ausgangsmaterial, das

- 4 -

nach längeren Tierpassagen gewonnen worden war. Die Hamster starben, wenn ihnen das Impfmateri al in einer Menge von 0,3 bis 0,5 ccm intraperitoneal verabreicht worden war, innerhalb von 3 bis 4 Tagen. Aus den Arbeiten der genannten Autoren kann man entnehmen, dass durch Tierpassagen die Virulenz der Leptospiren für den Hamster wesentlich gesteigert werden konnte, so dass dadurch auch die sonst für den Hamster weniger pathogene *Leptospira icterohaemorrhagica* s. *icterogenes* genau so virulent wurde wie die *Leptospira canicola*. Unterschiede bestanden lediglich im Sektionsbefund.

L a r s o n und M o r t o n gelang es durch Überimpfung eines Breies aus Leber und Nieren von an akuter Leptospirose gestorbenen Hamstern, eine Reihe von Tierpassagen zu erhalten. Der ziemlich regelmäßig tödliche Verlauf dieser Tierpassagen diente neben der Dunkelfelduntersuchung zur Sicherung der Diagnose. In Deutschland war es zunächst R o l l e (22), der auf die Möglichkeit, den Goldhamster auch für Versuchszwecke mit Leptospiren zu verwenden, hinwies. Auch bei ihm findet sich der Hinweis, dass die Hamster auf Einaprit zungen alter "laboratoriumstüder" Stämme nicht so stark reagieren, wie bei Verwendung virulenteren Materials von leptospirosekranken Tieren. Es gelang R o l l e, nachdem er neben Kulturen auch Blut und Urin eingespritzt hatte, beim Hamster den Ausbruch einer allgemeinen Leptospirose zu bewirken. Nach 30 Tagen wurde der Nachweis von Leptospiren in den Nieren der Versuchstiere geführt. Nun begann man in Deutschland, an mehreren Stellen mit dem Goldhamster im Laboratorium zu experimentieren. Da es sich um ein neues bzw. bisher für Versuchszwecke noch nicht verwendetes Laboratoriumstier handelt, mussten Erfahrungen auch über seine Haltungsweise, Fütterung, Unterbringung usw. gesammelt werden. So finden wir Angaben über die Haltungsweise bei W e a t p h a l (31), S c h u l t e (27) und W u r z e r (35). Die Verfasser stellen fest, dass man Hamster zweckmäßigerweise in festen Boxen oder Kästen unterbringt, da sie sich leicht durch Mauerritzen hindurchnagen. Empfehlenswert sei ferner während eines Versuches die Einzelhaltung, da die Tiere sehr bissig sind und dabei nicht selten ihre Mitgefahrten töten und anfressen (vgl. auch K a l i o h). Bei B i o k e l (3) finden sich Hinweise für die Fütterung. Als Wüstenbewohner bevorzugt der Hamster trockene Nahrung, auch Fleisch nimmt er gern. K a l i o h (9) beschreibt genauer die Herkunft und die ausserordentliche Vermehrung des Hamsters. Danach ist er ein kleiner Verwandter unseres Hamsters, seine Heimat ist Syrien. Ausgewachsen ist er etwa 15 cm lang und 125 g schwer. Er bringt im Durchschnitt pro Wurf 8 Junge.

W e a t p h a l weist des weiteren darauf hin, dass beim Hamster eine Impfung nur intramuskulär möglich sei, subkutan gäbe es Nekrosen, eine

- 5 -

Angabe, die sich auch bei V i a t a c h k o (29) findet. Weitere Erfahrungen mit dem Hamster teilt W e a t p h a l mit: es sei bei ihm nicht möglich, die Körpertemperatur zu messen, da auf Grund der geringen Größe und der grossen Lebhaftigkeit des Tieres die Temperatur zu starken Schwankungen unterliegt; als Impfdosis benötigte man die Hälfte der Menge, die für ein Meerschweinchen gebräuchlich ist. Zur Kennzeichnung der im Versuch stehenden Tiere schlägt V i a t a c h k o die Verwendung kleiner nummerierter Ohrmarken vor, die sich beim Hamster leicht am Grund des Ohres befestigen lassen.

Nach diesen Erfahrungen allgemeiner Art begann man bald darauf, die Eignung des neu eingeführten Versuchstieres in speziellen Untersuchungen zu prüfen. S c h u l t e (27) und V i a t a c h k o (29) impften Hamster mit tuberkulösem Material. Nach Angaben von S c h u l t e reagiert der Hamster sehr rasch auf die Infektion und zeigt schon 12 Tage später tuberkulöse Veränderungen in den regionalen Lymphknoten. V i a t a c h k o kommt auch zu dem Ergebnis, dass der Goldhamster das Meerschweinchen im Tuberkulose-Impfversuch ersetzen kann und bezüglich der zeitlichen Feststellungsmöglichkeit sogar etwas zu übertreffen scheint. W u r z e r (37) schränkt diese Beobachtungen ein und kommt zu dem Schluss, dass der Hamster infolge seiner Resistenzschwankungen gegenüber der Tuberkulose und seiner Empfindlichkeit gegenüber Kontaktinfektionen nicht das geeignete Versuchstier zum Nachweis von Tuberkeln aus fraglichem Untersuchungsmaterial, auf jeden Fall dem Meerschweinchen nicht überlegen sei.

Eingehende und genaue Feststellungen beim Hamster im V e r s u c h mit L e p t o s p i r e n finden sich erst in der Literatur der letzten Jahre. Verschiedene Autoren, wie R i m p a u (19), K ' a t h e (10), L ö l i g e r (13), H u t t a (8) und K a l i o h (9) veröffentlichten Arbeiten über Infektionsversuche beim Goldhamster mit der Leptospira canicola. Der Hamster zeigt nach ihren Angaben typische Veränderungen im Sektionsbefund. Nach K a l i e h findet bei den geimpften Tieren eine Anreicherung der Leptospiren in den Nieren statt. Übereinstimmend weisen die Verfasser darauf hin, dass der Hamster auch bei nur geringem Canicola-Leptospirengehalt in fraglichem Untersuchungsmaterial mit den Symptomen einer akuten Leptospirose reagiert und in den meisten Fällen bei der anschliessenden Untersuchung im Dunkelfeld Leptospiren gefunden werden können.

Diese Dunkelfelduntersuchung ist einfach. Nach R i m p a u werden die Organe, hauptsächlich Leber und Niere, unter sterilen Kautelen entnommen und in steriler Leitungswasser in Petrischalen zerkleinert. Anschließend

- 5 -

untersucht man bei Dunkelfeldbeleuchtung. K a l i c h gibt eine ähnliche Technik an; Er verfährt einen Tropfen Blut oder etwas Organbrei mit der Öse auf einem Objektträger, auf den er vorher 4 Tropfen physiologischer Kochsalzlösung übertragen hat und betrachtet dann unter Benutzung eines Deckglases mit Trockensystem. So fand er bei mit virulentem Hunde-Material geimpften Mäusen massenhaft Leptospiren in Leber und Niere, nach den Angaben von K a l i c h , H u t t a und L ö l i g e r kann man ausserdem noch in anderen Organen Leptospiren finden; Bei Untersuchungen in den ersten Tagen nach der Impfung beim lebenden Tier im Blut und bei an Leptospirose gestorbenen Tieren auch im Peritonealexsudat, in den Lungen, in der Milz und im Gehirn, Neben der Möglichkeit, bei Untersuchungen in diesen Organen Leptospiren zu finden, zeigen sich dort auch die auffallendsten pathologisch-anatomischen Veränderungen. Die oben zitierten Verfasser weisen hierzu, dass sich fast immer Petechien auf den Nieren finden, ausserdem sind die Nieren geschwollen; die Leber ist geschwollen, zeigt anaemische Infarkte, ihre Farbe kann hell, gelblich-braun oder ockerfarben sein. Die Milz sei oft vergrössert und blutgefüllt, ebenso die Lunge. Allgemein ist aus den Veröffentlichungen zu entnehmen, dass akute Leptospirosen innerhalb weniger Tage zum Tode des Versuchstieres führen und immer von ausgeprägten krankhaften Veränderungen begleitet sind, unter denen besonders Petechien auf den Schleimhäuten auffallen. Auch der Nachweis von Leptospiren im Dunkelfeld macht dann keine Schwierigkeiten. Je schneller ein Hamster nach der Impfung stirbt, desto geringer sind die klinischen Symptome ausgeprägt. K a t h e (10) berichtet hierüber, dass vor dem Tod der Hautturgor herabgesetzt ist und die Tiere teilnahmslos im Stall sitzen. -

Die Verimpfung fraglichen Materials sowie auch die künstliche Infektion mit Leptospironkulturen wird nach K a l i c h beim Hamster am besten intraperitoneal vorgenommen. Ebenso verfährt man, wenn man beabsichtigt, eine Reihe von Passagen durchzuführen; auch leptospirenhaltige Hundefurin kann auf diese Weise verimpft werden. Die Impfdosis beträgt dabei 1 ccm.

Für die Diagnosestellung ist weiterhin wichtig, aus einem an Leptospirose gestorbenen Hamster die fragliche Art herauszuzüchten, um sie weiter differenzieren zu können. Dazu muss man die Leptospiren enthaltenden Organe, wie R i p a u (19) schreibt, unter Beachtung steriler Kautelen auf den Nährboden bringen. Man entnimmt dabei dem Versuchstier ein orbengrosses Stück aus Leber und Niere und beimpft eine Reihe von Versuchsörhren, da man immer damit rechnen muss, dass ein Teil der Kulturen durch Begleitbakterien verunreinigt wird. Auf diese Art gelang es auch K a l i c h , von

- 7 -

einem Hund mit Leptospirose auf dem Umweg über den mit Urin geimpften Hamster aus Leber und Niere eine Reinkultur der ursprünglichen Leptospirose zu züchten. Zur Reinigung verunreinigter Kulturen kann man ebenfalls den Hamster verwenden. K a l i o h impfte einen Hamster intraperitoneal mit verunreinigter Kultur und tötete ihn nach 8 Tagen. Nach Abflammen der Bauchseite und vorsichtiger Öffnung der Bauchhöhle brachte er ein Stück der Leber in ein Röhrchen mit Nährbodenflüssigkeit. Nach stätiger Bebrütung und vorsichtiger Weiterverimpfung von 1 cm³ der Kultur auf einen neuen Nährboden gelang es ihm, die ursprüngliche Kultur rein zu erhalten.

Über den bisher erprobten Nährboden hat sich in Deutschland der nach Korthoff mit Zusatz von Kaninchen- oder Hammelserum als der brauchbarste erwiesen. Die Amerikaner verwenden vielfach den Nährboden nach Verwoort (L a e o n , 12). Es handelt sich um ein Mineralsalzgemisch.

Über die Beimpfung des Nährbodens finden wir Angaben bei K a l i o h (9). Seinen Erfahrungen nach hat es keinen Zweck, fragliches Untersuchungsmaterial bzw. verunreinigte Kulturen oder etwa Urin eines kranken Hundes sofort auf den Nährboden zu bringen. Hier kann der Hamster als lebender Filter eingeschaltet werden. Sollten beim ersten geimpften Hamster die Leptospirosefunde bei der Tötung nach 8 Tagen noch zu gering sein, empfiehlt K a l i o h die Überimpfung auf den nächsten Hamster und dann erst das Anlegen einer Kultur. Dadurch würde zwar die endgültige Diagnosestellung hinausgezögert, der Weg wäre aber in jedem Falle der sicherere. Bei R i m p a u und K a l i e h finden sich Hinweise auf das mitunter spärliche Wachstum der Leptospirose in den Nährbodenröhrchen, trotzdem das Impfmateriale bei der Dunkelfelduntersuchung reichlich Leptospirose enthält. R i m p a u betont in diesem Zusammenhang, man müßte immer erst mindestens 10 Tage lang bei einer Temperatur von durchschnittlich 30° C bebrüten, ehe man die endgültige Entscheidung über das Gelingen des Kulturversuches aussprechen kann. K a l i e h (mündliche Mitteilung) ist der Ansicht, dass es zweckmäßig sei, stets eine genaue Kontrolle des pH-Wertes des Nährbodens vorzunehmen und peinlich auf die genaue Einhaltung der für das Wachstum günstigsten Wasserstoffionenkonzentration zu achten.

Über die Resistenz der Leptospirose ausserhalb und innerhalb des Tierkörpers liegen mannigfache Untersuchungen vor. Die Empfindlichkeit der Leptospirose gegenüber sauren und basischen Reaktionen ihrer Umwelt betonen schon U h l e n h u t h und F r o m m e (11). Ebenso berichten sie über die geringe Resistenz des Erregers der Weil'schen Krankheit, der Leptospirose icterohaemorrhagica s. icterogenes gegenüber Eintrocknen und Sonnenlicht. Damit stimmen die Berichte von K a l i o h überein, der empfiehlt, möglichst

- 8 -

frisches Material für die Beimpfung eines Nährbodens zu benutzen. In einer Arbeit, die sich speziell mit der Resistenz der *Leptospira canicola* befasst, benutzte L 8 l i g e r (13) zur Virulenzkontrolle Hamster, nachdem er die zu verimpfenden Leptospienkulturen verschiedenen Einflüssen, wie Hitze und Kälte, Zusatz von Säuren und Basen usw., unterworfen hatte. Der Hamster als Versuchstier zeigte auch denn noch positive Ergebnisse, als die Untersuchung im Dunkelfeld zweifelhafter oder negative Ergebnisse erbrachte. Ferner stellte er fest, dass die Resistenz der Leptospien im uneröffneten Kadaver vom Grad des Fäulnisprozesses abhängig sei. Nach seinen Beobachtungen bleiben die Leptospien im uneröffneten Kadaver bei normaler Temperatur bis zu 48 Stunden am Leben und zeigen nur geringe Verluste in ihrer Beweglichkeit. Nach 72 Stunden sind mikroskopisch keine Leptospien mehr nachzuweisen. Bei Einwirkung wärmerer Temperaturen geht der Zerfall der Leptospien schneller vor sich. Hierbei dienten ihm ebenfalls mit virulenten Kulturen vorbehandelte Hamster als Versuchstiere. Die Tiere wurden, nachdem sie infolge der Infektion gestorben waren, bis zu der mikroskopischen Untersuchung der Organe unter verschiedenen Bedingungen verschieden lange aufbewahrt, um die Resistenz der Leptospien gegenüber Umwelteinflüssen feststellen zu können.

Außer der Untersuchung der Organe geimpfter und nachher getöteter Versuchstiere auf das Vorhandensein von Leptospien im Dunkelfeld und der Kontrolle des Ergebnisses von Impfversuchen mit diesem Organmaterial durch Tierpassagen wandte L 8 l i g e r erstmalig die Untersuchung des Serums der Hamster, die geimpft worden waren, mit Hilfe der Agglutination-Lysis-Reaktion an. Diese Methode war schon bei anderen Tieren erprobt und wissenschaftlich genauer erarbeitet worden. Schon bald nach Entdeckung der *Leptospira icterohaemorrhagica* durch U h l e n h u t h und F r o m m e oder, wie die beiden Forscher sie damals nannten, der *Spirochaeta icterohaemorrhagica*, wurde festgestellt, dass bei den Wasserspirochäten und bei den für das Meerschweinchen pathogenen Weil-Stämmen serologische Varianten oder Typen auftreten. Sie beobachteten dabei das Auftreten von Agglutininen und Lysinen im Krankenserum. Sie verfolgten die Wirkung des Immunserrums auf die "Spirochäten", sahen, dass die Agglutination mit der Lysis einhergeht und dass die Antikörper spezifisch sind. Die Untersuchungen über die Vorgänge bei der Einwirkung des Immunserrums auf die Spirochäten erfolgte im Dunkelfeld. Klarheit über den Ablauf der Reaktionen bei Agglutination und Lysis trat erst durch die Mitteilungen von S c h ü f f n e r und M o c h t e r (24) ein. Danach geht die lysierende Wirkung auf die Leptospien ohne Komplement vor sich; es wird zwar mit aktivem Serum gearbeitet, doch bei den Serum-Verdünnungen, bei denen die Lysis beobachtet wird, nämlich bei 1 : 250, kann man kaum noch von einer Be-

- 9 -

teilung des Komplements an dieser Lysis sprechen. Inaktivierte Seren geben übrigens die gleiche Reaktion wie aktive. Die Verfasser berichten weiterhin, dass die bei den Leptospiren eintretende Lysis und Bakterizidie kein komplexer Vorgang sei, wie er bei den mit Bakterien angewandten Reaktionen zu beobachten ist. Sie vertreten den Standpunkt, dass die Virulenz der Leptospiren zwar schwanken könnte, dass die serologischen Eigenschaften dagegen sehr konstant sein würden und vielleicht die sicherste Handhabe zur Unterscheidung der Arten darstellen. Im Gegensatz dazu meint H o p f e n g ä r t n e r (7), dass auch die serologische Unterscheidung keine in allem befriedigenden Ergebnisse zu liefern vermöge. Über das Geschehen bei der spezifischen Agglutination und Lysis äußert sich auch R i m p a u (20). Die spezifische Serumwirkung zielt auf Zerfall, auf Bildung kleiner Granula (Restkörper) hin. Ein Komplement sei nicht daran beteiligt. Aus seinen Erfahrungen mit dem Serum Feldfieberkranker teilt er mit, dass die Vorgänge bei der Agglutination-Lysis-Reaktion zeitlich hintereinander ablaufen. Die Bindung des Lysins beginnt nach 5 bis 10 Minuten, die Bindung der Agglutinine ist wahrscheinlich langsamer. An anderer Stelle schreibt R i m p a u (19), dass für die Diagnostik der Leptospirose die Agglutination-Lysis-Reaktion mit lebenden Leptospiren die weitaus wichtigste Reaktion sei. Er weist auch auf die Möglichkeit der Beeinträchtigung eines Untersuchungsergebnisses durch die durch Nebenantigene hervorgerufene Mitagglutination hin. Nach seinen Angaben ist entscheidend und auf jeden Fall möglichst genau zu ergründen die Höhe des eigentlichen Titers sowie die Qualität, Quantität und der zeitliche Verlauf der Bildung von Nebenreaktionen. Er erwähnt die Tatsache, dass am Anfang der Erkrankung Mitreaktionen eintreten und höher sein könnten als die Artreaktion.

Zur Frage der laboratorienmässigen Durchführung einer Agglutination-Lysis-Reaktion macht R i m p a u folgende Angaben: Man stelle zunächst die entsprechende Verdünnung des fraglichen Serums her und gebe dann die Leptospirenarten und Unterarten hinzu. Nach 1/2, nach 2 und nach 4 Stunden wird das Ergebnis abgelesen, indem man einen Tropfen des Kultur-Serum-Gemisches mit der Üse entnimmt und im Dunkelfeldmikroskop auf das Vorhandensein von Agglutination und Lysis prüft. Da Agglutinine ausser im Blut auch in der Cerebrospinalflüssigkeit, im Urin, im Kammerwasser und evtl. im Kot zu finden sind, kann die vorgenannte Reaktion auch mit diesen Medien angesetzt werden.

Die Agglutination-Lysis-Reaktion hat nach B l i n d e n h ö f e r (4) besondere Bedeutung bei der Differenzierung der einzelnen Leptospirenarten, die auf Grund ihrer Morphologie allein nicht möglich ist. Dieser serologischen Reaktion sind jedoch auch gewisse Grenzen gesetzt und zwar durch

das Auftreten von gemeinsamen Partialantigenen bei verschiedenen Leptospirenarten. Während eine Canicola-Infektion in den meisten Fällen sicher von einer Weil-Erkrankung serologisch zu trennen ist, ist dies zwischen Weil- und Feldfieber nicht so einfach möglich, weil bei den beiden letztgenannten Antigenen gemeinsame Partialantigene vorkommen, so dass eine Trennung der beiden auf Grund der Titerhöhe nicht möglich ist. Ähnlich wie R i m p a u schreibt auch S c h e r m e r (26), dass bei der Agglutination bei paralleler Anwendung zweier Leptospirenarten entweder der Titer der einen Art den anderen überragt oder die Titer beider Arten infolge der Mitagglutination annähernd gleich hoch gehen. Er empfiehlt in diesem Falle Ababtüftung mit Stämmen verschiedener Arten. Auch er bestätigt, dass das von B l i n d e n h ö f e r erwähnte Vorhandensein gleicher Rezeptoren bei den einzelnen Leptospirenarten möglich ist. W i e s m a n n (32) stellte bei der Untersuchung des Problems identischer Teilantigene fest, dass infolge ihrer Gegenwart im Anfang der Erkrankung die Mitagglutination stärker in Erscheinung treten kann als die spezifische Agglutination, so dass in diesem Krankheitsstadium eine einwandfreie Diagnose nicht gestellt werden kann. Erst im weiteren Verlauf der Krankheit ist infolge der Vermehrung der spezifischen Agglutinine eine Differenzierung möglich.

Über die Höhe des Titers bei an leptospiröse erkrankten Hunden finden sich in der Literatur genauere Angaben bei M e h l s (14). Er untersuchte Blutproben von infizierten Hunden und kam zu der Feststellung, dass infolge der langsam vor sich gehenden Antikörperbildung auch niedrige Serumtiters am Anfang der Erkrankung als positiv bewertet werden können. Bei einer serologischen Kontrolluntersuchung nach ungefähr 8 Tagen könnte man in positiven Fällen infolge vermehrter Antikörperbildung den Titer erheblich angestiegen finden. Dies deckt sich mit den Angaben von R i m p a u (19), der meint, dass man vor dem 8. bis 10. Tage post infectionem keine Antikörper nachweisen könnte. In einer späteren Arbeit behandelt M e h l s (15) die Titerhöhe beim Hund unter Berücksichtigung der Titergrenze und des zeitlichen Ablaufes der Reaktion, sowie das Verhältnis von Krankheitsstadium und Titerhöhe. Im allgemeinen betrachtet man beim Hund eine Titerhöhe von 1 : 500 als positiv.

Über die bei leptospiren-infizierten Goldhamatern vorkommende Titerhöhe sind in der mir zur Verfügung stehenden Literatur praktisch keine stichhaltigen Angaben zu finden. Es liegen keine systematischen Untersuchungen vor, nach denen man, ähnlich wie beim Menschen, beim Hund und z.T. auch bei anderen Tierarten den sog. Grenz- und Endtiter bestimmen kann. Desgleichen fehlen Angaben über das mögliche Auftreten von Normalagglutininen bzw. Normallysen beim Hamster. Lediglich am Rande anderer Untersuchungen bringt

- 11 -

L 8 l i g e r (13) einige Angaben über die Titerhöhe beim Goldhamster. Danach tritt innerhalb eines Zeitraumes von 13 bis 20 Tagen post infectionem mit virulentem *Leptospira-canicola*-Material ein Titer von 1 : 20 bis 1 : 80 auf. H u t t a (8) berichtet ohne Angabe der Titerhöhe über einen Fall, in dem bei einem leptospiruminfizierten Hamster ein "positiver Titer" zu verzeichnen war. Über einen weiteren Fall berichtet er, dass ein nach 6 Tagen gestorbener Hamster, der mit 1 ccm Kultur von *Leptospira canicola* geimpft worden war, bereits einen "Canicola-Titer" gehabt habe. Auch in diesem Fall fehlt die Angabe der Titerhöhe.

So einfach die Blutentnahme bei größeren Laboratoriumstieren ist, so schwierig ist sie beim Hamster durchzuführen; einmal wegen seiner Kleinheit und daher auch der Kleinheit der oberflächlich gelegenen Blutgefäße, zum anderen wegen seiner Angriffslust. Über die Blutentnahme bei Muriden im allgemeinen schreibt R i m p a u (19), dass man nach Abschneiden der Schwanzspitze genügend Blut für die Untersuchung gewinnen kann. Um der Bissigkeit des Hamsters begegnen zu können, hat P f e i f e r (18) eine eigene Versuchstechnik unter Zuhilfenahme der Narkose entwickelt. Er hielt die Tiere mit der Arterienklemme und injizierte an der Innenseite des Hinterschenkels intramuskulär eine zehnfach verdünnte, handelsübliche Pernoclonalösung. Die Dosierung richtete sich nach dem Gewicht. Damit erreichte er eine für die Blutentnahme ausreichende Narkosedauer von 20 bis 30 Minuten. Mit der Wasserstrahlpumpe gelang es ihm, nach Abschneiden der Schwanzspitze und Aufsetzen des Tieres mit dem Hinterteil auf einen Saugkolben, die für die serologische Untersuchung erforderliche Blutmenge zu gewinnen.

Zum Nachweis der weiteren Verwendung des Goldhamsters als Versuchstier, besonders seiner Eignung für den Nachweis einer stattgefundenen Leptospireninfektion, seines serologischen Verhaltens, seines jeweiligen pathologischen Befundes und der entsprechenden Übertragungsmöglichkeiten sollten im Rahmen einer Dissertationschrift an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung Versuche angestellt werden.

- 12 -

C. Eigene Versuche.

I. Untersuchungen auf Leptospiren beim Hamster.

Die Voraussetzung für die Verwendung eines Versuchstieres ist, dass das verwendete Tier frei von jenen Infektionserregern sein muss, deren Feststellung man auf dem Wege über den Tierversuch erreichen will. Auf den Hamster als Versuchstier in der Leptospiren-Diagnostik übertragen, bedeutet dies, dass bei gesunden Hamstern unter allen Umständen eine Infektion mit Leptospiren von vornherein als ausgeschlossen angenommen werden kann.

Um die Möglichkeit des Vorkommens von Leptospiren bzw. einer latenten Leptospireninfektion an nicht geimpften Hamstern auszuschließen, wurden in Reihenuntersuchungen Hamster verschiedener Herkunft sowohl mikroskopisch auf Leptospiren als auch serologisch auf das Vorhandensein von Leptospiren-Antikörpern untersucht.

a) Zur mikroskopischen Untersuchung wurden die Organe von unverdächtigen, nicht geimpften bzw. nicht mit leptospirenhaltigem Material geimpften Hamstern im Dunkelfeld untersucht. Dabei wurden Leber, Niere, Milz, Dünndarm- und Dickdarminhalt, Gehirn und Herzblut berücksichtigt. Es standen mit 75 Hamster verschiedener Herkunft zur Verfügung. Nr. 1 bis 36 der Tiere waren Muttertiere mit Jungen, die infolge einer Erkrankung des Geschlechts aus der Zucht der Anstalt ausgeserzt wurden. Nr. 37 bis 47 waren als Versuchstiere für Abortus-Bang-verdächtige Milchproben verwendet worden. Nr. 48 bis 51 stammten aus der I. Universitätsfrauenklinik München, in der sie zu Versuchen mit Follikelhormon gedient hatten. Nr. 52 und 53 stellte mir das Hygienische Institut der Universität zur Verfügung. Bei diesen wurde die Untersuchung erst 3 Tage nach dem Tode vorgenommen. Nr. 54 war infolge starken Flohbefalls eingegangen, Nr. 55 und 56 starben nach Versuchen mit Chloroform als Narkosemittel, während Nr. 57 bis 59 wegen Überdosierung von Pernocion verendeten. Nr. 60 bis 65 wurden im Anschluss an einen Versuch mit künstlicher Abortus-Bang-Infektion zum Zwecke der Sektion getötet.

Untersuchungstechnik: Die Organe wurden mit der Schere zerkleinert und in Petri-schalen mit sterilem Leitungswasser oder physiologischer Kochsalzlösung verrührt. Ein Tropfen der auf diese Weise gewonnenen Flüssigkeit wurde mit der Öse auf einen gereinigten Objektträger aufgetragen und mit Objektiv 20 ohne Deckglas, in Zweifelfällion mit

- 13 -

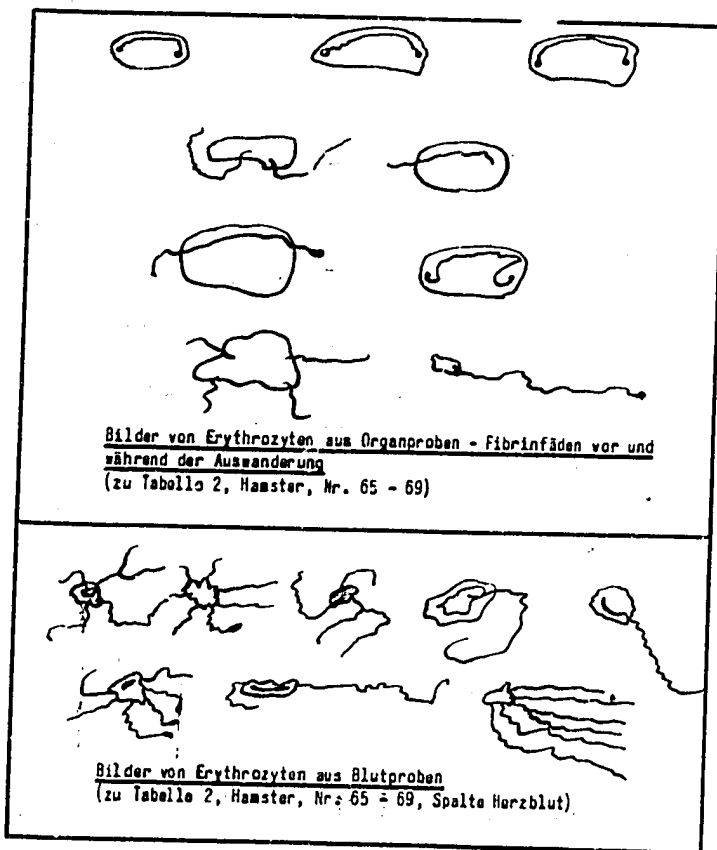
Objektiv 40 und Deckglas untersucht.

E r g e b n i s s der Untersuchungen: Bei sämtlichen auf diese Weise untersuchten Hamstern waren in den Organproben mikroskopisch trotz eifriger Suche keine Leptospiren zu finden.

Es ist zwar bekannt, dass die Leptospiren im Kadaver rasch absterben und dadurch selbst bei Tieren mit einer Leptospireninfektion nicht mehr mikroskopisch nachgewiesen werden können, doch dieser Umstand ist hier nicht anzunehmen, da der größte Teil der Hamster sofort nach der Tötung mikroskopisch untersucht und dabei negativ befunden wurde. Auch ist beachtet worden, dass die Leptospiren in einem ungeeigneten Medium rasch zerfallen und dann nicht mehr auffindbar sind.

Dagegen waren in einigen Präparaten zahlreiche **f a d e n f ö r m i g e G e b i l d e** vorhanden, die in ihrer Form dem ungeübten Leptospiren vortäuschen können; sie traten besonders dann auf, wenn die Tiere nicht sofort nach dem Tode untersucht wurden. Um diesen Befund klären zu können, nahm ich 18 Hamster und untersuchte in Abständen von 24 Stunden jeweils einen Teil von ihnen, während die restlichen Tiere im Kühlschrank aufbewahrt blieben. Aus diesen Untersuchungen ist zu entnehmen, dass die erwähnten Gebilde bis zu 48 Stunden nach dem Tode an Zahl zunehmen, um dann kontinuierlich weniger zu werden. Sie haben keine Eigenbewegung. Ihre Ortsveränderung wird lediglich durch die Molekularbewegung bewirkt. Bei Benutzung eines Deckglases werden sie besonders an dessen Rand gefunden. Man kann vielfach feststellen, wie sie sich mit schlängelnden Bewegungen aus Erythrozyten oder Leukozyten herauswinden, zunächst noch an diesen hängen bleiben und dann selbständig in der Flüssigkeit treiben. Teilweise erfolgte der Austritt aus Zellen des Blutes gleichzeitig an verschiedenen Stellen des Randes. Die sich dabei ergebenden Bilder sind auf Tabelle 1 dargestellt. In Form, Lichtbrechung, Länge und Bewegung können die Fäden sehr verschiedene Bilder zeigen, so dass sich keine Regel aufstellen lässt. Ihre Länge schwankt zwischen 1 bis 5 μ , die Dicke beträgt etwa 0,2 μ . Besonders bei einer Vergrößerung von über 400-fach kann einem ungeübten Untersucher die Unterscheidung dieser Fäden von echten Leptospiren schwerfallen. Die Häufigkeit ihres Vorkommens in den einzelnen Organen ist in Tabelle 2 dargestellt. Danach treten sie am häufigsten in Leber, Niere und Milz auf; sie halten sich am längsten in der Leber. Während am Anfang noch die verschiedensten Formen zu beobachten sind, überwiegen nach einiger Zeit die kurzen Arten. Sie unterscheiden sich in den bereits erwähnten Eigenschaften deutlich von den Leptospiren, so dass bei

Tabelle 1.



- 15 -

Tabelle 2.

Hamster Nr.	Untern. nach.	Leber	Niere	Milz	Dünndarm	Dickdarm	Gehirn	Herzblut
60-64	sofort nach d. Tötung	massenh. Fäden mit W, ohne hellen Punkt am Rand ohne Eigenbewegung, bes. am Rand d. Deckgl.	mittl. u. läng. Eryfäden am Rand d. Deckgl. 3/Ges. zahlr. kl. Fäden mit Korn a. Rand	kl. u. schw. lichtbr. Fäden	Ver-einz. Darm-spi-rochäten	Ascariden	Gariz ver-einz. mittl. Fäden mit dick. Endpunkt u. wenig kurze schw. lichtbr. Fäden	Fäden aller Formen z.T. aus Ery. auswandernd. z.T. ziemlich lang ohne Eigenbewegung
65-69	24 Std. nach d. Tötung eröffnet, im Kühlschränk aufbewahrt	weniger geworden, nur dicke mittl. lg. gut lichtbr. Fäden, in den Randzonen 1/3 Ges. feld an Ery. hängt, z.T. frei schwimmend	dünne schw. lichtbr. an Ery. u. kurze taumelnde Fäden 1/3 Ges. felder	kurz, schw. lichtbr. Fäden wenig vorhanden. Spirochäten mit Strukturschädigung.	z.T. schwach beweglich, z.T. abgestorb. Spirochäten	---	Fäden am Rand des Ges. feldes z.T. einige wie in der Leber	Fäden aus Ery. v. dicker u. länger. Form, z.T. mit Endpunkten
70-74	49 Std. nach d. Tötung eröffnet im Kühlschränk aufbewahrt	dünne schw. lichtbr. Fäden 1/10 Ges. felder vereinz. Ery. mit Fäden	mittl. lg. gut lichtbr. Fäden, Zahl abnehmend	nur bei 2 Hamstern schw. lichtbr. mittl. Fäden	tote, z.T. zerfallene Spirochäten	---	---	wenig Fäden 1/10 Ges. felder Ery. geschrumpft
75-77	72 Std. nach d. Tötung eröffnet im Kühlschränk aufbewahrt	kurze, leb. bewegl. Fäden mit Endpunkt. Bewegung 1/3 Ges. felder	nur in 1 Fall dicke schw. lichtbr. frei schwimm. Fäden	1 lang. Faden, träge in 30 Ges. feldern	---	---	---	---

- 15 -

einiger Erfahrung Verwechslungen leicht vermieden werden können.

b) Serologische Untersuchung. Der negative mikroskopische Organbefund schließt das Vorliegen einer Leptospireninfektion nicht aus, denn besonders bei chronischen Infektionen ist das Auffinden von Leptospiren im Dunkelfeld schwierig, wenn nicht unmöglich. Diesem Umstand Rechnung tragend, wurden unverdächtige Hamster auf das Vorhandensein von Agglutininen und Lyainen geprüft. Dabei wurde durch die Wahl entsprechender Verdünnungen die Möglichkeit des Auftretens von Normalagglutininen bzw. -lyainen in Erwägung gezogen. H e r k u n f t: Die im Versuch gestandenen Hamster stammten aus der Zucht der Anstalt. Der grösste Teil von ihnen war überhaupt vorher nicht geimpft worden, Diese Tiere wurden dann später für den Hauptversuch verwendet.

T e c h n i k der Blutentnahme: Wegen der Bissigkeit der Hamster und ihrer grossen Lebhaftigkeit muss eine Narkose angewandt werden. Es wurde die Methode nach P f e i f f e r (35) gewählt. Die Dosierung des Pernootons wurde etwas höher genommen, als bei Pfeiffer angegeben, um eine grössere Ruhigstellung zu erreichen und auf die Wasserstrahlpumpe verzichten zu können.

Sie richtete sich nach folgendem Schema:

Gewicht des Hamsters	50 g	60 g	70 g	90 g	100 g	120 g
Dosierung des Pernootons	0,7 ccm	0,8 ccm	0,9 ccm	1,1 ccm	1,2 ccm	1,4 ccm

Dosierungsschema.

Die 1%ige Pernootonlösung wurde intragluteal appliziert, der Schwanzansatz nach Eintreten der Narkose, also etwa nach 10 Minuten, geschoren und die Schwanzspitze mit Alkohol hyperaemisiert. Nun wird die Spitze des Schwanzes durch einen Scherenschlag abgeschnitten und das Blut in einem A-Röhrchen aufgefangen. Zweckmässigerweise stellt man das Röhrchen in ein Gestell und legt den Hamster auf einen Karton oder etwas Ähnliches, dessen Rand 1 bis 2 cm höher ist als der obere Rand des Röhrchens. Auf diese Weise gelingt es, im Durchschnitt 1 ccm Blut auch ohne Wasserstrahlpumpe zu gewinnen.

- 17 -

Schwächliche oder kranke Tiere geben weniger Blut, so dass es unter Umständen nicht möglich ist, die für die weitere Untersuchung benötigte Menge Serum zu erhalten. Zur Blutstillung wird nach der Entnahme ein Brandschorf an der Schnittstelle angelegt. Man kann bei einiger Fertigkeit mehreren Hamstern gleichzeitig Blut entnehmen. Die Narkose hält 1 bis 2 Stunden an.

Zur Serumgewinnung wird die Blutprobe nach dem Abstreifen des Blutkuchens zentrifugiert, am besten am darauffolgenden Tage, und mit dem gewonnenen Serum die Agglutination-Lysis-Reaktion angesetzt.

Ansetzen der Blutproben.

Wir unterscheiden dabei Grundverdünnung und Hauptverdünnung. Um die Grundverdünnung zu erhalten, werden 0,1 ccm Serum mit 0,9 ccm Wasser versetzt und nach Durchmischung 0,5 ccm davon in das nächste Röhrchen übertragen, in welches bereits vorher 0,5 ccm Wasser eingefüllt worden war. Wir bekommen auf diese Weise die nächsthöhere Verdünnung, hier 1 : 20. Dieser Vorgang wiederholt sich mehrfach, wobei sich in dem folgenden Röhrchen am Schluss immer die doppelt verdünnte Flüssigkeit befindet wie in dem vorhergehenden. Zur Hauptverdünnung kommt man, wenn man aus den Röhrchen der Grundverdünnung in die entsprechenden der Hauptverdünnung 0,1 ccm überträgt und jeweils 0,1 ccm der Leptospirenkultur hinzugibt. Um diesen Vorgang zu verdeutlichen, ist er in Tabelle 3 aufgezeichnet. Wenn es nötig sein sollte, kann man auch niedrigere Grundverdünnungen ansetzen, wodurch entsprechende Hauptverdünnungen von 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8 entstehen.

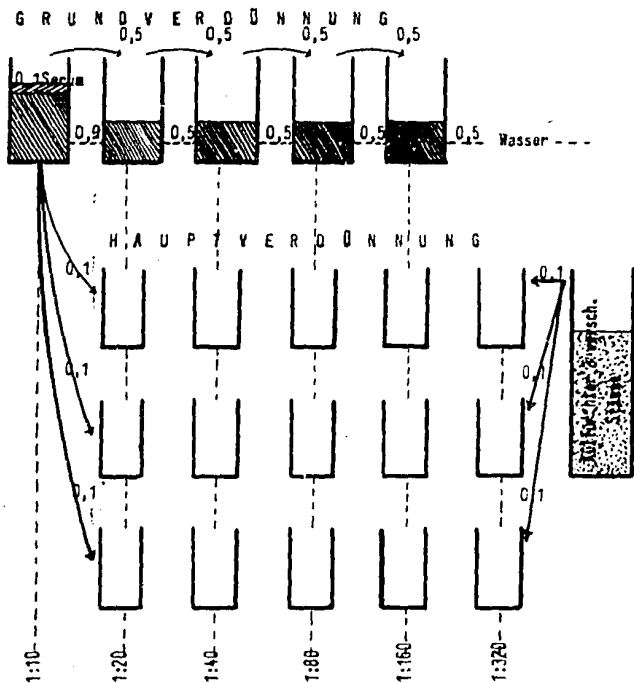
Aus den im Laboratorium vorrätig gehaltenen Leptospirenkulturen wurden 3 Stämme ausgewählt, mit denen die Agglutination-Lysis-Reaktion angesetzt wurde. Es handelt sich um folgende Arten: 1. *Leptospira icterogenes* Stamm Wismar, 2. *Leptospira canicola* Stamm Utrecht und 3. *Leptospira pomona*. Die Kulturen waren auf dem Nährboden nach Korthoff gehalten worden.

Nach 2 Stunden und nach 24 Stunden wurde aus den einzelnen Röhrchen der Hauptverdünnung mit der Öse ein Tropfen auf den Objektträger gebracht und bei Dunkelfeldbeleuchtung auf eine evtl. eingetretene Agglutination oder Lysis untersucht.

Um auf jeden Fall auch sehr niedrige Titer erfassen zu können, wie sie als Normalagglutinine und -lysine hätten vorkommen können, wurden die Anfangstitel klein gehalten.

Tabelle 3.

Verdünnungsschema bei der Aggl.-Lysis-Reaktion



- 19 -

Es wurden mit folgenden Anfangstitern untersucht:

23 Hamster bei 1:1,	1 Hamster bei 1:6,
1 " " 1:2,	6 " " 1:8 und
2 " " 1:4,	32 " " 1:20.

Um den Einfluss einer unspezifischen Infektion auf den Ablauf der Agglutination-Lysis-Reaktion festzustellen, wurden versuchsweise je 6 Hamster mit Coli- und Kokken-Kulturen geimpft; nach 10 Tagen erfolgte die Blutentnahme. Das Serum wurde mit einer Hauptverdünnung 1:1 angesetzt und mit Leptospirenkulturen wie oben versetzt.

E r g e b n i s s : Beim Ablesen der Agglutination-Lysis-Reaktion konnte bei sämtlichen 77 untersuchten Hamstern in keinem Falle eine Agglutination oder eine Lysis festgestellt werden, d.h. mit anderen Worten, beim gesunden Goldhamster scheinen spezifische Leptospiren-Antikörper nicht aufzutreten.

Der negative Ausfall der selbst mit niedrigstem Titer (1:1 bis 1:8) angesetzten Seren lässt vermuten, dass auch das Auftreten von Normalantikörpern bei nicht infizierten Hamstern nicht zu erwarten ist.

Auch die mit Kokken und Coli geimpften Hamster wiesen selbst bei einer Verdünnung 1:1 keine Leptospirenantikörper auf. Wenn auch die geringe Anzahl der verwendeten Tiere für eine endgültige Beurteilung nicht ausreicht, so lässt sich doch mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit folgern, dass unspezifische Infektionen den Ablauf der mit Leptospirenantigenen angesetzten serologischen Reaktion nicht beeinflussen.

Mit dem negativen mikroskopischen Organbefund und dem negativen serologischen Ergebnis ist erwiesen worden, dass der Hamster die an ihn als Versuchstier gestellten Voraussetzungen - frei von Erregern und spezifischen Antikörpern - zu erfüllen scheint.

II. Impfversuche mit Leptospiren.

Um das Verhalten des Hamsters gegenüber einer Leptospireninfektion zu untersuchen, wurden Hamster mit Leptospirenmaterial künstlich infiziert und die Infektion durch weitere Passagen erhärtet.

Es gelangten Hamster zur Verwendung, die sich in oben beschriebenen Versuchsversuch als frei von Leptospirenantikörpern erwiesen hatten. Dabei wurde darauf geachtet, dass möglichst junge Tiere verwendet wurden, durch-

- 20 -

sehrnittelich betrug das Gewicht etwa 70 g.

Als Ausgangsmaterial standen die Stämme: 1. *Leptospira icterogenes* Stamm Wismar, 2. *Leptospira canicola* Stamm Utrecht, 3. *Leptospira canicola* Stamm Balla und 4. *Leptospira pomona* zur Verfügung. Die gut gemischenen Stämme wurden in der Menge von 0,5 ccm intraperitoneal verabreicht.

Zur Nachweis der Bildung von Antikörpern wurde nach etwa 10 Tagen nach der Impfung in der bereits eingangs beschriebenen Weise Blut entnommen und mit dem Serum die Agglutination-Lysis-Reaktion angesetzt. Zur Kontrolle des zeitlichen Verhaltens der Antikörperbildung wurde die Blutentnahme und die serologische Untersuchung nach 17, 24 und 30 Tagen wiederholt. Nach Ablauf von 30 Tagen wurden die Hamster getötet, die Organe mikroskopisch und kulturell auf das Vorhandensein von Leptospiren und serologisch auf das Vorkommen von Leptospirenantikörpern untersucht und auf weitere Hamster verimpft. Ebenso verfahren wurde mit Mäusen, die vor diesem Zeitpunkt gestorben waren. Die serologische Untersuchung der Organe erfolgte in Abänderung der Blutserumuntersuchung in der Weise, dass eine bestimmte Menge des jeweiligen Organs in einer Petrischale mit der Schere zerkleinert, mit einer konstanten Menge physiologischer Kochsalzlösung versetzt und in einem Röhrchen durchgemischt wurde. Das Gemisch wurde zentrifugiert und die oben stehende Flüssigkeit als Ausgangsmaterial für die serologische Reaktion benutzt. Es wurden dabei mit dieser Organflüssigkeit, die hier an Stelle des Serums tritt, entsprechende Verdünnungen angesetzt und Leptospirenkulturen hinzugegeben. Das Ablesen und die Bewertung erfolgte wie bei der Serumuntersuchung. Ähnlich wurde mit dem Darminhalt verfahren, während der Harn wie eine Serumprobe serologisch untersucht wurde. Zur Prüfung des Nachstums wurde ein Stück Leber und Niere unter sterilen Kautelen auf Kurthoff-Nährboden mit Kaninchen-Serum verimpft. Das Ablesen erfolgte zum ersten Mal gewöhnlich nach 4 Tagen, indem ein Tropfen Kulturflüssigkeit im Dunkelfeld untersucht wurde.

Die Hamster wurden in allgemeinen einzeln bzw., wenn sie mit gleichem Material geimpft worden waren, zu zweit in Glasgefäßen gehalten. Dadurch ist eine gegenseitige Infektion vermieden worden.

Die Versuche wurden nach Art der verwendeten Kulturen nach Gruppen zusammengefasst.

- 21 -

V e r s u c h a v e r l a u f .

a) Gruppe I.

4 Hamster wurden mit je 0,5 ccm Kultur von Leptospiira icterogenes Stamm Wiesner intraperitoneal geimpft. Am Tage nach der Impfung zeigten die Tiere ausser einer geringeren Lebhaftigkeit keine Veränderungen. Am 2.Tag wiesen die Hamster wieder normales Benehmen auf. Die am 10.Tag nach der Infektion vorgenommene Blutuntersuchung hatte, wie aus Tabelle 4 zu ersehen ist, folgendes Ergebnis: Beim Anfangstiter von 1:20 war beim Hamster 1 eine deutliche Agglutination (A) und eine schwache Lyais (L) zu sehen. Die A ging bis 1:40. Bei Hamster 2 waren A und L bei 1:20 stärker, bei 1:40 schwächer und endeten bei 1:80. A und L verliefen bei Hamster 3 und 4 ähnlich wie bei Hamster 1, wobei der Endtiter bei Hamster 3 für die A bei 1:40 und für die L ebenfalls bei 1:40 war. Hamster 4 hatte einen Endtiter für A und L bei 1:20.

Bei der zweiten Blutentnahme hatte Hamster 1 einen Endtiter für die A und die L von 1:80, Hamster 2 und 4 ebenfalls, Hamster 3 für die A und L 1:160.

Bei der dritten Blutentnahme, 24 Tage nach der Infektion, hatten Hamster 1, Hamster 2 und 3 einen Endtiter für A und L von 1:320, Hamster 4 einen Endtiter für A und L von 1:160.

Am 30.Tag wurden 3 Hamster des Versuches getötet und das Blut aufgefangen. Der vierte blieb für Kontrollzwecke am Leben (siehe unten). Der S e k t i o n s b e f u n d war ziemlich einheitlich und zwar bestand eine Vergrösserung und Degeneration der Leber.

Die U n t e r s u c h u n g des bei der Tötung aufgefangenen B l u t e s ergab einen durchschnittlichen Endtiter für A und L von 1:640 oder 640/640, d.h. bei einer Verdünnung des Serum von 1:640 war noch Agglutination (A) und Lyais (L) festzustellen - dies war gleichzeitig der höchste Titer, der während dieses Versuches erreicht wurde. Zur deutlichen Veranschaulichung wurden die bei den 3 Hamstern gewonnenen, in der Tabelle 4 festgehaltenen Titerwerte zu einem Durchschnittswert zusammengefasst und in Tabelle 5 in graphischer Form dargestellt. Auf der Abszisse sind die Tage der Blutentnahme, auf der Ordinate die Höhe der Titer verzeichnet. Die aufsteigende Kurve zeigt deutlich das Ansteigen der Antikörper bei den 3 Hamstern bis zum Tage ihrer Tötung.

Tabelle 4.

Die Titerhöhe bei mit *Leptospira icterogenes* Stamm Wismar geimpften Hamstern.

Stand bei der ersten Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:			
		20	40	80	160
1	A	+	+	-	
	L	+	-	-	
2	A	+++	++	+	-
	L	+++	++	+	-
3	A	+	+	-	
	L	+	+	-	
4	A	+	-		
	L	+	-		

Stand bei der zweiten Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:				
		20	40	80	160	320
1	A	++	+	+	-	
	L	++	+	+	-	
2	A	++	++	+	-	
	L	++	++	+	-	
3	A	+	+	+	+	-
	L	+	+	+	+	-
4	A	+	+	+	-	
	L	+	+	+	-	

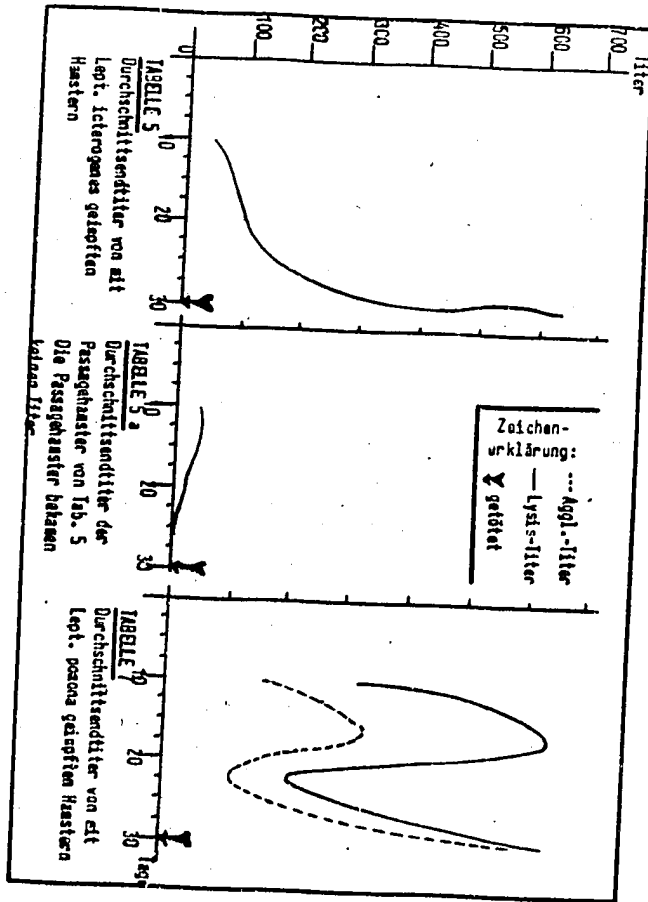
Stand bei der 3. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:					
		20	40	80	160	320	640
1	A	++	++	++	+	+	-
	L	+++	++	+	+	+	-
2	A	+++	++	+	+	+	-
	L	++	++	+	+	+	-
3	A	+++	+++	++	+	+	-
	L	++	+++	++	+	+	-
4	A	+++	++	+	+	-	-
	L	+++	+++	+	+	-	-

Stand bei der 4. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:						
		20	40	80	160	320	640	1280
1	A	++	++	+++	+	+	+	-
	L	++	+++	++	+	+	+	-
2	A	++	+++	+++	++	+	+	-
	L	++	+++	++	+	+	+	-
3	A	++	++	+++	+	+	+	-
	L	++	+++	++	+	+	+	-
4	A	++	++	++	+	+	+	+
	L	++	++	+++	+	+	+	-

Zeichenerklärung: A = Agglutination
 L = Lysis
 + = schwache Agglutination bzw. Lysis
 ++ = starke " " "
 +++ = sehr starke " " "



- 25 -

Die serologische Untersuchung der Organe auf das Vorhandensein von Leptospirenantikörpern ergab bei Hamster 1, 2 und 3 einen Titer für A und L von ungefähr 1:640.

Im Kot konnten bei den 2 untersuchten Fällen weder Agglutinine noch Lygaine festgestellt werden. Der Harn wies in dem einen untersuchten Fall einen Titer von A 1:160 und L 1:40 auf.

Bei der mikroskopischen Untersuchung sämtlicher Organe (Leber, Niere, Milz, Dünndarm- und Dickdarminhalt, Gehirn und Herzblut) wurden in keinem Falle Leptospiren gefunden.

In den mit den Organen der 3 Hamster beimpften Kulturröhrchen konnte kein Wachstum von Leptospiren festgestellt werden, trotzdem von jedem Organ mehrere Röhrchen beimpft worden waren.

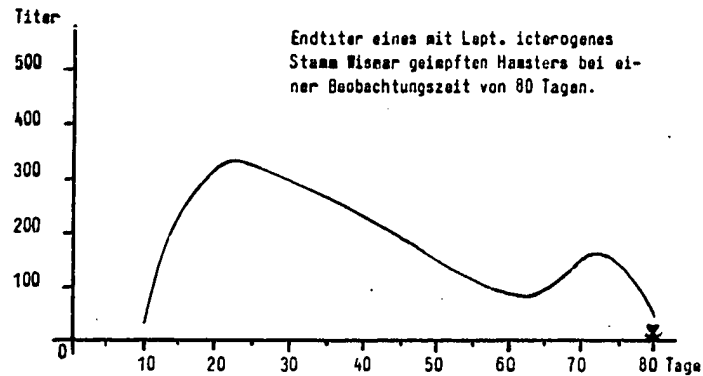
Nachdem durch die serologische Untersuchung des Blutes und der Organe Leptospirenantikörper festgestellt, im Mikroskop jedoch keine Leptospiren gefunden worden waren, wurden von den 3 Hamstern Passagen angelegt. Mit dem Organbrei aus Leber und Niere wurde jeweils 1 Hamster in der Menge von 0,5 ccm intraperitoneal geimpft. Die am 10. Tage nach der Impfung vorgenommene Blutentnahme dieser 3 Passagehamster zeigte einen Durchschnittsendtiter von A 1:80 und L 1:20. Dieser Endtiter sank laufend und wurde am 24. Tag bei einer Verdünnung von 1:20 negativ. Der Verlauf der Titerhöhe ist in der graphischen Aufzeichnung der Tabelle 5a in Durchschnittswerten zu ersehen. Ob es sich hierbei um die aktive Bildung von Antikörpern handelt oder die erwiessenen, niedrigen Blutwerte durch das Übertragen von Immunkörpern zustande kamen, kann hier nicht mit Sicherheit entschieden werden. Die zweite Möglichkeit liegt näher, da der Titer im Gegensatz zu den Hamstern 1 bis 4 laufend sank und schliesslich negativ wurde und in den Organproben der Passagehamster 5 bis 7 mikroskopisch keine Leptospiren nachgewiesen worden waren, als sie nach 30 Tagen getötet wurden. Die Kulturversuche fielen ebenfalls negativ aus.

Weitere Passagen wurden nicht mehr angesetzt.

Der vierte, mit *Leptospira icterogenes* Stamm Wiesner geimpfte Hamster 1 wurde deshalb nicht nach 30 Tagen getötet, wie die drei Paralleltiere, weil er einerseits am 10. Tag nach der Impfung geworfen hatte und die Jungen für weitere Versuche dienen sollten, andererseits um seinen Titer über längere Zeit beobachten zu können. Der Titer des Muttertieres, der bei den Blutentnahmen am 17., 24. und 30. Tag ansteigend bis auf 1:640 für A und L befunden worden war, sank laufend, um am Tage seiner Tötung (80. Tag) für A 1:40 und L 1:20 zu betragen. Der Verlauf der einzelnen Titerwerte während der Beobachtungszeit von 80 Tagen geht aus Tabelle 6 hervor.

- 26 -

T a b e l l e 6.

Titerbeobachtungen über längere Zeit

Der Sektionsbefund auch dieses Hamsters war negativ. In den Organen wurden weder mikroskopisch noch kulturell Leptospiren gefunden. Die im Alter von 8 Wochen untersuchten 4 J u n g e n wiesen keine Agglutinine oder Lysine auf. Sie waren bis dahin mit dem Muttertier zusammengehalten worden. Sie wurden im Alter von 3 Monaten getötet und waren mikroskopisch und kulturell negativ.

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Aus dieser Versuchsgruppe ist zu entnehmen, dass bei Hamstern nach der intraperitonealen Einverleibung von Leptospira icterogenes-Kultur nach 10 Tagen Agglutinine und Lysine sowohl im Frischblut als auch in den Organen mit einem Durchschnittstiter von 1:40 nachweisbar sind. Ihre Zahl wächst bis etwa zum 30. Tag nach der Infektion, um dann kontinuierlich weniger zu werden. Der hierbei beobachtete Höchstititer betrug für A und L 1:640. Dabei war eine, wenn auch schwächere Mitagglutination und -lysis mit der

- 27 -

Art *Leptospira canicola* zu verzeichnen. Ein Nachweis von Leptospiren bei den geimpften Hamstern gelang nicht, weder durch die mikroskopische und kulturelle Untersuchung der Organe, noch durch die Überimpfung auf weitere Hamster. Die einmalige Injektion von 0,5 ccm *Leptospira icterogenes* Stamm Wisnar-Kultur vermochte keine tödliche Infektion herbeizuführen.

b) Gruppe II.

Mit 0,5 ccm Kultur von *Leptospira pomona* wurden 2 Hamster intraperitoneal (i.p.) geimpft. Die Tiere vertrugen die Impfung reaktionslos.

Bei der am 10. Tage nach der Impfung vorgenommenen Blutuntersuchung war im Gegensatz zu den mit *Leptospira icterogenes* Stamm Wisnar geimpften Hamstern gleich ein verhältnismäßig hoher Titer für *Leptospira pomona* vorhanden. Hamster 1 erreichte für A und L einen Endtiter von 1:320, Hamster 2 einen Endtiter für A von 1:320, für L von 1:160. Bei der zweiten Blutentnahme vergrößerte sich der Endtiter (wie aus der Tabelle 8 zu sehen ist) von Hamster 1 und Hamster 2 für A 1:640 und für L 1:640. Bei der dritten, am 24. Tag vorgenommenen Blutuntersuchung war ein geringes Abfallen des Titers zu verzeichnen und zwar für Hamster 1 für A 1:80 und L 1:80, für Hamster 2 A und L 1:160.

Am 30. Tage wurden die beiden Hamster getötet und das Blut aufgefangen. Der Sektionsbefund zeigte lediglich eine geringe Vergrößerung der Leber.

Die Untersuchung des bei der Tötung aufgefangenen Blutes ergab einen Endtiter für Hamster 1 und Hamster 2 für A und L von 1:640. Es ist daraus zu entnehmen, dass die Zahl der Antikörper gegen das Ende der Beobachtungszeit wieder angestiegen ist.

Die serologische Untersuchung der Organe auf das Vorhandensein von *Leptospira pomona*-Antikörpern ergab einen Titer, der mit dem Titer des Blutes übereinstimmte, und zwar bei Hamster 1 und Hamster 2 für A und L von 1:640.

Die mikroskopische und kulturelle Untersuchung der Organe verlief negativ.

Der Übertragungsversuch mit dem Organmaterial der beiden Hamster auf je einen weiteren Hamster verlief negativ, d.h. die bei diesen Passagehamstern durchgeführte Blutuntersuchung war bis zu der am 30. Tage erfolgten Tötung ergebnislos.

Es wurden weder Leptospirenantikörper noch Leptospiren mikroskopisch und kulturell festgestellt.

- 28 -

Tabelle 8.

Die Titerhöhe bei mit *Leptospira pomona* geimpften Hamstern.

Stand bei der 1. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:					
		20	40	80	160	320	640
1	A	+	+	+	+	+	-
	L	+	+	+	+	+	-
2	A	+	+	+	+	+	-
	L	+	+	+	+	+	-

Stand bei der 2. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:						
		20	40	80	160	320	640	1280
1	A	++	++	+++	++	+	+	-
	L	+++	++	+	+	+	+	-
2	A	++	++	++	+	+	+	-
	L	++	+++	++	+	+	+	-

Stand bei der 3. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:				
		20	40	80	160	320
1	A	++	++	+	-	-
	L	+++	++	+	-	-
2	A	++	++	++	+	-
	L	++	++	++	+	-

Stand bei der 4. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:						
		20	40	80	160	320	640	1280
1	A	++	+++	++	++	+	+	-
	L	++	++	++	+	+	+	-
2	A	++	++	++	+	+	+	-
	L	++	+++	++	+	+	+	-

Zeichenerklärung: A = Agglutination + = schwache
 L = Lysis ++ = starke
 +++ = sehr starke
 Agglutination bzw. Lysis

- 29 -

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Der Hamster reagiert auf eine Impfung mit *Leptospira pomona* deutlich und rasch durch einen Agglutinations-Lysis-Titer bis zu 640, trotzdem die Organe mikroskopisch negativ befunden wurden. Andere Erkennungsmöglichkeiten, Sektionsbefund, Überimpfung von Organbrei infizierter Hamster und dergl., versagten. Die verdünnte Dosis von 0,5 ccm der *Pomona*-Kultur führte zu keiner tödlich verlaufenden Infektion des Hamsters. Es gelang in keinem Falle, durch die Passage eine Steigerung der Virulenz der *Leptospira pomona* gegenüber dem Hamster herbeizuführen, im Gegenteil, die Versuchstiere der Passage zeigten keinerlei Reaktion.

Der Versuch, aus Leber und Niere auf dem Nährboden nach Korthoff eine Reinkultur des geimpften Stammes zurückzugewinnen, misslang.

Eine Mitagglutination gegenüber *Leptospira icterogenes* und *Leptospira canicola* besteht nicht.

Auf weitere Passagen wurde auf Grund dieser Ergebnisse verzichtet.

c) Gruppe III.

Nachdem der Hamster auf die Einverleibung von *Leptospira icterogenes* und *pomona* nur mit der Bildung von Antikörpern reagiert hatte, eine tödliche Infektion jedoch nicht zustande kam, wurde sein Verhalten gegenüber *Canicola*-Stämmen geprüft.

Zwei mit *Lept. canicola* Stamm Utrecht in der Menge von 0,5 ccm i.p. infizierte Hamster zeigten keinerlei klinische Symptome.

Die am 10. Tag erfolgte Blutuntersuchung ergab für Hamster 1 für A 1:160 und für L 1:80. Für Hamster 2 waren die Werte A 1:160 und L 1:80. Eine zahlenmäßige Zusammenstellung der Titer findet sich in Tabelle 9. Bei der 2. Blutuntersuchung machte sich ein deutliches Ansteigen der Antikörperzahl bemerkbar, indes der Titer bei Hamster 1 für die A 1:320 und für die L 1:160 betrug, die gleichen Werte zeigte Hamster 2. Bei der 3. Blutuntersuchung war in beiden Fällen der Titer für A 1:640 und für L 1:320. Dieser Titer stellt gleichzeitig den Höchstititer während des ganzen Versuches dar, denn er hielt sich bis zu der am 30. Tag erfolgten Tötung der Hamster auf gleicher Höhe. Die graphische Darstellung in Tabelle 10 veranschaulicht in Durchschnittswerten den Verlauf des Titers.

Bei der Sektion wurde eine geringgradige Nierenschwellung und eine lehmartige Verfärbung der Leber festgestellt.

Die serologische Untersuchung auf das Vorhandensein von spezifischen Leptospirenantikörpern zeigte bei Hamster 1 einen Endtiter von 1:640 für A und L, bei Hamster 2 einen Endtiter von ebenfalls 1:640.

- 30 -

T a b e l l e 9.

Die Titerhöhe bei mit *Leptospira canicola* Stamm Utrecht geimpften Hamstern.

Stand bei der 1. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:				
		20	40	80	160	320
1	A	+	+	+	+	-
	L	+	+	+	-	-
2	A	+	+	+	+	-
	L	+	+	+	-	-

Stand bei der 2. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:						
		20	40	80	160	320	640	1280
1	A	++	+	+	+	+	+	-
	L	++	+	+	+	-	-	-
2	A	++	++	+	+	-	-	-
	L	++	+	+	+	-	-	-

Stand bei der 3. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:						
		20	40	80	160	320	640	1280
1	A	++	+	+	+	+	+	-
	L	++	+	+	++	+	-	-
2	A	+	++	+	+	+	+	-
	L	+	+	+	+	-	-	-

Stand bei der 4. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:						
		20	40	80	160	320	640	1280
1	A	++	++	++	+	+	+	-
	L	++	+++	+	+	+	+	-
2	A	+++	++	+	+	+	+	-
	L	++	++	+	+	+	+	-

Zeichenerklärung: A = Agglutination + = schwache
 L = Lysis ++ = starke
 +++ = sehr starke
 Agglutination bzw. Lysis

- 31 -

In einem untersuchten Fall des Darminhaltes konnten serologisch keine Antikörper festgestellt werden.

Die oben beschriebene mikroskopische Untersuchung der Organe erbrachte trotz Durchführung der Untersuchung sofort nach der Tötung keine Leptospiren. Desgleichen verlief der mehrfach angesetzte Kulturversuch negativ.

Zur Kontrolle des positiven Blutbefundes und des negativer Ergebnisses der mikroskopischen Untersuchung der Organe wurden mit den Organen der am 30. Tag nach der Impfung getöteten Hamster Passagen angesetzt.

Für jedes Ausgangstier wurde je ein Passagehamster verwendet, der 0,5 ccm der Leber-Nieren-Emulsion seines Vorgängers i.p. einverleibt bekam. Die Impfung wurde im allgemeinen bis auf eine vorübergehende geringe Benommenheit gut vertragen.

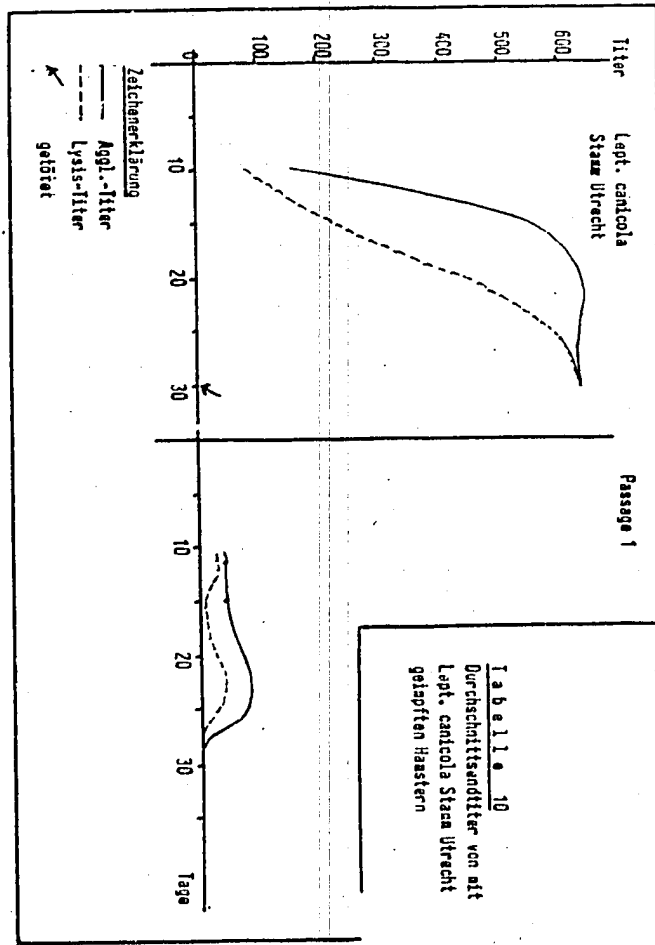
Die am 10. Tage vorgenommene Blutuntersuchung dieser Passagehamster ergab einen verhältnismäßig niedrigen Titer von A 1:20 und für L keinen Titer. Bei der zweiten Untersuchung war der Titer für A auf 80 und für L auf 40 angestiegen, später sank er dann wieder. Bei der am Tage der Tötung erfolgten Blutuntersuchung waren keine Antikörper mehr vorhanden.

Der Grad der Reaktionen in den einzelnen Verdünnungen ist zahlenmäßig in der Tabelle 11 und der Verlauf der Titerschwankung graphisch in Tabelle 10 festgehalten. Rückschlüsse auf die Entstehung des Titers bei diesen beiden Passagestieren lassen sich nur schwer ziehen. Man könnte geneigt sein anzunehmen, dass das zeitweilige Ansteigen des Titers auf eine aktive Immunisierung zurückzuführen wäre. Die Titerschwankung kann ebenso auf eine Ungleichmäßigkeit der bei der serologischen Reaktion verwendeten Leptospirenkulturen zurückgeführt werden (vgl. auch R i m p a u , 19).

Die Sektion der Passagestiere ergab keine pathologischen Veränderungen; ebenso verlief die serologische Untersuchung der Organe auf Antikörper und die mikroskopische Untersuchung auf Leptospiren negativ, desgleichen gelang der mit den Organen angesetzte Kulturversuch nicht.

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Der Hamster reagiert auf eine Impfung mit Lept. canicola Stamm Utrecht bei einer Impfdosis von 0,5 ccm mit einem raschen Anstieg der Agglutination-Lysis-Werte. Der dabei erzielte Höchstititer betrug für A und L 1:640. Die Virulenz der verwendeten Leptospirenart ist in der angewandten Dosierung zu gering, um eine Infektion mit tödlichem Ausgang auslösen zu können. Der Versuch, 4 Wochen nach der Impfung Leptospiren in den Organen nachzuweisen bzw. welche im Nährboden zu züchten, ist nicht gelungen. Eine Virulenzsteigerung trat durch einfache Passage nicht ein.



- 33 -

Tabelle 11.
Die Titerhöhe der Hamster in der 1. Passage bei einem Ausgangsmaterial von
Lept. canicola Stamm Utrecht-Kultur.

Stand bei der 1. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:		
		20	40	80
3	A	+	-	-
	L	-	-	-
4	A	+	-	-
	L	-	-	-

Stand bei der 2. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:			
		20	40	80	160
3	A	++	++	+	-
	L	+	+	-	-
4	A	+	+	+	-
	L	++	+	-	-

Stand bei der 3. Blutentnahme.

Hamster Nr.		Verdünnung des Serums 1:			
		20	40	80	160
3	A	+	+	-	-
	L	++	+	-	-
4	A	++	+	+	-
	L	+	+	-	-

Bei der 4. Blutentnahme war kein Titer mehr vorhanden.

Zeichenerklärung: A = Agglutination + = schwache
L = Lysis ++ = starke
Agglutination bzw. Lysis

Die Mitagglutination für *Lept. icterogenes* war um 1 bis 2 Verdünnungsgrade niedriger als der Haupttiter (L zwei Grade, A ein Grad). Auf Grund dieser Erkenntnisse wurde von weiteren Passagen abgesehen.

d) Gruppe IV.

Verschiedene Verfasser (R i p a u, 19; W a g o n e r, 30) haben hervor, dass der Hamster besser auf eine *Canicola*-Infektion anspricht als auf eine Weil-Infektion, das Meerschweinchen hingegen im umgekehrten Sinne zu verwenden ist. Dabei wird jedoch darauf verwiesen, dass alle sog. laboratoriumsüden Stämme sowohl für das eine als auch das andere Versuchstier eine geringere Virulenz bzw. Avirulenz aufweisen.

Nachdem in der vorherigen Gruppe mit *Lept. canicola* Stamm Utrecht diese Möglichkeit - eine Avirulenz des Stammes - vorzuliegen scheint, wurde versucht, durch Verwendung eines anderen *Canicola*-Stammes zum gewünschten Erfolg zu kommen.

Zu diesem Zweck wurde versuchsweise ein Hamster mit 0,5 ccm Kultur von *Lept. canicola* Stamm Bella i.p. infiziert. Er läuft in der Tabelle unter der Bezeichnung "B".

Der Hamster zeigte am 10. Tage danach Antikörper im Blut und zwar mit einem Titer von A 1:640 und L 1:640. Am 15. Tag nach der Impfung starb er. Der Organtiter war für A und L 1:640, die Mitagglutination für *Lept. icterogenes* für A und L 1:320.

Die klinischen Erscheinungen in den letzten Tagen vor dem Tode werden in einem gesonderten Abschnitt im Rahmen der Zusammenfassung beschrieben, da sie mit graduellen Abstufungen im allgemeinen bei allen *Canicola*-infizierten Hamstern übereinstimmen.

An derselben Stelle sind alle Sektionsbefunde zusammenfassend geschildert. Dieselben Organe wie in der Voruntersuchung wurden m i k r o s k o p i s c h untersucht. In keinem Falle konnten Leptospiren gefunden werden. Im Dünndarm waren massenhaft Darmspirochäten zu sehen. Der K u l t u r v e r s u c h verlief negativ.

Passage 1 (B auf Pl/a)

Ein Teil der Leber und eine Niere von diesem Hamster B wurden mit 1,0 ccm physiologischer Kochsalzlösung verrührt und einem Hamster (Pl/a) i.p. eingespritzt. Dieses Tier starb nach 16 Tagen.

Bei der B l u t e n t n a h m e am 10. Tag nach der Impfung war der Titer A und L bei 1:160 für *Lept. canicola* als auch für *Lept. icterogenes*.

Der Organititer nach dem Tode war ebenso hoch.
Mikroskopisch fanden sich Leptospiiren im Pleuraexsudat, in Leber, Niere, Milz und Gehirn, in den ersteren massenhaft, im Gehirn weniger.

Der Kulturversuch verlief negativ.
Die mikroskopisch positiven Organe wurden in Petrischalen im Kühlschrank bei einer Temperatur von 5° C aufbewahrt und an den folgenden Tagen bis zum völligen Verschwinden der Leptospiiren im Dunkelfeld untersucht. In dieser Art wurde mit jedem positiven Material verfahren. Die Ergebnisse darüber werden in der Zusammenfassung dieses Abschnitts gebracht.

Bei der Fülle der durchgeführten bzw. noch durchzuführenden Passagen drohte die Gefahr, die Übersicht über dieselben zu verlieren. Es wurden daher die einzelnen Passagen in einer ahnentafel-ähnlichen Übersichtstabelle aufgezeichnet, in der, vom Ausgangstier ausgehend, die weiteren Passagetiere vermerkt sind und mit entsprechenden Zeichen versehen wurden. So erhielt beispielsweise das mit dem Bella-Stamm geimpfte Ausgangstier die Bezeichnung B. Der mit dem Material des gestorbenen Ausgangstieres infizierte Passagehamster die Bezeichnung BP1/a bzw. kurz P1/a. Die mit dem Material dieses ersten Passagehamsters infizierten weiteren Hamster erhielten die Bezeichnung BP2/a, BP2/b usw. Während die hinter dem P direkt stehende Zahl den Grad der durchgeführten Passagen angibt, bedeutet der hinter dem Querstrich stehende Buchstabe die Bezeichnung des jeweiligen Versuchstieres in der entsprechenden Passage. Darüber hinaus wurde bei jedem Versuchstier der Tag der Impfung und des Todes sowie das Ergebnis der mikroskopischen und serologischen Untersuchung nach der in der Zeichenerklärung der Tabelle vermerkten Form eingetragen. Dieses Schema wurde bei den einzelnen Versuchsgruppen beibehalten.

Sektionsbefund des Hamsters BP1/a:
Petechiale Blutungen auf den Schleimhäuten und Leber- und Nierenschwellung.
Ein Ausstrich aus Leber und Niere auf Traubenzucker-Agar- und Drigalaki-Platte zeigte kein Bakterienwachstum.

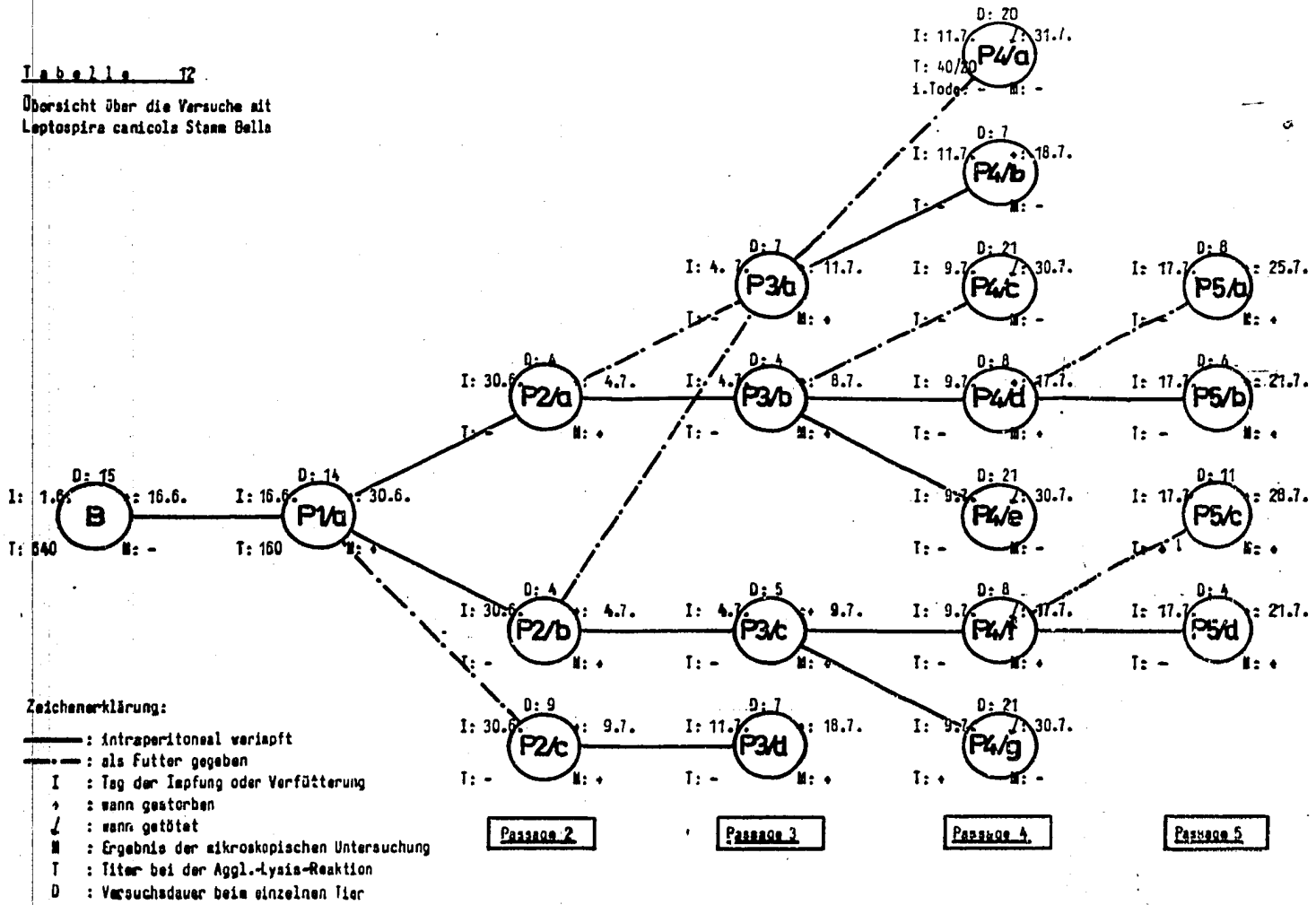
Passage 2 (BP1 auf BP2)

Passage P1/a auf P2/a.

Um die Möglichkeit einer peroralen Infektion beim Hamster zu untersuchen, wie sie von manchen Autoren (Uhlenhuth, 11, und Kalich, 9) gelegentlich beobachtet wurde, wurde ein erbsengroßes Stück Leber von dem an Leptospirose gestorbenen Hamster P1/a einem Hamster (P2/a) zum Fressen gegeben.

Tabella 12

Übersicht über die Versuche mit *Leptospira canicola* Stamm Bella



- 37 -

Hamster, bei denen hin und wieder Kannibalismus vorkommt und die Fleisch sehr gern fressen, wie man bei der Fütterung beobachten konnte, nehmen auch zum Fressen gereichte Organe von Artgenossen an.

Passage BP1/a auf BP2/b und BP2/a.

Von demselben Hamster BP1/a wurde zwei weiteren Tieren eine Organemulsion, Dosis 0,5 cc, i.p. gespritzt.

E r g e b n i s s e der Versuche:

Der Fütterungshamster BP2/a starb nach 9 Tagen, die anderen beiden, BP2/a und b, nach 5 Tagen. Alle drei Tiere wiesen bei der Dunkelfelduntersuchung Leptospiren auf, am wenigsten der Fütterungshamster, da er erst 36 Stunden nach dem Tode untersucht wurde. Die anderen zwei Hamster wiesen neben dem üblichen massenhaften Vorkommen von gut beweglichen Leptospiren in Leber, Niere und Milz ebenso welche in der Harnblase, im Herzblut und im Nebenhoden auf. Bei allen drei Tieren war der Sektionabefund sehr ausgeprägt. Es zeigten sich neben Leber- und Nierenschwellungen Blutungen auf den Schleimhäuten und allgemeine uraemische Zustände.

Der K u l t u r v e r s u c h verlief negativ.

Ein Agglutinations-Lysis-Titer der Organe bestand in keinem Falle.

Da alle drei Passagetiere vor dem üblichen Turnin, und zwar bereits nach 5 bzw. 9 Tagen p.inf. starben, konnte die sonst durchgeführte Frischblutuntersuchung nicht vorgenommen werden. Es liegen daher keine Blutbilder vor.

Passage 3 (P2 auf P3).

Um einen weiteren Beweis für die Möglichkeiten der Fütterungsinfektion zu erbringen, wurde in der nächsten Passage wiederum die Übertragung durch intraperitoneale Impfung und mit Hilfe der Fütterung parallel geführt.

Passage P2/a und b auf P3/a.

Zu diesem Zwecke wurden die Organe von den 2 i.p. infizierten, aus der Passage 2 stammenden Hamstern zusammen an einen Hamster verfüttert. Dieser Hamster P3/a starb nach 7 Tagen an einer Leptospirose, wie der positive mikroskopische Befund und die für Leptospirose sprechenden pathologisch-anatomischen Veränderungen ergaben.

Der K u l t u r v e r s u c h verlief negativ.

Auch hier wurde die s e r o l o g i s c h e U n t e r s u c h u n g des Frischblutes und der Organe wegen des vor dem Zeitpunkt der Blutentnahme erfolgten Todes des Tieres nicht durchgeführt.

- 38 -

Passage P2/a und b auf P3/b und c.

Von denselben P2-Hamstern a und b wurde das Organmaterial an je einen Hamster i.p. verimpft. Diese beiden Hamster P3/b und P3/c starben im Gegensatz zum Fütterungshamster P3/a bereits nach 4 bzw. 5 Tagen. Bei der aus technischen Gründen erst 24 Stunden nach dem Tode erfolgten Untersuchung der Organe wurden Leptospiren bei den beiden Hamstern lediglich im Gehirn, bei einem Hamster auch noch im Pleuroexsudat gefunden. Die übrigen Organe, Leber, Niere, Milz usw., waren mikroskopisch frei von Leptospiren. Es besteht die Möglichkeit, dass die Leptospiren in den Organen infolge der verspäteten Untersuchung inzwischen zerfallen waren.

Der K u l t u r v e r s u c h verlief bei Hamster P3/b und P3/c negativ.

Passage P2/c auf P3/d.

Die Organe des nach dem Fütterungsversuch nach 9 Tagen verendeten Hamsters P2/e wurden auf einen Hamster i.p. überimpft. Dieser Hamster P3/d starb nach 9 Tagen.

Mikroskopisch fanden sich massenhaft Leptospiren.

Damit war der Beweis erbracht, dass die Leptospiren durch die perorale Applikation bei P2/e keine Schwäche ihrer Virulenz erfahren hatten.

Der K u l t u r v e r s u c h verlief negativ.

Hamster P3/d hatte wegen seines vor dem Zeitpunkt der Blutentnahme erfolgten Todes keinen positiven Titer.

Auf eine Fortführung dieser Passagereihe wurde verzichtet.

Passage 4 (P3 auf P4).Passage P3/a auf P4/a und b.

Der infolge einer Fütterungsinfektion gestorbene Hamster P3/a wies, wie oben beschrieben, bei der mikroskopischen Untersuchung nur wenig Leptospiren in den Organen auf. Um festzustellen, ob bei einem schwachen Leptospiengehalt des Übertragungsmaterials eine Fütterungsinfektion noch möglich ist und ob die intraperitoneale Einverleibung dann eher zum Erfolg führt, wurden 1 Hamster intraperitoneal (P4/b) und 1 Hamster peroral (P4/d) infiziert.

Der Fütterungshamster P4/a starb nicht, sondern wies nach 10 Tagen einen Titer von A 40 und L 20 auf. Zum Zeitpunkt seiner Tötung nach 30 Tagen waren die Organe mikroskopisch und serologisch negativ. Ebenso verschwand der Blut-titer völlig.

Der K u l t u r v e r s u c h verlief negativ.

Im Gegensatz dazu starb der intraperitoneal infizierte Hamster P4/b nach 7 Ta-

- 39 -

gen, ohne einen Organtiter erreicht zu haben.
Der Kulturversuch verlief positiv.

Passage P3/b auf P4/o und e.

Wie schon gesagt, waren P3/b und P3/c aus technischen Gründen verspätet untersucht worden. Die bei der mikroskopischen Untersuchung negativ befundene Leber und Niere von P3/b wurde einesteiis verfüttert, nämlich an P4/e, und andererseits intraperitoneal verabreicht, an P4/o. Diese beiden Hamster bestätigten dadurch, dass sie keinen A-L-Titer aufwiesen und ihre Organe bei der Tötung nach 30 Tagen mikroskopisch und serologisch negativ waren, die Tatsache, dass in dem Ausgangsmaterial, Leber und Niere von P3/b, sehr wahrscheinlich keine Leptospiren sehr vorhanden waren.
Der Kulturversuch verlief in beiden Fällen negativ.

Passage P3/b auf P4/d.

Das Gehirn von P3/b war bei der verspätet durchgeführten mikroskopischen Untersuchung noch positiv befunden worden. Es wurde in Emulsionsform auf einen weiteren Hamster, P4/d, intraperitoneal überimpft. Dieser Hamster starb nach 8 Tagen; in allen untersuchten Organen fanden sich reichlich Leptospiren.
Der Kulturversuch verlief positiv.
Die Tatsache, dass er 3 Tage später nach der Infektion starb als seine Vorgänger in Passage 3 (P3/b), lässt sich vielleicht damit erklären, dass die Leptospiren durch die längere Aufbewahrungszeit im Kadaver (P3/b) in ihrer Virulenz geschwächt worden waren.
Einen ähnlichen Verlauf nahmen die Übertragungsversuche von Hamster P3/c auf P4/f und g.

Passage P3/c auf P4/f.

Das bei der mikroskopischen Untersuchung positiv befundene Gehirn vom Hamster P3/c wurde in analoger Weise wie bei P3/b und P4/d auf den nächsten Passagehamster, P4/f, intraperitoneal übertragen.
P4/f starb nach Ablauf von 8 Tagen an einer Leptospirose, wie die positive mikroskopische Untersuchung und der Übertragungsversuch ergaben.
Der Kulturversuch verlief negativ.

Passage P3/c auf P4/g.

Leber und Niere von P3/c waren mikroskopisch frei von Leptospiren. Zur Kontrolle dieses Ergebnisses wurde, wie im Falle von P3/b und P4/e, eine Emulsion dieser beiden Organe auf P4/g überimpft. Dieser Hamster starb nicht an

- 40 -

der Impfung. Während der Beobachtungszeit von 30 Tagen konnten weder Agglutinine noch Lysole nachgewiesen werden. Ebenso war er bei der Tötung mikroskopisch und serologisch negativ.
Der Kulturversuch verlief negativ.

Passage 5 (P4 auf P5).

Das aus dem vorherigen Übertragungsversuch stammende positive Material, das durch die Verimpfung mit Gehirnemulsion eines Passagehamsters gewonnen worden war, wurde zur Bestätigung der Virulenz nochmals auf eine Hamsterreihe überimpft. Dabei wurde das Organmaterial einmal per os und einmal i.p. übertragen.

Wegen der einheitlichen Ergebnisse und des kongruenten Verlaufs dieser Übertragungsversuche ist es angebracht, sie gemeinsam zu besprechen.

Per os wurden die Organe (Leber und Niere) von Hamster P4/d auf den Hamster P5/a (siehe Übersichtstabelle) und die von Hamster P4/f auf den Hamster P5/e übertragen. Intrapertitoneal wurde von dem gleichen Ausgangsmaterial aus zwei von Hamster P4/d auf Hamster P5/d und von Hamster P4/f auf Hamster P5/f verimpft. Sämtliche Passagehamster und zwar sowohl die per os als auch die i.p. infizierten Tiere starben nach 4 (i.p. infiziert) bzw. nach 7 (peroral inf.) Tagen. Sämtlichen 4 Hamstern wurden mikroskopisch in den Organen massenhaft Leptospiren gefunden. Die serologische Untersuchung der Organe fiel negativ aus, d.h. wegen des raschen Todes kam es zu keiner Bildung von Antikörpern.
Der Kulturversuch verlief positiv.

Mit diesem Versuch (Gruppe IV) ist der Beweis erbracht worden, dass eine intraperitoneale Verimpfung von *Leptospira canicola*-Kultur Stamm Bella bei einem Hamster zu einer tödlich verlaufenden Infektion führte, die unter steigender Virulenz der Leptospiren bis zur 5. Passage aufrecht erhalten werden konnte.

Da durch diese letzte positiv verlaufene Passage der Zweck der Versuche mit *Leptospira canicola* Stamm Golla als Ausgangsmaterial erfüllt worden war, wurde der Versuch abgeschlossen und keine weiteren Passagen mehr angesetzt.

Bei der Beschreibung des Passageversuches in Gruppe IV wurden der Übersicht halber nur die unmittelbar mit den Passagen in Zusammenhang stehenden Tatsachen geschildert. Die in dieser Versuchsreihe durchgeführten Kulturversuche, der bei den Passagehamstern jeweils erhobene klinische Befund und deren Sektionsberichte werden somit gesondert beschrieben. Desgleichen sind die bei den vorgenannten Versuchen durchgeführten zusätzlichen

- 41 -

Untersuchungen (Verhalten der Leptospiren im Organmaterial) in einem gesonderten Abschnitt behandelt worden.

Kulturversuche.

Zur Kontrolle der mikroskopischen Befunde der Passagehamster wurde versucht, den Erreger aus den Organen auch kulturell nachzuweisen. Zu diesem Zweck wurde ein Teil der Leber und eine Niere unter sterilen Kautelen auf mehrere Korthoff-Nährböden mit Kaninchen-Serum-Zusatz verimpft.

Das Untersuchungsergebnis wurde nach entsprechender Bebrütungsdauer in täglichen Abtänden abgelesen. Allgemein betrachtet, gelang es nur in wenigen Fällen, ein Leptospirenwachstum zu erzielen. Von diesen mit Leptospiren bewachsenen Kulturen war ein Teil mit Begleitbakterien verunreinigt, so dass eine Weiterzüchtung nicht gelang, da die Begleitbakterien das Wachstum der Leptospiren unterdrückten.

Im einzelnen betrachtet, waren bei den mit Lebermaterial beimpften Röhren 19 verunreinigt und 2 blieben steril. Von den 4 positiven Röhren gelang die Reinzüchtung in zwei Fällen, die übrigen bewachsen mit Verunreinigungskeimen oder blieben nach Überprüfung auf einen neuen Nährboden steril. Bei den mit Nierenmaterial beimpften Röhren waren 16 verunreinigt und 3 blieben steril. Von den 3 Röhren, die positiv Leptospirenwachstum zeigten, gelang nur einmal eine Reinkultur.

Die erzielten Leptospirenkulturen zeigten meist ein kräftiges Wachstum.

Klinische Symptome.

Die Impftiere zeigten im allgemeinen erst in den letzten Tagen vor ihrem Tode deutliche Anzeichen einer Erkrankung. Wahrscheinlich hängt es von der individuellen Resistenz ab, ob man mehrere Tage lang ein ausgeprägtes Krankheitsbild beobachten kann oder ob sich nur Stunden vor dem Tode äußerlich Feststellungen treffen lassen. Es konnte keine Übereinstimmung zwischen der Virulenz des verabreichten Materials und dem Verlauf der Erkrankung in den letzten Tagen festgestellt werden. Im allgemeinen zeigten sich folgende Symptome: Zwei Tage vor dem Verenden sind die Tiere apathisch, verweigern die Futteraufnahme und verkrüppeln sich. Erst in den letzten 5 Stunden zeigen sich Schwächezustände in den hinteren Extremitäten, die Tiere legen sich auf die Seite, die Augen werden geschlossen, der Turgor der Haut ist herabgesetzt, die Atmung angestrengt (80/min). Eine Stunde vor dem Tode kann man den Lidreflex nurmehr schwach auslösen. Nadelstiche wer-

- 42 -

den nicht mehr empfunden, blutiger Kot und Urin werden abgesetzt, gelegentlich sind Ruderbewegungen mit den Beinen, stürzter Krampfanfälle zu beobachten. Die Extremitäten werden gestreckt und die Atmung setzt aus. Es folgen einige wellenartige, über den ganzen Körper verlaufende, tiefe Atemzüge, das Maul wird weit geöffnet. Kurz vor dem Exitus ist die Lidspalte halb geöffnet, der Rücken gerundet, der Lidreflex vollkommen erloschen und die Atmung sistiert. Die Totenstarre setzt nach 3 Stunden ein und hält 12 Stunden lang an.

Sektionsbefund.

Die hier aufgeführten pathologisch-anatomischen Veränderungen nach dem Verenden an einer *Cunicola*-Infektion sind nicht in jedem Falle vollständig vorhanden oder deutlich ausgeprägt. Nach der Häufigkeit ihres Vorkommens aufgeführt, sind bei den Mäusen folgende Bilder bei der Sektion zu beobachten: Leber-, Nieren- und Milzschwellung, wobei die Leber oft zerflüsslich ist, Urämie, Petechien unter der Nierenkapsel und der Lungenpleura sind häufig, Eoehymosen am Zwerchfell, Pleuritis und Peritonitis fibrinosa. Bei den akut bzw. perakut verlaufenden Fällen kam es zu einer Enteritis haemorrhagica, bei den längere Zeit verlaufenden Fällen war nur eine katarrhalische Enteritis zu beobachten. Bisweilen wurden punktförmige Blutungen in Därmen, in der Harnblase, in Hoden und Nebenhoden, sowie anaemische Infarkte in der Niere und gelegentlich Meningitis beobachtet. Abschließend wäre dazu zu sagen, dass bei der Kleinheit des Versuchstieres die Veränderungen stüunter nicht deutlich zutage treten und auch unspezifische Erkrankungen ähnliche Bilder aufweisen können. Allein auf Grund sehr oder weniger "typischer" Veränderungen eine Leptospirose als Todesursache zu diagnostizieren, wäre deshalb übereilt. Ausschlaggebend bleiben mikroskopische und serologische Untersuchungen.

Verhalten der Leptospiren im Organmaterial.

Es ist bekannt, dass die Leptospiren in den Organen postmortal zumindest mikroskopisch nur begrenzte Zeit nachweisbar sind (Uhlén u. Huth, 11; Ripau, 19; Kallio, 9). Um die Lebensdauer der mikroskopisch feststellbaren Formen der Leptospiren zu erforschen, um hieraus gewisse Rückschlüsse auf die Infektiosität, Virulenzstärke usw. ziehen zu können, wurden die Organe jener Mäuse, die im Passagerversuch infolge einer Leptospireninfektion verendet, äußeren Einflüssen ausgesetzt.

- 43 -

Dabei wurden nur Organe verwendet, die bei der sofort nach dem Tode durchgeführten mikroskopischen Untersuchung positiv befunden wurden. Von den in Petrialschalen mit D-Okel im Kühlschrank aufbewahrten Organen wurde im Abstand von 24 Stunden ein kleines Stück abgeschnitten und unter Hinzufügen von sterilem Leitungswasser zu einem Brei zerkleinert. Von diesem Brei wurden ein oder mehrere Tropfen im Dunkelfeld auf das Vorhandensein von Leptospiren untersucht. Die Organe blieben weiterhin im Kühlraum. Diese Untersuchung wurde so lange durchgeführt, bis tatsächlich keine Leptospiren mehr mikroskopisch nachweisbar waren. Flüssige Medien, wie Pleuraexsudat, Blut und Harn, wurden in Röhrchen im Kühlraum aufbewahrt und ebenfalls im Abstand von 24 Stunden auf das Vorhandensein von Leptospiren im Dunkelfeld untersucht. Auf diese Weise wurden 16 Lebern, 19 Nieren, 17 Blutproben, 16 Pleuraexsudate und 11 Harn untersucht.

T a b e l l e 13.
Nachweis der Leptospiren nach Stunden.

	0	24	48	72	96	120	144	168 Std.
Pleuraexs.	16	13	10	7	3	2	1	-
Blut	17	12	7	3	2	2	1	-
Leber	17	14	6	5	3	2	-	-
Niere	15	13	7	7	-	-	-	-
Milz	17	15	6	5	1	-	-	-
Gehirn	18	10	2	-	-	-	-	-
Hoden	6	5	4	1	-	-	-	-
Nb-Hoden	4	3	1	-	-	-	-	-
Harn	11	5	2	-	-	-	-	-

Die Zahlen in den Kästchen geben die Zahl der zum jeweiligen Untersuchungszeitpunkt noch leptospirenhaltigen Organe an.

E r g e b n i s d e r U n t e r s u c h u n g e n .

Wie aus Tabelle 13 zu ersehen ist, wurden am längsten Leptospiren im Pleuraexsudat festgestellt, und zwar von den untersuchten Fällen 13mal nach 24 Stunden, 10mal nach 48 Stunden, 7mal nach 72 Stunden, 3mal nach 96 Stun-

- 44 -

den und 2mal nach 120 Stunden. An zweiter Stelle stand in dieser Hinsicht das Blut, denn in ihm wurden Leptospiren 3mal nach 72 Stunden, 2mal nach 96 Stunden und 2mal nach 120 Stunden festgestellt. Die weiteren Organe sind nach ihrem Leptospirengehalt in Tabelle 13 aufgeführt.

Zusammenfassend war bei diesem Versuch zu beobachten, dass der Gehalt der Organe an Leptospiren und ihr zeitlicher Nachweis durch folgende Faktoren beeinflusst wird:

1. Zeitpunkt der Herausnahme der Organe aus dem gestorbenen Tier. Je eher man untersuchen kann, desto mehr Leptospiren sind vorhanden und desto länger halten sie sich.
2. Saubere Entnahme und Aufbewahrung der Organe und damit eine möglichst geringe sekundäre bakterielle Verunreinigung.
3. In grösseren Organteilen halten sich die Leptospiren länger.
4. Menge der primär in dem Organ vorhandenen Leptospiren. Je mehr Leptospiren vorhanden sind, desto grösser ist auch die Zahl derjenigen, die schädliche Umwelteinflüsse überleben.

Bei der Überprüfung der Organe auf das Vorhandensein von Leptospiren wurde, neben der mit der Zeit nach dem Tode ständig wachsenden Anzahl von Bakterien, beobachtet, dass das Verschwinden der Leptospiren in den Organen auf einen Zerfall zurückzuführen ist, denn man beobachtet Leptospiren in verschiedenen Stadien. Neben den typischen lebhaft beweglichen Exemplaren kann man solche erkennen, die ihre Bewegung einstellen, die starr geworden sind. Im weiteren Verlauf zerfallen diese unbeweglichen Formen in Teilstücke; meist brechen sie in der Mitte auseinander. Neben diesen Teilstücken sieht man granulierten Leptospiren, die dann in einzelne Granula zerfallen und in diesem Zustand nicht mehr als von Leptospiren abstraxend erkannt werden können. Das Endstadium des Zerfalls scheint immer der Granulazustand zu sein.

Nachweis der Leptospiren in der aufbewahrten Leber durch den Impfversuch.

Es war bekannt, dass der negative mikroskopische Leptospirenbefund nicht mit einem völligen Freisein von Leptospiren gleichzusetzen ist. Diese Tatsache ist auch erwiesen worden in den Passagerversuchen, wo das Impfmateriale zwar mikroskopisch negativ war, der mit diesem Material geimpfte Hamster jedoch mit einer Leptospireninfektion reagierte.

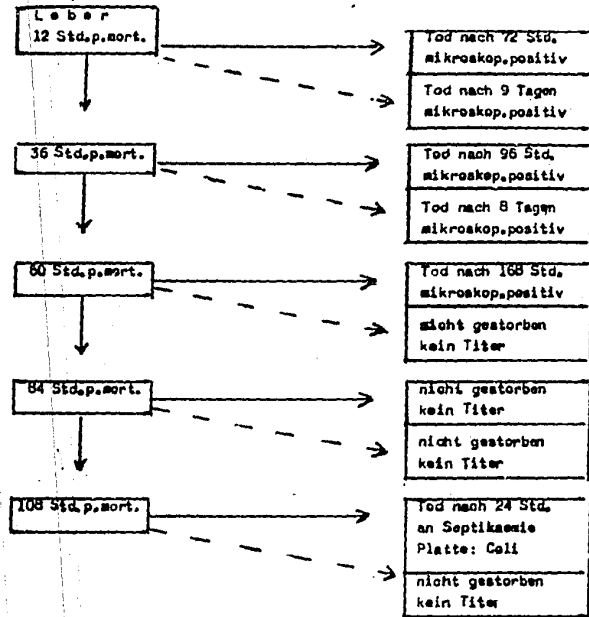
Um einen Zusammenhang zwischen Leptospirenfund und Infektiosität festzustellen, wurde die Leber von einem sicher an Leptospirose eingegangenen Hamster in einer Petrischale bei Zimmertemperatur (18 bis 20° C) aufbewahrt und hiervon im Abstand von 24 Stunden je 2 Hamster infiziert. Da das

- 45 -

Material durch die Lagerung Fäulnisprozessen ausgesetzt war, wurde neben der intraperitonealen Einverleibung die perorale Applikation vorgenommen. Auf diese Weise wurde, wie in Tabelle 14 dargestellt, mit dem erwähnten Ausgangsmaterial, welches mikroskopisch nachweisbar Leptospiren enthielt, 12 Stunden nach dem Verenden des Hamsters ein Hamster i.p. infiziert, ein weiterer bekam ein Stück Leber als Futter. Der i.p. infizierte Hamster starb nach 72 Stunden, auch bei ihm wurden mikroskopisch Leptospiren festgestellt; der Fütterungshamster starb nach 9 Tagen und hatte ebenfalls positiven Leptospirenbefund. Nach weiteren 24 Stunden Aufbewahrung der Leber wurden in derselben Art 2 Hamster infiziert. Der i.p. geimpfte Hamster starb nach 96 Stunden und war mikroskopisch leptospirenpositiv, der Fütterungshamster starb nach 8 Tagen. In seinen Organen fanden sich zahlreiche Leptospiren. Nach weiteren 24 Stunden, d.h. 60 Stunden nach dem Tode des Ausgangshamsters waren im Material nurmehr spärlich Leptospiren vorhanden. Sie waren meist granuliert und wiesen nur schwache Lichtbrechung auf. Von den nach diesem Zeitpunkt geimpften Hamstern starb nur das i.p. infizierte Tier nach 168 Stunden. In seinen Organen fanden sich Leptospiren. Der per os infizierte Hamster blieb am Leben. Er zeigte auch keinen Titer. Die inzwischen 84 Stunden weiterhin bei Zimmertemperatur aufbewahrte Leber wies mikroskopisch keine Leptospiren mehr auf. Auch waren keine Zerfallsprodukte festzustellen, die man sonst in leptospirenhaltigem Material antrifft. Inzwischen war auch die Leber in Fäulnis übergegangen. Die beiden i.p. und per os infizierten Hamster blieben am Leben. Sie zeigten beide auch keinen Bluttitel. Das nun 108 Stunden aufbewahrte Leberstück war fast restlos in Fäulnis übergegangen. Es schillerte grünlich und roch stark nach Fäulnis, so dass der Versuchshamster es nicht mehr freiwillig frass, sondern mit der Pinzette gefüttert werden musste. Er überstand die Vorabreichung und zeigte bei den nachfolgend vorgenommenen Blutproben keinen Leptospirentiter. Im Gegensatz dazu verendete der mit diesem fauligen Material i.p. infizierte Hamster nach 24 Stunden an einer bakteriellen Septikämie.

Aus diesem Versuch ist zu entnehmen, dass nach 36stündiger Aufbewahrung von leptospirenhaltigem Lebermaterial sowohl die i.p. als auch die perorale Infektion eingegangen ist. Dagegen ging nach einer 60stündigen Aufbewahrung des Materials, wobei mikroskopisch nur noch spärliche Leptospiren zu finden waren, lediglich die i.p. Impfung an. Da nach 84 Stunden weder die i.p. noch die perorale Applikation eine Infektion auslöste, ist anzunehmen, dass die Infektiosität des Materials zwischen 60 und 84 Stunden endet. Nachdem nach 60stündiger Aufbewahrung der Übertragungsversuch durch die intraperitoneale Infektion noch voll gelang, im mikroskopischen Bild dagegen spärlich Leptospiren und diese meist angeknickt zu finden waren,

Tabelle 14.
Infektionsversuch mit mikroskopisch positivem Material aus der 5. Passage von
Lept. canicola Stamm Belle.
Das Material wurde in Abständen von 24 Stunden appliziert. Aufbewahrung bei
Zimmertemperatur.



Zeichenerklärung:
—— = Vorimpfung i.p.
- - - = als Futter verabreicht

- 47 -

ist anzunehmen, dass der Hamsterversuch noch dort gelingt, wo der mikroskopische Befund nicht mehr einwandfrei positiv ist. Es scheint aber auch der Hamsterversuch zu versagen, wenn die Leptospiren im vorher positiven Material inzwischen restlos morphologisch zugrunde gegangen sind.

- 48 -

D. Zusammenfassende Beurteilung der Versuchsergebnisse.

Durch die mikroskopische Untersuchung der Organe von unverdächtigen Hamstern wurde erwiesen, dass normalerweise beim Hamster keine Leptospirofundus zu erwarten sind. Werden somit bei einem mit verdächtigem Material geimpften Hamster Leptospirofundus in den Organen gefunden, dann ist mit grosser Wahrscheinlichkeit anzunehmen, dass diese Leptospirofundus aus dem verdächtigen Material stammen, beim Untersuchungsmaterial also eine Leptospirose vorlag. Die zweite Möglichkeit, dass der Hamster bereits vor der Impfung mit Leptospirofundus behaftet war, ist zwar nicht von der Hand zu weisen.

Diese Möglichkeit lässt sich durch eine, vor der Impfung vorzunehmende, Blutuntersuchung auf das Vorhandensein von Leptospirofundusantikörpern ausschliessen, denn, wie die Reihenuntersuchungen von unverdächtigen Hamstern ergeben haben, treten beim Hamster normalerweise keine Leptospirofundusantikörper auf. Ein Hamster, der bei der Blutuntersuchung vor der Impfung serologisch positiv reagiert, scheidet als Versuchstier aus.

Da der Hamster sowohl auf die intraperitoneale als auch die perorale Einverleibung von Leptospirofundus bzw. leptospirofundushaltigem Material mit der Bildung von serologisch nachweisbaren, spezifischen Antikörpern reagiert, ist die Möglichkeit gegeben, den Hamster als Versuchstier in der Leptospirofundusdiagnostik zu verwenden. Dabei muss der Hamsterversuch nicht tödlich verlaufen, sondern schon das Auftreten von Leptospirofundusantikörpern beim Versuchstier spricht dafür, dass das verimpfte Material leptospirofundushaltig gewesen ist. Verläuft der Hamsterversuch tödlich und ist dabei eine unspezifische Todesursache auszuschliessen, dann können für die Diagnosestellung in Betracht gezogen werden:

Der klinische Verlauf der Krankheit, die ziemlich charakteristischen pathologisch-anatomischen Veränderungen, die mikroskopische Untersuchung der Organe, der Kulturversuch sowie die Überimpfung auf ein weiteres Versuchstier. Bei Hamstern, die nach dem 10. Tage nach der Impfung sterben, kann vorher noch eine Blutuntersuchung durchgeführt werden, um auch dieses Untersuchungsergebnis für die Diagnosestellung zu verwenden. Eine früher vorzunehmende Blutuntersuchung ist nicht angezeigt, da den Versuchen zufolge ein brauchbarer Antikörper-Titer zu dieser Zeit noch nicht vorhanden ist. Er tritt vom 10. Tag ab, besonders ausgeprägt am 17. Tag nach der Infektion auf.

Die intraperitoneale Infektion der Hamster mit Kulturen von *Lept. icterogenes* (Weil) und *Lept. pomona* führte zwar zu einer Bildung von Anti-

- 49 -

körpern, verlief aber nicht tödlich. Auch gelang es nicht, eine Virulenzsteigerung dadurch zu erzielen, dass von den mit diesen Stämmen infizierten, serologisch positiv reagierenden Hamstern nach ihrer Tötung Organmaterial auf weitere Hamster verimpft wurde. Die auf diese Weise erhaltenen Passagohamster blieben am Leben und zeigten in manchen Fällen (Weil) einen geringen Agglutinations-Lysis-Titer, der nach einigen Tagen verschwand. Demgegenüber gelang es, durch intraperitoneale Infektion eines Canicola-Stammes (Bella) beim Hamster eine tödlich verlaufende Infektion hervorzurufen und die Infektiosität in Passagen mit tödlichem Ausgang aufrechtzuerhalten. Es hat danach den Anschein, dass der Hamster für eine Canicola-Infektion empfänglicher sei als für eine Infektion mit anderen Leptospirenarten (Weil, pomona). Da jedoch ein weiterer, mit einem anderen Canicola-Stamm (Utrecht) durchgeführter Versuch beim Versuchstier nicht tödlich verlief, sondern nur wie beim Weil- und pomona-Stamm zur Bildung von spezifischen Antikörpern führte, können bezüglich der erhöhten Empfindlichkeit des Hamsters gegenüber Canicola-Stämmen keine endgültigen Rückschlüsse gezogen werden.

Für die mikroskopische Untersuchung der Organe ist es wichtig, die Untersuchung möglichst kurz nach dem Tode vorzunehmen, da die Anzahl der Leptospiren im Kadaver ständig abnimmt und abhängig von der Dauer der Agonie, von der Art der Aufbewahrung und von der primär vorhandenen Zahl der Leptospiren usw. mehr oder weniger gänzlich verschwindet.

Während die perorale Applikation des leptospirenhaltigen Organmaterials ebenso eine tödlich, wenn auch etwas später, verlaufende Leptospireninfektion auszulösen vermag wie die intraperitoneale Einverleibung, so spricht der Hamster bei der intraperitonealen Infektion noch auf geringe Leptospirenmengen an, bei denen die perorale Applikation zu versagen scheint. Demgegenüber birgt die intraperitoneale Verimpfung, besonders beim Vorliegen fauligen Materials, die Gefahr einer bakteriellen Septikämie, ohne dass es gelingt, in den bakterienhaltigen Organen Leptospiren mikroskopisch nachzuweisen. Es ist daher angezeigt, in solchen Fällen beide Applikationsmethoden anzuwenden.

Verläuft der Hamsterversuch sowohl mikroskopisch als auch serologisch negativ, so ist damit das Vorliegen einer Leptospireninfektion des Ausgangsmaterials noch nicht ausgeschlossen, denn die Versuche haben ergeben, dass leptospirenhaltiges Material, welches sofort verimpft, eine tödlich verlaufende Leptospireninfektion auslöst, dies nach längerer Lagerung nicht mehr vermochte.

Zur Sicherung einer Diagnose ist es ebenso wichtig, verschiedene Organe und diese gesondert zu verimpfen, denn aus manchen Versuchen ging hervor, dass bei Verimpfung von Leber und Niere eines an Leptospirose vorende-

- 50 -

ten Hamsters der Passagehamster negativ reagierte, dagegen starb der mit dem Gehirn des gleichen Ausgangstieres infizierte Hamster an einer Leptospirose. Damit soll nicht gesagt sein, dass die Leptospiren im Gehirn am häufigsten vorkommen, sondern es wird lediglich darauf verwiesen, sich bei der Verimpfung von verdichtigen Material nicht nur auf ein Organ zu beschränken.

Die Feststellung von Antikörpern ausser im Frischblut, in den Organen und im Harn gibt einen Hinweis, dass für die Diagnose der Leptospirose am toten Tier auch dieser Umstand berücksichtigt werden kann.

- 51 -

E. Zusammenfassung.

Bei der mikroskopischen Untersuchung von 75 ungeimpften Hamstern konnten in den Organen keine Leptospiren festgestellt werden.

Ebenso verlief die serologische Untersuchung von 77 unverdächtigen Hamstern auf das Vorhandensein von Leptospiren-Antikörpern negativ.

Die Versuche mit Leptospiren bzw. mit leptospirenhaltigem Material ergaben, dass der Hamster auf die Einverleibung von Leptospiren mit der Bildung von spezifischen Antikörpern reagiert.

Eine Infektion mit tödlichem Ausgang und eine Weiterführung durch Passagen gelang beim Hamster durch die Einverleibung einer Kultur von *Leptospira canicola*, Stamm Bella.

Es ist möglich, neben der intraperitonealen Infektion den Hamster auch peroral zu infizieren.

Der perorale Infektionsmodus stellt eine weitere Möglichkeit der Feststellung einer Leptospireninfektion dar.

Außer im Blut wurden bei infizierten Hamstern Antikörper auch in den Organen und im Harn festgestellt. Diese Tatsache ist diagnostisch zu verwerten.

Der Hamster hat sich im Laboratoriumsversuch als geeignetes Versuchstier zum Nachweis einer Leptospireninfektion erwiesen.

Page Denied

Next 5 Page(s) In Document Denied

(h)



Eignet sich die Komplementbindungsmethode zur Bestimmung der Herkunft tierischen Eiweisses unter besonderer Berücksichtigung des Nachweises von Pferdefleisch?

Heinrich Feil

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleiachheim
Direktor: Professor Dr. Hugo G r a u
Vorgelegt vom Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Komm.Vorstand: Professor Dr. H. R o l l e

Eignet sich die Komplementbindungsmethode
zur Bestimmung der Herkunft tierischen Eiweißes unter be-
sonderer Berücksichtigung des Nachweises von Pferdefleisch?

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Heinrich F e i l
aus
Ebnat / Kr. Aalen

München 1952

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Dr. Joh. Brügge mann
Referent: Professor Dr. M. Rolle

Tag der Promotion: 19.12.1952

UNI - Druck, München 13, Amalienstr.85

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
Vorwort	1
Wesen der Komplementbindungsreaktion und ihre Verwendung zur biologischen Eiweißdifferenzierung	2
Eigene Untersuchungen	7
Gewinnung und Einstellung der für die Komplementbindungsreaktion erforderlichen Reagenzien	7
1) Hammelblutkörperchen	7
2) Hämolytischer Amboceptor	7
3) Komplement	7
4) Spezifisches Antiserum	8
a) Gewinnung der spezifischen Antiseren	8
b) Auswertung der spezifischen Antiseren	11
5) Antigen	13
Versuchsordnung für die Hauptversuche	15
1) Nachweis von frischem Pferdefleisch	18
2) Nachweis von getrocknetem Pferdefleisch	20
3) Nachweis von gepökeltem Pferdefleisch	21
4) Nachweis von teilweise verfaultem Pferdefleisch	22
5) Nachweis von Pferdefleisch in Würsten	23
6) Nachweis von Pferdebloodresten auf Spurenrügern	25
Beurteilung der gesamten Versuchsergebnisse	28
Zusammenfassung	30
Schrifttumverzeichnis	31

- 1 -

V o r w o r t .

Die Differenzierung des Fleisches der einzelnen Haustiere durch die Präcipitationsreaktion bereitet in der tierärztlichen Lebensmittel- und Fleischkontrolle bisweilen erhebliche Schwierigkeiten. N e i s e r und S a c h s (14) brachten schon 1906 die Komplementbindungsmethode zur Ergänzung der Präcipitation in Vorschlag. Sie weisen auf die grössere Spezifität und Empfindlichkeit dieser Reaktion hin. Trotzdem vermochte sich dieses Verfahren in der Praxis der biologischen Eiweisadifferenzierung nicht durchzusetzen. U h l e n h u t h (20) und seine Schule lehnen die Komplementbindungsmethode als vollgültiges biologisches Untersuchungsverfahren ab. Nach seinen Angaben sind mit der Komplementbindungsreaktion keine besseren und zuverlässigeren Resultate zu erzielen als mit der etwas einfacher durchführbaren Präcipitationsreaktion.

Es ist aber nicht ohne Bedeutung, bei der verantwortungsvollen und folgenreichen Entscheidung gerichtstierärztlicher Sachverständiger über den Zusatz von minderwertigem Fleisch in Fleisch- und Wurstarzen zwei Verfahren zu deren Nachweis zur Verfügung zu haben. Die Wichtigkeit dieser Forderung, für die Untersuchung von Hackfleisch und Rohwürsten auf Zusatz von Pferde-, Hunde- oder Katzenfleisch, ergibt sich von selbst. Praktische Bedeutung besitzt auch die Bestimmung der Herkunft von Blutrosten auf Spurenrägern.

Auf Anregung des Leiters der Abteilung für tierärztliche Lebensmittelüberwachung und gerichtliche Veterinärmedizin ist es Aufgabe dieser Arbeit, zu prüfen, inwieweit die Komplementbindungsmethode zum Nachweis von Pferdeeiweis geeignet ist. Es sollen auf Grund umfangreicher und gründlicher Untersuchungen die Schwierigkeiten, Fehlerquellen und Grenzen der Komplementbindungsreaktion bei der biologischen Eiweisadifferenzierung aufgezeigt werden. Weiter soll untersucht werden, ob zum Teil denaturiertes Pferdeeiweis seiner Herkunft nach noch bestimmt werden kann.

- 2 -

Wesen der Komplementbindungsreaktion und ihre

 Verwendung zur biologischen Eiweißdifferenzierung.

B o r d e t und G e n g o u (2) beobachteten und beschrieben zuerst das Phänomen der Komplementablenkung. Sie behandelten Meerschweinchen durch wiederholte Injektionen mit defibriertem Kaninchenblut. Das Serum derartig vorgehandelter Meerschweinchen löste die Blutkörperchen von Kaninchen auf. Das Serum normaler Meerschweinchen bewirkte dagegen keine Auflösung der roten Blutkörperchen von Kaninchen. Durch halbstündige Erwärmung auf 56° geht das Meerschweinchen Serum seiner hämolytischen Fähigkeiten verlustig. Wird dem durch Erwärmen seiner aktiven Fähigkeiten beraubten Meerschweinchen Serum wieder eine kleine Menge von einem gesunden, nicht vorgehandelten Meerschweinchen Serum hinzugefügt, so entfaltet das inaktivierte Serum wieder seine hämolytischen Fähigkeiten.

E h r l i c h und M o r g e n r o t h (5) stellten weitere Untersuchungen über die Vorgänge der Hämolyse an. Diese Untersuchungen zeigen deutlich, dass die Hämolyse auf das Zusammenwirken einer spezifischen und unspezifischen Substanz zurückzuführen ist. Die spezifische Substanz, die relativ hitzebeständig ist und nur durch Vorbehandlung von Kaninchen oder Meerschweinchen mit Blutkörperchen zu gewinnen ist, wird als hämolytischer Immunkörper bezeichnet. Die unspezifische Substanz ist ausgesprochen labil und kommt im Blutsorum normalerweise vor. Sie wurde zuerst Addiment und später Komplement genannt. Durch seine Hinzufügung wird die Wirkung des hämolytischen Immunkörpers erst vervollständigt. Unter Komplementen sind demnach Stoffe zu verstehen, die die Eigenschaft besitzen, unter Mitwirkung von spezifischen Immunkörpern die roten Blutkörperchen aufzulösen. Nach E h r l i c h sind die hämolytischen Immunkörper zweiarmlige Zwischenkörper = Amboceptoren, die auf der einen Seite die Blutkörperchen binden und auf der anderen Seite des Komplements bedürfen, um ihre hämolytischen Fähigkeiten entfalten zu können.

Praktische Bedeutung erlangte die Erscheinung der Hämolyse bei der Komplementbindungsreaktion. W a s s e r m a n n (22) verwendete die Erscheinung der Auflöser oder Nichtauflöser der roten Blutkörperchen zur indirekten Antikörpernachweis bei der Serodiagnostik der Luas.

- 3 -

Mcreschi (13) fand, dass beim Zusammentreffen von Präcipitin und Präcipitinogen Komplement gebunden wird. Neisser und Sachs (14) bauten darauf eine Methode des indirekten Antigennachweises auf zur Bestimmung der Herkunft des Blutes. Beiden Methoden des indirekten Antikörper- und des indirekten Antigennachweises ist gemeinsam, dass eine dritte Komponente in Form des Komplements eingefügt wird. Beim Zusammentreffen des Antigens mit seinen spezifischen Antikörpern und beim Zusammentreffen von Antikörpern mit ihrem spezifischen Antigen wird Komplement gebunden. Diese Tatsache kommt dadurch zum sichtbaren Ausdruck, dass bei Hinzufügung eines hämolytischen Immunkörpers und der entsprechenden Blutkörperchen keine Auflösung der Blutkörperchen eintritt. Diese Reaktion ist streng spezifisch, so dass das zugeführte Komplementserum nur dann unwirksam wird, wenn das für den Antikörper homologe Antigen zugegen ist.

Nach Sachs (17) sind bei der Komplementbindungsreaktion zwei Phasen zu unterscheiden:

"1. Phase: Zusammentreten von Antigen, Antikörper und komplementhaltigen Serum.

2. Phase: Hinzufügung einer Kombination von roten Blutkörperchen und dem entsprechenden hämolytischen Immunkörper."

Als allgemein übliche Kombination kommt die Verwendung von Hammelblutkörperchen, hämolytischen Immenserum von Kaninchen als Antikörper und Meeresschweinchenserum als Komplement in Betracht. Werden die roten Blutkörperchen aufgelöst, so ist dies ein Beweis, dass das Komplement, welches für den Auflösungsprozess ein notwendiger Faktor ist, nicht gebunden wurde. Tritt dagegen keine Hämolyse ein, so beweist das umgekehrt, dass zwischen Antigen und Antikörper eine spezifische Reaktion eintritt, wobei das Komplement gebunden wurde.

Was die Menge der zur Verwendung gelangenden Reagenzien anbelangt, so stehen sie, wie Don (4) durch umfangreiche Untersuchungen zeigen konnte, in einem gegenseitigen Abhängigkeitsverhältnis zueinander. Eine Erhöhung der Blutkörperchenmenge bedingt eine Erhöhung der Dosis des hämolytischen Immenserums und eine Erhöhung der Komplementdosis. Es soll nur soviel Meeresschweinchenserum als Komplement zur Verwendung gelangen, wie gerade zur Auflösung der roten Blutkörperchen erforderlich ist. Größere Komplementmengen führen zu unsicheren Ergebnissen. Die Menge des zur Verwendung gelangenden spezifischen Antiserums ist einerseits abhängig von der Reaktionsfähigkeit des Antiserums und andererseits von der Stärke des

- 4 -

hämolytischen Systeme und der Komplementdosis. Es ergibt sich daher die Notwendigkeit, sämtliche Reagenzien in Vorversuchen aufeinander einzustellen (Sachs, 17).

Neisser und Sachs (14) arbeiteten bei ihren Versuchen mit einem natürlichen hämolytischen System. Sie verwendeten Kaninchenserum und Hammelblutkörperchen, weil das normale Kaninchenserum in der Regel einen Normalimmunkörper gegenüber Hammelblut enthält. Die erste Aufgabe ist es, die für 1,0 ccm 5%ige Hammelblutkörperchenaufschwemmung komplett lösende Dosis Kaninchenserum zu ermitteln. Im Durchschnitt verwendeten Neisser und Sachs (14) 0,2 - 0,3 ccm Kaninchenserum. Als spezifische Antikörper verwendeten sie Serum von Kaninchen, die ebenso wie für die Herstellung von präzipitierenden Serum mit Serumeweiss vorbehandelt wurden. Die Menge der verwendeten Antiserumdosis betrug 0,01 - 0,02 ccm. Nach ihren Angaben ist die Komplementbindung so empfindlich, dass sich 1/10 000 - 1/200 000 ccm Menschenblut mit Sicherheit nachweisen lassen. Bei ihren Untersuchungen, die sich auf Blut und Serumlösungen beschränkten, kamen sie zu dem Schluss, dass in Eiweisagelichen selbst noch geringste Beimengungen nachzuweisen sind. Rickmann (16) stellte vergleichende Untersuchungen über den Nachweis von Schweine- und Menschenserum an. Nach seinen Ergebnissen ergibt die Komplementbindungsmethode nicht nur empfindlichere und sinnfälligere Reaktionen, sondern auch spezifischere Reaktionen als die Präzipitation. Er fand, dass ein von Kaninchen gewonnenes, menscheneweiss präzipitierendes Antiserum bei der Komplementbindungsmethode Menschen- und Schweineblut in jeder Konzentration zu differenzieren gestattet. Bei Anwendung der Präzipitation dagegen ergab das Menschenantiserum mit Schweineblut in stärkeren Konzentrationen eine unspezifische Trübung.

Bauer (1) setzte die Untersuchungen von Rickmann (16) fort und kam zu der Schlussfolgerung, dass die Komplementbindung an Spezifität und Empfindlichkeit der Präzipitation überlegen ist. Bei ganz dünner Untersuchungslösungen könne die Präzipitation versagen, während die Komplementbindungsreaktion noch positiv ausfalle. Andererseits könne bei negativem Ergebnis der Komplementbindungsmethode die Präzipitation positiv ausfallen, wenn bei letzterem Verfahren heterologe Trübungen auftreten. Friedberg und Meisner (6) stellten Untersuchungen an mit Antiserum, die bei der Präzipitation nicht nur auf das Eiweis nahe verwandter Tierarten, sondern auch auf das Eiweis fernstehender Tierarten übergriffen. Sie könnten zeigen, dass diese heterologen Reaktionen bei der Komplementbindung nicht auftreten.

- 5 -

Die Untersuchungen der oben genannten Autoren beschränkten sich auf die Differenzierung von reinen Blut- und Serumlösungen. Gegenstand weiterer Untersuchungen war die Prüfung der Komplementbindungsmethode auf ihre praktische Brauchbarkeit hinsichtlich des Nachweises von Nahrungsmittelverfälschungen und der Bestimmung der Herkunft von Blutspuren. Aus den Untersuchungen von B o r c h m a n n und W e i d a n z (3) ergibt sich, dass die Komplementbindungsmethode bei gekochten Würsten gute Dienste leisten kann. Sie bestärken die grosse Empfindlichkeit der Reaktion, weisen aber auf beachtenswerte Nachteile bezüglich ihrer praktischen Anwendung hin. In den Untersuchungsextrakten können oft Stoffe vorhanden sein, die in nicht spezifischer Weise auch ohne Zusatz des entsprechenden Antiserums komplementbindend wirken können und dadurch die Reaktion störend beeinflussen. Ausserdem gibt es Antiseren, die wohl einen präcipitierenden Titer entfalten, aber für die Komplementbindung infolge ihrer Eigenhemmung ungeeignet sind. Überhaupt scheinen Stärke der Präcipitation und die Fähigkeit, Komplemente zu binden, durchaus nicht in direkter Proportion zu stehen. Ferner weisen sie auf die Umständlichkeit und Schwierigkeit der Technik hin.

U h l e n h u t h und W e d e m a n n (21) kommen auf Grund ihrer Untersuchungen zu dem Schluss, dass dieses Verfahren in der Hand speziell geschulter Fachkräfte bei reinen Eiweissstoffen in Gemischen gute Resultate gebe. Es sei aber in der Praxis, wo es sich um verunreinigte Untersuchungslösungen handle, wegen seiner kaum übersichtbaren Fehlerquellen sowie wegen seiner schwierigen Beurteilung und Durchführung nur mit allergrösster Vorsicht anzuwenden. U h l e n h u t h (20) weist besonders darauf hin, dass im blutbefleckten Material oft Stoffe vorhanden sein können, die für sich allein schon komplementablösend wirken. Er ist der Ansicht, dass die Präcipitation für die Zwecke der Praxis vollauf ausreicht und die Komplementbindungsmethode auch keine besseren Ergebnisse ergebe. Die Untersuchungen von S e i f f e r t (18) bilden die Fortsetzung der Arbeiten von B o r c h m a n n (3). Aufgabe seiner Untersuchungen war der Nachweis von Pferdefleisch in Würsten und die Prüfung der verschiedensten Würstgewürze auf ihre antikomplementären Eigenschaften. Seine Ergebnisse zeigen, dass selbst nach 5 Minuten langer Erhitzung auf 100° der Nachweis von Pferdefleisch noch möglich war. Die Eigenhemmung der Würstgewürze kann durch entsprechende Verdünnung des Untersuchungsextraktes beseitigt werden, die niemals so gross ist, dass nicht mehr geringe Mengen Eiweiss für die Komplementbindung in der Lösung vorhanden sind.

- 6 -

Weitere Mitteilungen über die praktischen Anwendungsmöglichkeiten der Komplementbindungsmethode liegen im Schrifttum nicht vor. Daraus ist zu folgern, dass dieses Verfahren in der Praxis der fornsiachen Nahrungsmitteluntersuchung keinen Eingang fand. Neuere Untersuchungen von L e h n e r t (9, 10) bestätigen wiederum die Vorzüge dieses Verfahrens gegenüber der Präzipitation. Nach seinen Ergebnissen soll die Komplementbindungsmethode die Differenzierung nahe verwandter Eiweißarten wie Elch, Hirsch, Rentier, Reh und Rind ermöglichen. L e h n e r t schlägt vor, die für orientierende Zwecke geeignete Präzipitation mit der Komplementbindungsmethode zu kombinieren, da diese spezifischere und zuverlässigere Ergebnisse liefert als die Präzipitation.

- 7 -

Eigene Untersuchungen.

Gewinnung und Einstellung der für die Komplement-
bindungsreaktion erforderlichen Reagenzien.

1.) Hammelblutkörperchen.

Entnahme des Blutes aus der Jugularvene des Schafes. Auffangen des Blutes in einer sterilen Schüttelflasche mit Glasperlen. Das Blut wird 10 Minuten geschüttelt, durch einen mit Glaswolle ausgelegten Glasrichter gesiebt und in Zentrifugengläser abgefüllt. Zentrifugieren und Abpipettieren des Serums. Nachfüllen von physiologischer Kochsalzlösung und abermals Zentrifugieren. Dieses Waschen mit Kochsalzlösung wird so oft wiederholt, bis die Kochsalzlösung nicht mehr gerötet ist. Eine etwa 2%ige Verdünnung der Blutkörperchen diente als Gebrauchsaufschwemmung in sämtlichen Versuchen.

2.) Hämolytischer Antioceptor.

Als hämolytischen Antioceptor bezeichnet man den spezifischen Antikörper gegen Hammelblutkörperchen. Er wird durch intravenöse Einverleibung von gewaschenen Blutkörperchen des Schafes im Kaninchen erzeugt. Aus gut gewaschenen Hammelblutkörperchen wird eine Grundverdünnung, 1 Teil physiologische Kochsalzlösung + 2 Teile Blutkörperchen, hergestellt. Ein kräftiges Kaninchen wird an 6 aufeinanderfolgenden Tagen intravenös geimpft. Am ersten Tag werden 0,1 ccm der Grundverdünnung + 0,9 ccm Kochsalzlösung, am zweiten Tag 0,2 ccm der Grundverdünnung + 0,8 ccm Kochsalzlösung injiziert. An den darauffolgenden Tagen werden immer 0,1 ccm mehr injiziert, so dass das Kaninchen am 6. Tag 0,6 ccm der Grundverdünnung + 0,4 ccm Kochsalzlösung injiziert bekommt. Drei Tage nach der letzten Injektion werden dem Kaninchen 3 - 4 ccm Blut aus der Ohrvene zur Probeblutuntersuchung entnommen. Zeigt das Serum den erforderlichen Titer von mindestens 1 : 2 000 an, so wird das Kaninchen entblutet.

3.) Komplement:

Als Komplement dient frisches Meerschweinchen Serum.
Das Komplement muss genau eingestellt werden, damit im Hauptversuch

- 8 -

einerseits eine genügende Komplementmenge gegeben ist und andererseits ein Komplementüberschuss vermieden wird. Für die Auswertung wird eine Verdünnung von 1 : 10 hergestellt: 0,3 ccm Meerschweinchen Serum + 2,7 ccm Kochsalzlösung. Das Komplement wird nun in fallenden Verdünnungen des Meerschweinchen Serums zusammen mit der Gebrauchsdosis des Amboceptors und einer 2%igen Aufschwemmung von Hammelblutkörperchen ausstitriert. Man bringt der Reihe nach 0,3, 0,25, 0,2, 0,15, 0,1 und 0,05 ccm der Serumverdünnung in Reagenzröhrchen und füllt mit Kochsalzlösung auf 3,0 ccm auf. Das Gemisch wird gut durchgeschüttelt und gelangt zur Bindung für 15 Minuten in das Wasserbad von 37°. Anschließend wird der hämolytische Amboceptor und die Hammelblutkörperchenaufschwemmung hinzugefügt. Das Ganze wird gut durchgeschüttelt und das Gemisch gelangt für weitere 10 Minuten in das Wasserbad von 37°.

Zusätzlich werden drei Kontrollen angesetzt, die ungelöst bleiben müssen und dadurch bestätigen, dass der Amboceptor ohne Komplement, das Komplement ohne Amboceptor und die Kochsalzlösung ohne Amboceptor und Komplement keine Hämolyse erzeugen. Als Titerhöhe wird diejenige Komplementmenge bezeichnet, bei der noch vollständige Hämolyse eingetreten ist. Ergibt die Auswertung noch eine vollständige Hämolyse bei 1,0 ccm Meerschweinchen Serum der Verdünnung 1 : 10 = 1A, so kann für den Hauptversuch eine 1,5%ige Lösung des Meerschweinchen Serums als Komplement verwendet werden.

4.) Spezifisches Antiserum.

a) Gewinnung der spezifischen Antisera.

Nach M a n t e u f e l l (11) können in der Praxis der tierärztlichen Nahrungsmitteluntersuchung durch die Komplementbindungsreaktion die für die Zwecke der Präzipitation hergestellten Antisera mit Erfolg verwendet werden. Nach den Untersuchungen von H ä n d o l und S t e f f e n h a g e n (8) ist bei Verwendung der präzipitierenden Antisera zur Komplementbindung zu berücksichtigen, dass nicht alle Sera einen hohen komplementbindenden Titer, ja oft gar keinen aufweisen. Gerade empfindliche präzipitierende Sera sollen oft keine komplementbindende Wirkung entfalten. G r a e t z (7) betrachtet das Vorkommen solcher Sera als relativ grosse Seltenheit.

- 3 -

Nach den Erfahrungen von U h l e n h u t h und S e i f f o r t (19), M a n t e u f f e l und B o g e r (12) sind zur Gewinnung hochwertiger, spezifischer präzipitierender Antiseren frische wirksame Antigene zur Injektion an gut genährten kräftigen Kaninchen zu verwenden. Nach den Angaben im Schrifttum werden die besten Ergebnisse erzielt durch intravenöse Vorbehandlung der Kaninchen mit Serum. Durch Vorbehandlung der Kaninchen mit Muskel- oder Organpreßsaft sind keine so hochwertigen und spezifischen Antiseren zu gewinnen und ausserdem ist mit höheren Tierverlusten zu rechnen.

Allgemein wird es als zweckmässig erachtet, den Tieren alle 5 - 6 Tage 1 - 3 ccm Serum zu injizieren. Die klassische Methode zur Gewinnung der Präcipitine ist die von U h l e n h u t h (19). Demnach werden in mehr oder weniger wöchentlichen Abständen 1 - 3 ccm Serum injiziert. Die Injektionen sollen 3- bis 4mal wiederholt werden. Weitere Injektionen haben angeblich keinen Einfluss mehr auf die Titerhöhe des Serums, da die Individualität des Tieres von starkem Einfluss auf die Präcipitinbildung ist. M a n t e u f f e l und B o g e r (12) erzielten gute Ergebnisse bei intravenöser Injektion von 1 - 2 ccm Serum am 1., 4., 7. und 12. Tag. Nach P f e i f e r (15) soll die schichtweise Immunisierung der Tiere sehr gute Erfolge liefern. Die Tiere erhalten an den ersten drei Tagen je 1 - 3 ccm eines abgelagerten oder inaktivierten Serums intravenös injiziert. Dann wird eine Pause von 6 Tagen eingeschaltet. Am 7. - 12. Tag nach der letzten Einspritzung werden den Tieren an zwei aufeinanderfolgenden Tagen 2 ccm des mit Kochsalzlösung zu gleichen Teilen verdünnten Serums intraperitoneal einverleibt, und an den beiden darauffolgenden Tagen erhalten die Tiere die unverdünnte Serummenge von 1 - 2 ccm wieder in die Ohrvene injiziert.

Zum Zwecke der Gewinnung spezifischer Antiseren für die eigenen Versuche wurden je zwei ausgewachsene Kaninchen mit Pferdeserum und mit wässrigen Extrakten von frischem und getrocknetem Pferdefleisch vorbehandelt.

Kaninchen Nr.1.

Injektionsmaterial: Unverdünntes inaktiviertes Pferdeserum.

Das Kaninchen wurde intravenös geimpft am 1. Tag mit 3 ccm, am 4. Tag mit 2 ccm, am 7. Tag mit 1,5 ccm und am 12. Tag mit 3,5 ccm Pferdeserum. Bei der Probelutuntersuchung nach der zweiten und dritten Injektion ergab sich kein komplementbindender Titer. Am 4. und 5. Tag nach der letzten

- 10 -

Injektion betrug der komplementbindende Titer 1 : 30 000 bzw. 1 : 40 000. Entblutung des Kaninchens am 7.Tag nach der letzten Injektion. Das Antiserum wies bei der endgültigen Auswertung bei 6 - 10%iger Verwendung gegenüber dem Eiweiß der Vorbehandlung einen Titer von 1 : 100 000 auf. Der Präzipitationstiter gegenüber Pferdeserum betrug 1 : 10 000.

Kaninchen Nr.2.

Injektionsmaterial: Unverdünntes inaktiviertes Pferdeserum.

Dem Kaninchen wurden am 1.Tag 3 ccm, am 4.Tag 2 ccm, am 8.Tag 1,5 ccm, am 13.Tag 2 ccm und am 26.Tag 4 ccm Pferdeserum intravenös injiziert. Die Probablutuntersuchung, die jeweils 3 - 5 Tage nach der vorhergehenden Injektion durchgeführt wurde, ergab nach der 2., 3. und 4.Injektion keinen Gehalt an komplementbindenden Antikörpern. Der Präzipitationstiter betrug nach der 4.Injektion 1 : 10 000. Erst nach der 5.Injektion ergab die Probablutuntersuchung einen komplementbindenden Titer des Antiserums. Entblutung des Kaninchens am 9.Tag nach der letzten Injektion. Das Antiserum wies zu diesem Zeitpunkt in der Auswertung bei 6 - 8 %iger Verwendung gegenüber Pferdeserum einen Titer von 1 : 80 000 auf. Der Präzipitationstiter betrug 1 : 10 000.

Kaninchen Nr.3.

Injektionsmaterial: Wässriger Auszug von frischem Pferdemuskelfleisch. Zerkleinern des Muskelfleisches mit sterilen Instrumenten und mit etwas dest. Wasser übergießen. 48 Stunden im Kühlschrank stehen lassen. Auspressen der Flüssigkeit und Zentrifugieren des Extraktes.

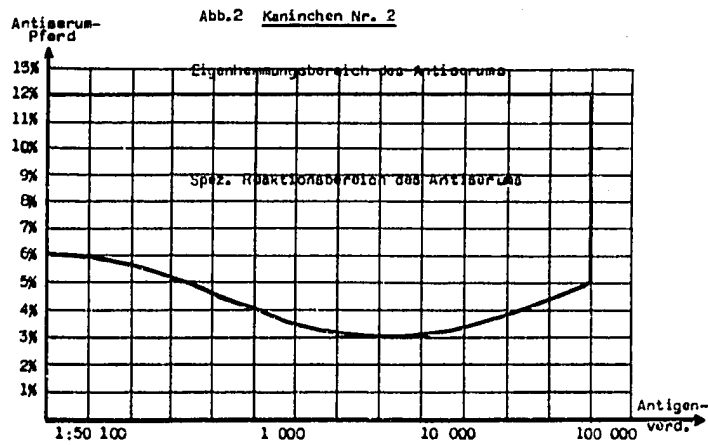
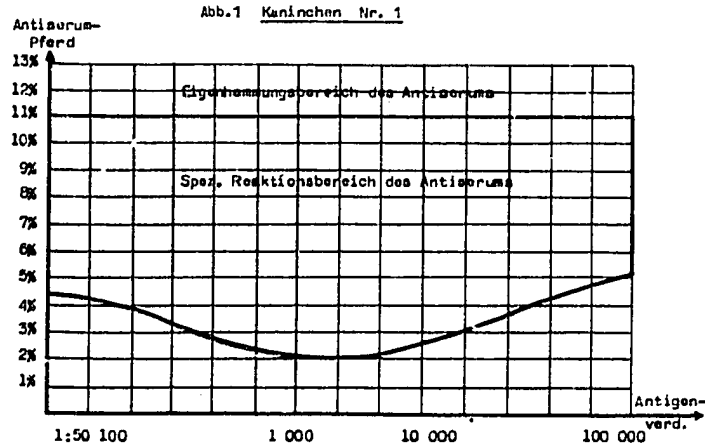
Dem Kaninchen wurden am 1.Tag 4 ccm, am 4.Tag 2,5ccm, am 8.Tag 2 ccm, am 13.Tag 2 ccm und am 28.Tag 4 ccm der wässrigen Extraktflüssigkeit intravenös injiziert. Die Probablutuntersuchungen nach der 3. und 4.Injektion ergaben keinen komplementbindenden Titer. Das Kaninchen wurde 8 Tage nach der letzten Injektion entblutet. Bei der endgültigen Auswertung wies das Serum gegenüber Extrakten von Pferdefleisch und gegenüber Pferdeserum keinen komplementbindenden Titer auf. Der Präzipitationstiter betrug 1 : 5 000.

Kaninchen Nr.4.

Injektionsmaterial: Wie bei Kaninchen Nr.3.

Das Kaninchen wurde intravenös geimpft am 1.Tag mit 3 ccm, am 4.Tag mit

- 11a -



- 11 -

2 ccm, am 7.Tag mit 1,5 ccm und am 18.Tag mit 3,5 ccm Extraktflüssigkeit. Das Tier verendete am 1.Tag nach der letzten Injektion infolge einer Darmruptur. Bei den durchgeführten Probelblutuntersuchungen ergab sich kein komplementbindender Titer des Antiserums.

Kaninchen Nr.5.

Injektionsmaterial: Wässriger Extrakt von getrocknetem Pferdefleisch. In feine Streifen und im Brutschrank getrocknetes Pferdefleisch wurde fein zerkleinert und mit dest.Wasser übergossen. Abgießen der Flüssigkeit nach 48 Stunden und Zentrifugieren.

Das Kaninchen wurden am 1.Tag 4 ccm, am 4.Tag 2,5 ccm, am 7.Tag 2,0 ccm und am 20.Tag 4,0 ccm wässrigen Extraktes intravenös injiziert. Die Probelblutuntersuchungen nach der 3. und 4.Injektion ergaben keinen komplementbindenden Titer. Der Präzipitationstiter betrug nach der letzten Injektion 1 : 5 000.

Kaninchen Nr.6.

Injektionsmaterial: Wässriger Auszug von getrocknetem Pferdefleisch.

Das Kaninchen wurden am 1.Tag 4 ccm, am 4.Tag 2,5 ccm, am 8.Tag 2,0 ccm, am 13.Tag 2,0 ccm und am 26.Tag 4,0 ccm wässrigen Extraktes intravenös injiziert. Nach der letzten Injektion zeigte das Tier erhebliche Störungen im Allgemeinbefinden und verendete nach 2 Tagen. Die Probelblutuntersuchungen ergaben weder einen komplementbindenden noch einen präzipitierenden Titer.

b) Auswertung des Antiserums.

Das Antiserum darf kein Komplement enthalten, es wurde deshalb eine halbe Stunde bei 56° im Wasserbad inaktiviert.

Die Prüfung der Wertigkeit des Antiserums gestaltete sich so, dass gleiche Mengen des Antigens mit steigenden Mengen des Antiserums zusammengebracht wurden und so die niedrigsten bestwirksamen Dosen des Antiserums ermittelt wurden. Ausserdem wurden gleiche Antiserumdosen gegenüber fallenden Antigenverdünnungen geprüft. Die Kontrollröhrchen Antiserum ohne Zusatz des Antigens dienen zur Prüfung der Eigenhemmung des Antiserums.

Der Gang der Versuchsanordnung geht aus den graphischen Darstellungen Abb. 1 und 2 hervor.

- 12 -

Je 0,5 ccm des Antigens, des Eiweissantiseraums und der Komplementgebrauchsdosis wurden zusammengebracht. Diese Mischungen gelangten für 45 Minuten ins 37°-Wasserbad und anschließend wurde der hämolytische Amboceptor und die Hammelblutkörperchenaufschwemmung hinzugefügt. Der Versuch gelangte für weitere 20 Minuten ins Wasserbad. Ablesen und Beurteilung der Ergebnisse nach 12 Stunden. Als Komplementgebrauchsdosis diente in sämtlichen Versuchen eine im 0,5% stärkere Verdünnung des Meerschweinchen-serums als die im Auswertungsversuch ermittelte gerade noch lösende Dosis. Ergab z.B. die Komplementauswertung noch eine vollständige Hämolyse bei einer 1%igen Verdünnung des als Komplement verwendeten Meerschweinchen-serums, so kam als Gebrauchsdosis eine 1,5%ige Lösung zur Verwendung. Gebrauchsdosis des hämolytischen Amboceptors: 1 : 100. Verdünnung der Hammelblutkörperchen: 2 : 100.

Die Auswertungsversuche geben also Aufschluss darüber, in welchen Verdünnungen das Antiserum gegenüber seinem homologen Eiweiss den grössten spezifischen Reaktionsbereich entfaltet. Ferner zeigt der Versuch die Höhe des komplementbindenden Titers des Antiserums an. Ausserdem ergeben die Kontrollen, in welchen Verdünnungen das Antiserum für sich komplement-ablenkend wirkt.

Zusammenfassung der Ergebnisse in den Auswertungsversuchen von den selbst hergestellten Antisera.

Das Serum der Kaninchen, die zum Zwecke der Antiserumgewinnung mit Extrakten von frischem und getrocknetem Pferdefleisch vorbehandelt wurden, wies keinen komplementbindenden Titer auf. Auch 20 - 30%ige Antiserumdosen ergaben gegenüber dem Eiweiss der Vorbehandlung keine Bindung des Komplements. Der Präcipitationstiter betrug bei zwei Kaninchen nach der letzten Injektion 1 : 5 000. Zwei Tiere zeigten nach der 4. Injektion erhebliche Störungen des Allgemeinbefindens und verendeten.

Das Serum der Kaninchen, die mit unverdünntem Pferdeserum vorbehandelt wurden, wies einen komplementbindenden Titer von 1 : 100 000 bzw. von 1 : 80 000 gegenüber seinem homologen Eiweiss auf. Der Präcipitationstiter betrug 1 : 10 000. Bei Verwendung derselben Komplementdosis war der spezifische Reaktionsbereich der beiden Antisera verschieden. Der Reaktionsbereich ist nämlich in hohem Maße abhängig von der jeweils verwendeten Komplementdosis. Eine Erhöhung der Komplementdosis bedingt eine Verschiebung des Reaktionsbereiches vom Antiserum, so dass nicht mehr bei 4 -

- 13 -

10%iger Verdünnung, sondern erst bei 8 - 15%iger Verdünnung des Pferde-antisera eine spezifische Reaktion zu erwarten ist. Es ist deshalb erforderlich, bei sämtlichen Versuchen immer die gleiche prozentuale Menge an Meerschweinchen Serum als Komplement zu der im Auswertungsversuch ermittelten gerade noch lösenden Dosis hinzuzufügen. Ausserdem ist es erforderlich, da der Reaktionbereich des Antisera von der verwendeten Komplementdosis abhängig ist, im Hauptversuch stets die entsprechenden Kontrollen anzusetzen. Sie allein können Aufschluss geben, ob die Verhältnisse unter den Reagenzien richtig sind.

Schlussfolgerungen:

Je kleiner die Antiserumdosis, die mit hohen Antigenverdünnungen eine vollständige Bindung des Komplements bedingt, und je grösser die Antiserumdosis, die keine Eigenhemmung entfaltet, um so hochwertiger ist das Antiserum. Ein hochwertiges, für die Komplementbindungsreaktion geeignetes Antiserum hat deshalb zur Voraussetzung, dass geringe Antiserumdosen einen hohen spez. komplementbindenden Titer aufweisen und erst hohe Antiserumdosen eine Eigenhemmung bewirken.

5.) Antigen.

Als Antigen wurden in den Versuchen wässrige Auslaugungsflüssigkeiten von Fleisch, Murst und Blutresten verwendet. Bei der Herrichtung des Antigens für den Hauptversuch ist zu berücksichtigen: 1. Der Extrakt soll möglichst viel gelöstes Eiweiss enthalten. 2. Der Extrakt soll frei von ungelösten Bestandteilen sein. Letzteres wird durch Zentrifugieren und Filtrieren erreicht. Die Erkennung, ob eine genügende Menge Eiweiss in Lösung gegangen ist, kann einige Schwierigkeiten bereiten. Bei den wässrigen Untersuchungsextrakten lässt sich der Gehalt an gelöstem Eiweiss mit Hilfe der Schüttelprobe und der Salpetersäurekochenprobe ungefähr bestimmen.

Bei der Schüttelprobe werden einige ccm des Extraktes in ein Reagenzglas gebracht und gut durchgeschüttelt. Einige Zeit bestehenbleibende Schaumbildung ist ein Zeichen dafür, dass genügend Eiweiss in Lösung gegangen ist. Bei Blutserumlösungen hört die Schaumbildung bei Verdünnungen von 1 : 4 000 auf. Der Verdünnungsgrad lässt sich auf Grund der

- 14 -

Schaumbildung bei Fleischextrakten nicht bestimmen. Extrakte von fettem Muskelfleisch ergeben nämlich eine stärkere Schaumbildung als Extrakte von magerem Muskelfleisch. Bei Extrakten von magerem Muskelfleisch ist nach *W e i d a n z* (3) eine Schaumbildung bis zu einer Verdünnung von 1 : 1 000 zu erreichen. Besser geeignet zur Bestimmung des Eiweißgehaltes der Extraktflüssigkeit ist die Salpetersäurekochprobe. Eine kleine Menge des Extraktes wird mit einigen Tropfen Salpetersäure vom spez. Gewicht 1,53 versetzt und gekocht. Tritt keine Niederschlagsbildung, sondern nur noch eine diffuse Trübung auf, so entspricht das nach *M a n t e u f f e l* (11) einer Serumverdünnung von ungefähr 1 : 10 000.

Die Prüfung der Antigenverdünnungen auf ihre Eigenhemmung kann in Vorversuchen unterbleiben, wenn im Hauptversuch eine Parallelversuchreihe mit absteigenden Antigenverdünnungen ohne Antiserumzusatz, an dessen Stelle das gleiche Volumen Kochsalzlösung tritt, angesetzt wird.

- 15 -

V e r s u c h s a n o r d n u n g .

Die Extraktflüssigkeiten wurden in abgetufteten Verdünnungen mit dem in Frage kommenden Eiweißantiserum und der Komplementgebrauchsdosis zusammengebracht. Diese Mischungen wurden für 45 Minuten in einem auf 37° erwärmten Wasserbad der Bindung überlassen und anschließend der hämolytische Amboceptor und die Hammelblutkörperchenaufschwemmung hinzugefügt. Der Versuch gelangte für weitere 20 Minuten in das Wasserbad von 37°. Die Beurteilung der Ergebnisse erfolgte endgültig nach 12 Stunden und zwar nach folgenden Gesichtspunkten:

- H = Hemmung: Die gesamte Komplementdosis wurde gebunden. Die Lösung ist wasserklar und sämtliche Blutkörperchen haben sich in der Kuppe des Reagenzglases abgesetzt.
- uH = unvollkommene Hemmung: Die Lösung ist leicht rosa gefärbt. Beim Aufschütteln des Bodensatzes wird sie wieder deckfarben.
- uL = unvollkommene Hämolyse: Lackfarbene gefärbte Lösung, in der beim Aufschütteln des Bodensatzes eine geringe Schleierbildung auftritt.
- L = Hämolyse: Sämtliche Blutkörperchen sind gelöst. Die Lösung bleibt beim Schütteln vollkommen lackfarben und erfährt keine Trübung.

Als Komplementgebrauchsdosis diente in sämtlichen Versuchen eine um 0,5% höhere Verdünnung des Meerschweinchen-serums als die im Auswertungsvorversuch ermittelte gerade noch lösende Dosis. Ergab z.B. die Komplementauswertung noch eine vollständige Hämolyse bei 1%iger Verwendung des Meerschweinchen-serums, so kam als Gebrauchsdosis des Komplements eine 1,5%ige Lösung des Meerschweinchen-serums zur Anwendung. Die Dosis des hämolytischen Amboceptors und die prozentuale Menge der Hammelblutkörperchenaufschwemmung war in sämtlichen Versuchen gleich. Gebrauchsdosis des spez. Antiserums siehe bei den einzelnen Versuchen.

Als ständige Kontrollen wurden bei jedem Versuch angesetzt: Antiserum ohne Zusatz des Antigens und Antiserum mit Zusatz des homologen Serumweißes. Ferner dienten als Kontrollen die Verdünnungen des Untersuchungs-extraktes ohne Zusatz des Antiserums. Die beiden ersten Kontrollen geben Aufschluss darüber, ob die Verhältnisse unter den Reagenzien richtig sind. Letztere Kontrolle - Extraktverdünnungen ohne Zusatz des Antiserums - dient zur Prüfung der Eigenhemmung des Extraktes. Die Prüfung,

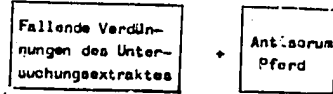
- 16 -

ob das Antiserum - Pferd mit einem heterologen Eiweiß eine unspezifische Bindung des Komplements ergibt, erfolgte in einer gesonderten Versuchsreihe. So wurde bei Fleischgemengen, die Rind- und Schweinefleisch enthielten und die auf eine Beimengung von Pferdefleisch untersucht wurden, eine zusätzliche Kontrollreihe angesetzt. In dieser Reihe wurden fallende Verdünnungen eines Extraktes von Rind- und Schweinefleisch mit Antiserum - Pferd zusammengebracht.

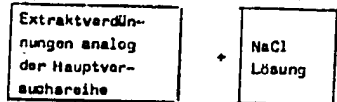
Die Kontrollen dienen zur Überprüfung der in der Hauptversuchsreihe in Erscheinung tretenden Reaktionen. Eine Bindung des Komplements in der Hauptversuchsreihe kann nur dann als spezifische Reaktion bewertet werden, wenn die Kontrollen sinngemäß ausgefallen sind.

Für den Nachweis von Pferdefleisch in den Untersuchungsextrakten müssen folgende Versuchsreihen und Kontrollen angesetzt werden:

1. Hauptversuchsreihe.



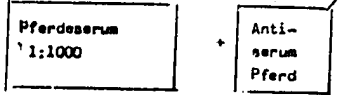
2. Kontrollversuchsreihe.



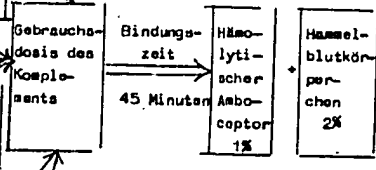
3. Neg. Kontrolle des Antiserums.



4. Positive Kontrolle des Antiserums.



5. Kontrolle des hämolytischen Systems.



1.) Nachweis von frischem Pferdefleisch.

Zur Untersuchung gelangte durch den Fleischwolf zerkleinertes Pferde-, Rind- und Schweinefleisch. Ausserdem wurden mit Pfeffer und Salz gewürzte Fleischgemenge von Rind- und Schweinefleisch, denen Pferdefleisch in fallenden prozentualen Verhältnissen beigelegt war, untersucht.

- Untersuchungsmaterial: a) Frisches Pferdefleisch.
 b) Gemenge von frischem Schweine- und Rindfleisch.
 c) Schweine- und Rindfleisch mit einer Beimengung von 20% Pferdefleisch.
 d) Rind- und Schweinefleisch mit einer Beimengung von 10% Pferdefleisch.
 e) Rind- und Schweinefleisch mit einer Beimengung von 5% Pferdefleisch.

Extrakterstellung: Das Untersuchungsmaterial wurde 48 Stunden mit dest. Wasser ausgelaut und anschliessend zentrifugiert. Filtrieren der Extraktflüssigkeiten durch Papierfilter, um sie von den oben schwimmenden Fettelchen zu befreien.

Untersuchungsextrakt a) Frisches Pferdefleisch.

Extraktverd.: 1:5 10 20 40 50 80 100 200 Kontrollreihe
 1:5 10 20 40 80
 Antiserum - Pferd 0% NaCl-Lösung

Ergebnis: H H H H H H H H L L L L L L

Untersuchungsextrakt b) Schweine- und Rindfleisch zu gleichen Teilen.

Extraktverd.: 1:5 10 20 40 50 80 100 200 Kontrollreihe
 1:5 10 20 40 80
 Antiserum - Pferd 0% NaCl-Lösung

Ergebnis: L L L L L L L L L L L L L L

Untersuchungsextrakt c) Schweine- und Rindfleisch mit einer Beimengung von 20% Pferdefleisch.

Extraktverd.	1:5	10	20	40	50	100	200	Kontrollreihe:	1:5	10	20	40	50	100
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung					

Ergebnis	H	H	H	H	H	H	H	uH	L	L	L	L	L	L
----------	---	---	---	---	---	---	---	----	---	---	---	---	---	---

Untersuchungsextrakt d) Schweine- und Rindfleisch mit einer Beimengung von 10% Pferdefleisch.

Extraktverd.	1:5	10	20	40	50	100	200	Kontrollreihe:	1:5	10	20	40	50	100
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung					

Ergebnis	H	H	H	H	H	uL	L	L	L	L	L	L	L	L
----------	---	---	---	---	---	----	---	---	---	---	---	---	---	---

Untersuchungsextrakt e) Schweine- und Rindfleisch mit einer Beimengung von 5% Pferdefleisch.

Extraktverd.	1:5	10	20	40	50	100	200	Kontrollreihe:	1:5	10	20	40	50	100
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung					

Ergebnis	H	H	H	uH	uH	L	L	L	L	L	L	L	L	L
----------	---	---	---	----	----	---	---	---	---	---	---	---	---	---

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Die Untersuchungsextrakte von Rind- Schweinefleisch ergaben mit Antiserum - Pferd keine Komplementablenkung. Die Extrakte von rohem Pferdefleisch bewirkten bis zu einer Verdünnung von 1:500, bei Verwendung des Antiserums, das durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Pferdeserum gewonnen wurde, eine vollständige Bindung des Komplements. In den Untersuchungsextrakten von Fleischgemengen, denen Pferdefleisch in fallenden Mengen zugesetzt war, liess sich Pferdefleisch bei einer 5%igen Beimengung noch mit Sicherheit nachweisen. Die Kontrollreihen zur Prüfung der Extraktverdünnungen auf ihre antikomplementären Eigenschaften ergaben in östlichen Röhrchen Hämolyse.

2.) Nachweis von getrocknetem Pferdefleisch.

Muskelstücke wurden in feine Streifen geschnitten und im Brutschrank 3 - 4 Tage getrocknet. Auf diese Weise getrocknetes Fleisch diente als Ausgangsmaterial zur Herstellung der Untersuchungsextrakte. Die getrockneten Fleischstücke wurden im Mörser zerrieben und mit dest. Wasser übergossen. Abgießen der wässrigen Auslaugungsflüssigkeit nach 48 Stunden und Zentrifugieren.

- Untersuchungsmaterial: a) Getrocknetes Pferdefleisch,
 b) Gemenge von getrocknetem Schweine- und Rindfleisch,
 c) Trockenfleischgemenge, bestehend aus je 2 Teilen Rind- und Schweinefleisch und 1 Teil Pferdefleisch.

Untersuchungsmaterial a) Getrocknetes Pferdefleisch.

Extraktverd.: 1:50 100 150 200 400 500 Kontrollreihe:
 1:50 100 200 400

	Antiserum - Pferd 8%						NaCl-Lösung			
Ergebnis:	H	H	H	H	H	uL	L	L	L	L

Untersuchungsmaterial b) Getrocknetes Schweine- und Rindfleisch.

Extraktverd.: 1:50 100 150 200 400 500 Kontrollreihe:
 1:50 100 200 400

	Antiserum - Pferd 8%						NaCl-Lösung			
Ergebnis:	L	L	L	L	L	L	L	L	L	L

Untersuchungsmaterial c) Trockenfleischgemenge, 20% Pferdefleisch enthaltend.

Extraktverd. 1:50 100 150 200 400 500 Kontrollreihe:
 1:50 100 200 400

	Antiserum - Pferd 8%						NaCl-Lösung			
Ergebnis:	H	H	uH	uH	uL	L	L	L	L	L

- 21 -

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Die Untersuchungs-extrakte von getrocknetem Pferdefleisch bewirkten bis zu einer Verdünnung von 1:400 bei Zusatz von 0,5% Antiserum - Pferd eine vollständige Bindung des Komplements. Die Extrakte von getrocknetem Schweine- und Rindfleisch ergaben mit Antiserum - Pferd keine Komplementbindung. Extrakte von Trockenfleischgemengen, denen 20% Pferdefleisch zugesetzt war, ergaben mit Antiserum - Pferd bis zu einer Verdünnung von 1:100 eine spez. Komplementbindung.

3.) Nachweis von gepökeltem Pferdefleisch.

Zur Untersuchung wurde Pferdefleisch verwendet, das 3 - 4 Wochen in Salzlake gelegen hatte.

Untersuchungsmaterial a) Zerkleinerte Pökelfleischstücke, die mit dest. Wasser 3 x ausgewaschen wurden, um sie von ihrem Salzgehalt zu befreien.

b) Pökelfleischstücke, die nicht ausgewaschen wurden.

Extraktherstellung: Wie bei den vorhergehenden Versuchen.

Untersuchungsmaterial a)

Extraktverd.:	Antiserum - Pferd 0%						Kontrollreihe:				
	1:50	100	200	400	500	800	1:50	100	200	400	500
							NaCl-Lösung				

Ergebnis:	H	H	H	uH	uH	L	uL	L	L	L	L
-----------	---	---	---	----	----	---	----	---	---	---	---

Untersuchungsmaterial b)

Extraktverd.	Antiserum - Pferd 0%					Kontrollreihe:				
	1:50	100	200	400	500	800	1:50	100	200	400
						NaCl-Lösung				

Ergebnis:	H	H	H	H	H	uL	uL	L	L	L	L
-----------	---	---	---	---	---	----	----	---	---	---	---

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Bis zu einer Extraktverdünnung von 1:500 liess sich gepökeltes Pferdefleisch durch vollständiges Ausbleiben der Hämolyse nachweisen. Der Untersuchungs-extrakt, hergestellt aus einem von seinem Salzgehalt befreiten Pökelfleisch, ergab in einer Verdünnung von 1:200 noch eine komplette Bindung des Kom-

menta. In den Kontrollreihen zur Prüfung der Extrakte auf ihre Eigenhemmung trat in sämtlichen Röhrchen Hämolyse ein, eine Eigenhemmung bestand demnach nicht.

4.) Nachweis von teilweise verfaultem Pferdefleisch.

Zur Herstellung der Untersuchungsextrakte wurden Fleisch- und Organstücke sowie Blutreste vom Pferd verwendet, die 3 - 4 Wochen in einem Kühlon, dunklen Raum standen. Die Proben waren vollständig mit Schimmelpilzen überwachsen und wiesen starken Amageruch auf.

- Untersuchungsmaterial a) Fauliges Pferdefleisch.
 b) Faulige Pferdeleber.
 c) Faulig-jauchiges Pferdeblut.
 d) Fauliges Rindfleisch.

Extrakterstellung: Zerkleinern des fauligen Materials, Übergießen mit dest. Wasser und 48 Stunden stehen lassen. Abgießen, Zentrifugieren und Filtrieren der wässrigen Auslaugungsflüssigkeiten. Die Extraktflüssigkeiten waren alle sehr misfarben und übelriechend.

Untersuchungsmaterial a) Fauliges Pferdefleisch.

Extraktverd.	1:50 100 200 400 500					Kontrollreihe:			
	Antiserum - Pferd 0%					NaCl-Lösung			
Ergebnis:	H	H	H	uH	uL	uH	L	L	L

Untersuchungsmaterial b) Faulige Pferdeleber.

Extraktverd.	1:50 100 200 400 500					Kontrollreihe:			
	Antiserum - Pferd 0%					NaCl-Lösung			
Ergebnis:	H	H	uH	uH	L	uH	uL	L	L

- 23 -

Untersuchungsmaterial c) Faulig-jauchiges Pferdeblut.

Extraktverd.: 1:50 100 200 400 500 Kontrollreihe:
1:50 100 200 400 500

Ergebnis:	Antiserum - Pferd 8%					NaCl-Lösung				
	H	H	H	H	H	uH	L	L	L	L
	H	H	H	H	H	uH	L	L	L	L

Untersuchungsmaterial d) Fauliges Rindfleisch.

Extraktverd.: 1:50 100 200 400 500 Kontrollreihe:
1:50 100 200 400 500

Ergebnis:	Antiserum - Pferd 8%					NaCl-Lösung				
	uH	L	L	L	L	uL	L	L	L	L
	uH	L	L	L	L	uL	L	L	L	L

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Die Extrakte von verdorbenem Fleisch und Blut des Pferdes ergaben bei Zusatz von 8%igem Antiserum - Pferd bis zu einer Verdünnung von 1:200 eine vollkommene Komplementablenkung. Extrakt von fauligem Rindfleisch ergab mit Antiserum - Pferd keine Bindung des Komplements. Eine unspez. Komplementbindung bewirkten die Extrakte bis zu einer Verdünnung von 1:50.

5.) Nachweis von Pferdefleisch in Würsten.

Zur Untersuchung gelangten handelsübliche Pferderohwürste, die eine geringe Beimengung von Schweinefleisch enthielten. Ferner diente als Untersuchungsmaterial fein gekuttertes Würstgut, bestehend aus Rind- und Schweinefleisch, dem ungefähr 20% Pferdefleisch beigemischt war. Dieses Würstgut wurde in Papierdärme mit einem Durchmesser von 8 cm abgefüllt und anschließend auf verschiedenen hohen Temperaturen im Wasserkocher erwärmt.

- Untersuchungsmaterial
- Handelsübliche Pferderohwurst.
 - Brühwurst 20% Pferdefleisch enthaltend, 25 Minuten auf 75° erwärmt.
 - Brühwurst 20% Pferdefleisch enthaltend, 60 Minuten auf 75° erwärmt.
 - Kochwurst 20% Pferdefleisch enthaltend, 30 Minuten auf 95° erwärmt.
 - Rohsaalami ohne Beimengung von Pferdefleisch.
 - Brühwurst, Rind- und Schweinefleisch enthaltend.

Extrakterstellung: Zerreiben des Wurstatgutes im Mörser und Übergießen mit dest. Wasser. 48 Stunden stehen lassen. Zentrifugieren und Filtrieren der Auslaugungsflüssigkeiten. Die Extrakte wiesen einen verschieden starken Eiweißgehalt auf. Die Auslaugungsflüssigkeiten von den Koch- und Brühwürsten zeigten bei der Salpetersäurekochprobe im unverdünnten Zustand denselben Grad der Trübung, wie die Extrakte der Rohwürste in einer Verdünnung von 1:20. Wegen des geringen Eiweißgehaltes der wässrigen Auszüge von den Koch- und Brühwürsten wurden für die Untersuchung niedrige Extraktverdünnungen verwendet.

Untersuchungsmaterial a) Pferderohwurst

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	80	160	Kontrollreihe:	1:2	4	8	10	20	40	80
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung							
Ergebnis:	H	H	H	H	H	H	H	uH	uL	L	L	L	L	L	L	L

Untersuchungsmaterial b) Brühwurst, 25 Min. auf 75° erwärmt.

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	80	160	Kontrollreihe:	1:2	4	8	10	20	40	80
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung							
Ergebnis:	H	H	H	H	H	uH	uL	L	uL	L	L	L	L	L	L	L

Untersuchungsmaterial c) Brühwurst, 60 Min. auf 75° erwärmt.

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	80	160	Kontrollreihe:	1:2	4	8	10	20	40	80
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung							
Ergebnis:	uH	uL	L	L	L	L	L	L	uL	L	L	L	L	L	L	L

Untersuchungsmaterial d) Kochwurst, 30 Min. auf 95° erwärmt.

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	80	160	Kontrollreihe:	1:2	4	8	10	20	40	80
	Antiserum - Pferd 8%								NaCl-Lösung							
Ergebnis:	uH	uH	uL	L	L	L	L	L	uH	uL	L	L	L	L	L	L

- 25 -

Untersuchungsmaterial e) Rohsalami, ohne Beimengung von Pferdefleisch.

Extraktverd.: 1:2 4 8 10 20 40 80 160 Kontrollreihe:
1:2 4 8 10 20 40 80
Antiserum - Pferd 8% NaCl-Lösung

Ergebnis: uH uL uL L L L L L uL uL L L L L L

Untersuchungsmaterial f) Brühwürst, Rind- und Schweinefleisch enthaltend.

Extraktverd. 1:2 4 8 10 20 40 80 160 Kontrollreihe:
1:2 4 8 10 20 40 80
Antiserum - Pferd 8% NaCl-Lösung

Ergebnis: uH uH L L L L L L uH uL L L L L L

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Die Auslaugungsflüssigkeiten von Pferderohwürsten bewirkten bis zu einer Verdünnung von 1:100 eine vollständige Bindung des Komplements. Extrakte von Brühwürsten, denen 20% Pferdefleisch beigegeben war und die 25 Minuten auf 75° erwärmt wurden, bedingten noch in einer Verdünnung von 1:20 eine komplette Komplementablenkung. Extraktflüssigkeiten von Pferdebrühwürsten, die 60 Minuten auf 75° erwärmt wurden sowie die Extrakte von Pferdebrühwürsten ergaben keine spezifische Bindung des Komplements mehr. Die Extrakte von Roh- und Brühwürsten, die kein Pferdefleisch enthielten, ergaben bei Zusatz von Antiserum - Pferd in sämtlichen Röhrchen Hämolyse.

6. Nachweis von Pferdeblutresten auf Spurenlägern.

Als Spurenläger dienen: Papier, Stroh, Jutefaser, Baumrinde, Putzwolle und Haare.

Es gelangten zur Untersuchung: In der Hauptversuchsreihe eingetrocknete Pferdeblutreste auf den oben bezeichneten Stoffen. In der Kontrollversuchsreihe eingetrocknete Spuren von Schweine- und Rinderblut auf denselben Stoffen. Die Kontrollversuchsreihe gibt Aufschluss darüber, inwieweit die Reaktionen in der Hauptversuchsreihe als spezifisch zu bewerten sind. Sie zeigt an, ob die Extrakte der Trägerstoffe für sich komplementablenkend wirken und ob eine unspezifische Komplementablenkung zwischen Antiserum - Pferd und Schweine- und Rinderblutresten zustande kommt.

- 26 -

Extraktherstellung: Die Spurenräger mit den eingetrockneten Blutresten wurden 48 Stunden mit einigen cem physiologischer Kochsalz-lösung ausgelaugt. Abgesehen der Extraktflüssigkeit und Zentrifugieren.

Zeitungspeper als Spurenräger:

a) Erbsengrosser Blutfleck vom Pferd.

Extraktverd.: 1:2 4 8 10 20 40 Kontr.: Rinderblutrest auf Zeitungspap.
1:2 4 8 10 20 40

Antiserum - Pferd 0% Antiserum - Pferd 0%

Ergebnis: H H H H H uH L L L L L L

b) Punktförmiger, spritzerartiger Blutfleck vom Pferd.

Extraktverd.: 1:2 4 8 10 20 40

Antiserum - Pferd 0%

Ergebnis: H H uL L L L

Stroh als Spurenräger: Stroh mit einer kleinen Blutkruste vom Pferd bedeckt.

Extraktverd.: 1:2 4 8 10 20 40 80 Kontr.: Schweineblutrest auf Stroh
eingetrocknet

1:2 4 8 10 20 40

Antiserum - Pferd 0% Antiserum - Pferd 0%

Ergebnis: H H H H H H uH L L L L L L

Jutefaser als Spurenräger: mit Pferdeblut getränkte Jutefaser.

Extraktverd.: 1:2 4 8 10 20 40 Kontr.: Mit Rinderblut getränkte Jute-
faser

1:2 4 8 10 20 40

Antiserum - Pferd 0% Antiserum-Pferd 0%

Ergebnis: H H H H H H L L L L L L

Baumrinde als Spureenträger: Größerer Blutfleck von Pferd auf einer Baumrinde eingetrocknet.

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	Kontrolle:	Baumrinde mit einem Rest von Schweineblut
								1:2 4 8 10 20 40
	Antiserum - Pferd 0%							Antiserum - Pferd 0%

Ergebnis:	H	H	H	uH	uH	uH		H	H	H	uH	uH	L
-----------	---	---	---	----	----	----	--	---	---	---	----	----	---

Haare als Spureenträger: Kleinste Spuren von Pferdeblut an einigen Rinderhaaren.

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	Kontrolle:	Haare mit Spuren von Rinderblut
								1:2 4 8 10 20 40
	Antiserum - Pferd 0%							Antiserum - Pferd 0%

Ergebnis:	H	H	H	uH	L	L		L	L	L	L	L	L
-----------	---	---	---	----	---	---	--	---	---	---	---	---	---

Putzwolle als Spureenträger: Schmierige, ölige Putzwolle, auf der zwei Tropfen Pferdeblut eingetrocknet wurden.

Extraktverd.:	1:2	4	8	10	20	40	Kontrolle:	Putzwolle mit Spuren von Rinderblut
								1:2 4 8 10 20 40
	Antiserum - Pferd 0%							Antiserum - Pferd 0%

Ergebnis:	H	H	H	H	uH	uH		L	L	L	L	L	L
-----------	---	---	---	---	----	----	--	---	---	---	---	---	---

Zusammenfassung der Ergebnisse:

Die Extraktflüssigkeiten der verschiedensten Spureenträger, auf denen Pferdeblutreste eingetrocknet wurden, ergaben in fallenden Verdünnungen bei Zusatz des spezifischen Antiserums eine vollständige Bindung des Komplements. Die Auslaugungsflüssigkeiten derselben Trägerstoffe mit Blutresten von Schwein und Rind bewirkten bei Zusatz von Antiserum - Pferd keine Bindung des Komplements. Antikomplementäre Eigenschaften wies von den untersuchten Stoffen nur der Extrakt von Baumrinde auf.

Beurteilung der gesamten Versuchsergebnisse.

In den einzelnen Versuchen wurde die biologische Eiweisddifferenzierung durch die Komplementbindungsreaktion einer Prüfung unterzogen.

In den Vorversuchen wurden die für die Komplementbindungsreaktion erforderlichen Reagenzien aufeinander eingestellt. Die Einstellung des hämolytischen Antioeptors und des Komplements erfolgte nach den allgemein üblichen Gesichtspunkten.

Nicht ohne Schwierigkeit war die Gewinnung von hochwertigem spezifischen Antiserum. Durch intravenöse Injektion von Muskelextrakten an Kaninchen war kein brauchbares Antiserum zu erhalten. Die Vorbehandlung der Kaninchen mit Serum führte aber in jedem Falle zu einem hochwertigen, spezifischen Antiserum.

Die Ausbildung von präzipitierenden und komplementbindenden Antikörpern verlief nicht parallel. So wies das Serum der Kaninchen, die mit Muskel-extrakt vorbehandelt waren, wohl einen präzipitierenden, aber keinen komplementbindenden Titer auf. Die mit Serum vorbehandelten Kaninchen wiesen bereits nach der dritten Injektion präzipitierende Antikörper auf. Zur Ausbildung von komplementbindenden Antikörpern waren weitere Injektionen erforderlich.

Die Abhängigkeit der Komplementbindungserscheinung von einem günstigen Antigen-Antiserumgemisch erfordert eine genaue Auswertung des Antiserums. Hohe Antiserumdosen bewirken ohne Zusatz des Antigens eine Eigenhemmung. Bei niedrigen Antiserumdosen ist bei Zusatz des entsprechenden Antigens keine Bindung des Komplements zu erwarten. Durch die Auswertung ist der zwischen den hohen eigenhemmenden und den niedrigen unwirksamen Antiserumdosen liegende spezifische Reaktionsbereich des Antiserums zu ermitteln. Es bedarf keiner Betonung, dass der Reaktionsbereich abhängig ist von den quantitativen Verhältnissen innerhalb des hämolytischen Systems und der zur Verwendung gelangenden Komplementdosis. Findet in sämtlichen Versuchen ein gleichbleibendes hämolytisches System und immer eine bestimmte Komplementdosis Verwendung, so genügt eine einmalige Auswertung des Antiserums.

Je kleiner die Antiserumdosis, die mit hohen Antigenverdünnungen eine vollständige Bindung des Komplements bedingt und je grösser die Antiserumdosis,

- 29 -

die keine Eigenhemmung entfaltet, um so hochwertiger ist das Antiserum. Bei den durchgeführten Untersuchungen wiesen die Extrakte von frischem Muskelfleisch den stärksten Eiweißgehalt auf. Die Auszüge von getrocknetem, gepökeltem und durch Fäulnisprozesse zersetztem Fleisch ergaben einen geringeren Eiweißgehalt. Die Höhe des komplementbindenden Titers gegenüber wässrigen Fleischauszügen ist abhängig von der Menge des gelösten Eiweißes. Hohe Extraktverdünnungen ergaben bei Zusatz des spez. Antiserums selbst dann noch eine Bindung des Komplements, wenn mittels der Salpetersäurekochprobe in diesen Verdünnungsgraden kein gelöstes Eiweiß mehr nachzuweisen war.

Die Untersuchung der wässrigen Fleischauszüge auf antikomplementäre Eigenschaften, die in Parallelversuchsreihen durchgeführt wurde, ergab: Stark antikomplementär wirkten nur die konzentrierten Verdünnungen der Auszüge. Stärkere Eigenhemmung wiesen die Auszüge von gepökeltem und verfaultem Fleisch auf. Ausserhalb des eigenhemmenden Bereiches waren auch bei diesen Extrakten in höheren Verdünnungen noch spez. Reaktionen zu erzielen. Von den untersuchten Trägerstoffen für Blutspuren zeigte der Extrakt von Baumrinde auch in höheren Verdünnungen Eigenhemmung. Eine Bewertung des Versuches war nicht möglich, da in der Kontrollversuchsreihe dieselben Antigenverdünnungen zur Hemmung der Hämolyse ausreichten wie in der Hauptversuchsreihe.

Die Untersuchung der Antigenauszüge in absteigender Verdünnungen in zwei Parallelversuchsreihen - Hauptversuchsreihe und Kontrollversuchsreihe - erwies sich als zweckmässig. Genügten in der Hauptversuchsreihe noch viel höhere Antigenverdünnungen zur Bindung des Komplements als in der Kontrollversuchsreihe - Antigenverdünnungen ohne Antiserumzusatz -, so konnte dies als positive Reaktion bewertet werden. Bei zweifelhaften Ergebnissen ist eine Wiederholung des Versuches zur Sicherung des Befundes unbedingt erforderlich. Aus diesem Grunde wurden die in den vorstehenden Versuchen erzielten Ergebnisse in allen Fällen durch mehrmalige Wiederholung der Versuche erhärtet.

Z u s a m m e n f a s s u n g .

Durch eine Reihe von Versuchen konnte dargelegt werden, dass sich die Komplementbindungsreaktion zur biologischen Eiweißdifferenzierung eignet. Die Versuche beschränkten sich auf den Nachweis von Pferdeeiweiß und auf die Differenzierung gegenüber Schweine- und Rindereiweiß. Die zusammenfassende Beurteilung der Versuchsergebnisse lässt folgende Schlussfolgerungen zu:

Beim Nachweis von frischem Pferdefleisch durch die Komplementbindungsmethode lassen sich mit Antiserum, das durch Vorbehandlung von Kaninchen mit Pferdeserum gewonnen wurde, zuverlässige Ergebnisse erzielen. Geringe Beimengungen von Pferdefleisch in Rohfleischgemengen können mit Sicherheit nachgewiesen werden. Trotz der auftretenden Eigenhemmung in niedrigen Verdünnungsgraden der Antigenauszüge lässt sich getrocknetes, gepökeltes und durch Fäulnisprozesse zersetztes Pferdefleisch in höheren Extraktverdünnungen nachweisen. Geringste Mengen gelöstes Eiweiß, die weit ausserhalb des Bereiches der Eigenhemmung vom Untersuchungs-extrakt liegen, genügen nämlich, um klare Reaktionabilder zu bekommen. Die Untersuchung von Rohwürsten durch die Komplementbindungsreaktion auf Beimengung von Pferdefleisch bereitet keine Schwierigkeiten. Bei Würsten, die länger als 25 Minuten auf 75° erwärmt wurden, ist der Nachweis eines spezifischen Eiweißes nicht mehr möglich. Blutreste, die sich auf Trägerstoffen befinden, können nach gründlicher Auelaugung ihrer Herkunft nach bestimmt werden. Die Bestimmung der Herkunft kleinster spritzerartiger Blutflecke ist möglich.

Page Denied

Next 3 Page(s) In Document Denied

7

in:

**Das Diagnoseproblem der Trichomonadeninfektion
des Rindes unter besonderer Berücksichtigung
des kulturellen Nachweises beim Bullen**

Otto Günzler

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleißheim
Direktor: Professor Dr. Hugo G r a u

DAS DIAGNOSEPROBLEM DER TRICHOMONADENINFEKTION DES RINDES
UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DES KULTURELLEN
NACHWEISES BEIM BULLEN.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

O t t o D ü n z l e r

Tierarzt

aus

München

München 1952

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Geheimrat Professor Dr. Dr.h.c. R. D e m o l l
Referent: Professor Dr. Hugo G r a u

Tag der Promotion: 18.7.1952

U N I - Druck, München 13, Amalienstr.85

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
A. EINLEITUNG	1
I. Geschichtliches	1
II. Verbreitung und Schaden	2
B. ALLGEMEINER TEIL	5
I. Morphologie	5
II. Biologie	8
III. Tenzitt	15
C. SPEZIELLER TEIL	23
I. Diagnosemöglichkeiten ohne Nachweis des Erregers	23
II. Diagnose durch den Nachweis des Erregers	29
D. EIGENE VERSUCHE	44
Versuchsreihe 1: Versuche mit Penicillin zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen	45
Versuchsreihe 2: Untersuchung der Bakterienflora des Prputialsackes	48
Versuchsreihe 3: Versuche mit Aureomycin zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen	66
Versuchsreihe 4: Haltbarkeit und Konservierung von Spülproben	91
Versuchsreihe 5: Versuche mit einer Kombination von Penicillin mit Streptomycin zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen	105
Versuchsreihe 6: Versuche zur Steigerung der Wachstumsintensität v. Trichom. genit. bovis in Kulturen	129
Versuchsreihe 7: Züchtungsversuche von Trichomonaden auf dem Abelein'schen Nährboden	137
E. ABSCHLIESSENDE ZUSAMMENFASSUNG	143
F. LITERATURNACHWEIS	146

- 1 -

A. Einleitung

I. Geschichtliches

Im Jahre 1887 berichtete ISEPONI (52) über Krankheiten des Genitaltraktes des weiblichen Rindes, in deren Folge eine vermehrte Unfruchtbarkeit Platz greife und die mit Knötchenbildung und Entzündung auf der Schleimhaut des Genitaltraktes einhergehe. Diese Krankheiten wurden summarisch mit dem Begriff des Scheidenkatarrhs belegt, worunter man in der Folge leider alle mit Unfruchtbarkeit und unter Ausfluss und Knötchenbildung einhergehenden Affektionen der weiblichen Geschlechtsorgane des Rindes verstand. In der Erkenntnis, dass in diesem "Scheidenkatarrhkomplex" mehrere nach Ursache und Therapie verschiedene Krankheiten zusammenliegen müssten, wurde weitergeforcht und 1897 entdeckten BANG und STRIBOLD (11) in einem Bakterium den Erreger des Spätabortes. Wenn damit eine fest umreissbare Krankheit aus dem Komplex abgetrennt war, so verführte es in der Folgezeit jedoch dazu, dass künftig alle Arten des Scheidenkatarrhs beim Rind der Bang'schen Krankheit untergeschoben wurden. Mit anderen Forschern erkannte OSTERTAG (69), dass neben der Bang'schen Krankheit noch eine andere seuchenhafte Ursache für das Verwerfen bestehen müsste, und glaubte 1901 den Erreger in einem Streptococcus (*Streptococcus ostartagii*) gefunden zu haben, was sich später als Irrtum erwies.

Unter dem nach der Bang'schen Krankheit verbliebenen Restkomplex verlief eine Affektion unter den klinisch augenfälligsten Symptomen hochgradiger Entzündung und Bläschenbildung, erwies sich als ansteckend und wurde in Unkenntnis des immer noch gesuchten Erregers nunmehr für das nicht vom Bang'schen Erreger hervorgerufene Verwerfen verantwortlich gemacht. Als Ursache dieses "Bläschenauschlags" entdeckten 1913 ZWICK und GMINDER (zit. nach WITTE 103) ein filtrierbares Virus. In der Folgezeit hielt sich hartnäckig die Ansicht, dass der Bläschenauschlag mit der Ursache des seuchenhaften Frühverwerfens identisch sei, was besonders REISINGER und REIMANN (78) noch 1928 vertraten. Selbst 1932 glaubte WITTE (103) den Bläschenauschlag noch nicht vom ansteckenden Scheidenkatarrh abtrennen zu können, wengleich er sich, wie ABELEIN (2), gegen ätiologische Bedeutung des Bläschenauschlagvirus für die Frühaborte und Sterilität ausspricht. Bereits 1910 hatte POMAYER (75) geglaubt, die ansteckende Sterilität durch eine Clitoritis erklären zu können, in deren Folge es reflektorisch zu einem Spasmus der Cervix und dadurch Abpressen

- 2 -

des Sacons käme, eine Ansicht, die sich nach späteren wissenschaftlichen Erkenntnissen nicht halten liess.

1930 wies ABELEIN (1) erstmalig auf regelmäßige Trichomonadenfunde hin, die er bei geschlechtlich erkrankten weiblichen Rindern gemacht habe. 1932 erbrachte er (2) den Beweis für die Urächlichkeit der Trichomonaden an Gebärmutterkatarrh des Rindes und konnte damit die von ihm so genannte Trichomonadenseuche mit den klinischen Symptomen des Frühverkalbens, der Pyometrabildung und gehäufte Sterilität mit ihrem Infektionsweg über den Deckakt vom Scheidenkatarrhkomplex lösen.

Trichomonaden waren 1837 erstmalig im Scheidenausfluss von Mädchen und Frauen von DONNE (zit. nach ARNOLD 10) gesehen worden und galten lange Zeit als harmlose Parasiten; 1916 brachte sie HÖHNE (zit. nach RIEDMÜLLER 79) in ätiologische Beziehung zur sogenannten Trichomonadenkolpitis des Weibes. 1935 beschrieb BALKOW (10) die Ansteckung eines Mannes an einer trichomonadenkranken Frau. Beim Rind hatte MAZZANTI (63) Trichomonaden erstmalig in Scheiden und Gebärmuttersekret wegen Sterilität notgeschlachteter Färsen gefunden und wohl als erster beschrieben. Er nannte sie "Trichomonas utero vaginalis" und schrieb ihnen die Urächlichkeit an der Sterilität zu. Erst 1925 berichtet dann DRESCHER (30) über einen Trichomonadenbefund, den HOPFENGÄRTNER ein Jahr vorher erstmals in Deutschland im Labmag eines abortierten Fötus gemacht hatte. 1927 findet PFENNINGER (70) in zwei abortierten Rinderföten Trichomonaden und 1927 RIEDMÜLLER (79) bei 105 Untersuchungen abortierter Kalbföten dieselben 9mal. Nach einem Hinweis auf regelmäßige Trichomonadenfunde bei genital-kranken weiblichen Rindern im Jahre 1930 (1) weist ABELEIN, wie schon angeführt, 1932 (2) die Pathogenität des nun schon bekannten Erregers nach, deckt den Infektionsweg durch Ansteckungsversuche auf und umreißt das klinische Bild der Seuche. 1934 berichtet WITTE (105) über Infektionsversuche an Rindern mit Trichomonadenkulturen, die ABELEINS Darlegungen voll bestätigen. 1935 macht WITTFOGEL (107) Übertragungsversuche mit dem gleichen Ergebnis, ebenso McNUTT, WALSH und MURRAY (64) in Amerika.

II. Verbreitung und Schaden

Nachdem die Krankheit nach Erreger, Symptomen und Verlauf beschrieben und die Therapie aufgezeigt war, wurde ihre Verbreitung in mehr oder

- 3 -

minder bedeutendem Ausmass über ganz Deutschland festgestellt, ebenso aber auch über Fälle in Österreich, der Schweiz, Jugoslawien, Frankreich, Holland, Belgien, Nordamerika, Skandinavien und Japan berichtet (zit. nach STEINHAUS 90). Sie dürfte heute mehr oder weniger über die ganze Welt verbreitet sein. Innerhalb Deutschlands scheint sie in Süddeutschland auch heute noch häufiger zu sein als im nördlichen Teil. Was den wirtschaftlichen Schaden und die Ausbreitungsfähigkeit anbelangt, so gaben DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31) 1933 einen Überblick über ihre damaligen Untersuchungen, nach denen sie der Seuche keine grosse wirtschaftliche Bedeutung zusprachen. In jüngster Zeit hat nun SIEGEL (88) den Stand der Verseuchung in Bayern untersucht. Seine Ergebnisse, denen die Statistik der Bayerischen Tierseuchenkasse zugrunde liegt, besagen, dass noch 1935 54 Gemeinden in 19 Landkreisen Trichomonadenbefall meldeten, während bereits 1942 35 Landkreise verseucht waren. Nach dem Kriege steigt die Trichomonadenseuche von 185 Fällen im Jahre 1946 auf 419, 1947 auf 1624, 1948 auf 5561. Allein in der Zeit vom 1.7.48 bis 30.6.49 wurden 20 258 Rinder mit Trichomonadenseuche behaftet gemeldet. Für die Zeit vom 1.7.1949 bis 30.6.1950 gibt die Bayerische Tierseuchenkasse 1230 Bullen, 36 944 Kühe und 4 777 Färsen, zusammen 41 951 Tiere als von der Seuche befallen an.

Nach den genauen Untersuchungen SIEGELS ergibt sich im Infektionsfall beim weiblichen Einzeltier ein Schaden von DM 269.35 aus Milch-, Kälber- und Schlachtverlust, wozu im Deckring für den Bullen weitere DM 300.-- an Schlachtverlust und Ausmerzungsbefähigung der Tierseuchenkasse und schliesslich die Tierarztkosten hinzukommen. Auf Bayern umgelegt errechnet SIEGEL einen jährlichen Schaden von 5 1/2 Millionen DM durch Trichomonadeninfektion.

Wenn man bedenkt, dass seit 12 Jahren staatliche seuchenpolizeiliche Massnahmen eine Verbreitung der Seuche zu verhindern trachten und der Kampf einer nach Erreger und Symptomen bekannten und heilbaren Krankheit gilt, so muss man die Feststellung treffen, dass sowohl seuchenpolizeiliche Massnahmen wie Therapie hinsichtlich der Tilgung der Seuche nicht den gewünschten Erfolg erzielt haben. Über lokale Sanierungen sind die Bemühungen nicht vorgedrungen. Trotzdem ist nicht klar beweisbar, ob die Seuche im Ansteigen begriffen ist, da uns auf entsprechend breiter Basis durchgeführte Reihenuntersuchungen sowohl aus früheren Jahren als auch von heute fehlen und wir somit keine objektiven Vergleichsmöglichkeiten besitzen. Was wir ferner heute als erhöhte Ausbreitung ansehen, ist vielleicht der fortlaufend verbesserten Diagnostik zuzuschreiben. Die Tatsache aber, dass der Schaden einer bekannten und durchaus heilbaren Infektionskrankheit heute noch ein solches Ausmass hat, schreibt SIEGEL der Schwierigkeit der

- 4 -

Diagnosestellung zu, die auch heute noch eine planmäßige und erfolg-
verprechende Durchuntersuchung der gesamten Rinderbestände, ebenso wie
die sichere Feststellung einer erfolgten Abheilung in Frage stellt.

Beobachtet man die Ausbreitung der Bang'schen Krankheit in den
Nachkriegsjahren in Bayern, so stieg diese nach SIEGEL nur um etwas mehr
als das Doppelte, von 506 im Jahre 1946 auf 1152 Fälle im Jahre 1949, wäh-
rend sich die Trichomonadenseuche verdreissigfachte. Wenn es sich bei der
Brucellose auch um einen völlig anderen Erreger und um einen meist anders
gearteten Infektionsweg handelt, so gilt auch hier der Kampf einer nach
Erreger, Verlauf und Therapie bekannten Krankheit, nur mit dem Unterschied,
dass wir in der Agglutinationsreaktion eine sichere, für die Praxis brauch-
bare und einfache Diagnosemethode haben. Solange uns eine solche für die
Trichomonadeninfektion fehlt, kann ihrer Ausbreitung weder erfolgreich be-
gegnet noch eine Tilgung erhofft werden. Ich habe mir daher zur Aufgabe ge-
stellt, das Problem der Trichomonadendiagnose zu untersuchen, um einen
brauchbaren Weg zur Diagnostizierung zu finden.

- 5 -

B. Allgemeiner Teil

Der Erreger

I. Morphologie

1.) Name und Größe

Der Erreger der Sauche ist *Trichomonas genitalis bovis* (MAZZANTI), ein Protozoon der Ordnung Polymastigina, Fam. Tetramitidae und Gattung Trichomonas, dessen Länge nach RIEDMÜLLER (79) 10 - 25, nach WITTE (104) 15 - 22 μ , dessen Breite 5 - 10 μ beträgt.

2.) Differenzierte Beschreibung.

Am vorderen Ende des Körpers entspringen etwas seitlich aus einer geringen Einkerbung 3 freie Geißeln, deren Länge von RIEDMÜLLER (79) und WITTE (104) übereinstimmend mit 16 μ angegeben wird, die nach WENRICH und EMMERSON (101) aber untereinander verschieden lang sind. Den Ursprung nehmen die Geißeln in einem gemeinsamen granulierten Körper, dem Basalkörper (Blepharoplast), der im oberen Ende des Achsenstabes sitzt.

Der Basalkörper ist aus 3 eng verbundenen Granula (Basalkörnern) zusammengesetzt, denen ein weiteres Basalkorn anliegt, aus welchem der Randfaden mit der undulierenden Membran entspringt. Einen besonderen Parabasalapparat hat WITTE (104) nicht beobachtet. Ausser den 3 Vordergeißeln gehen von den Basalkörnern aus:

- a) Der Basalfaden der undulierenden Membran, welcher mit dieser bis zum Zellende und bis zum Austritt der Schloppgeißel verläuft.
- b) Die Geißel der undulierenden Membran, die als freie Schloppgeißel endet und die Membran nach RIEDMÜLLER zu 4 - 6 Windungen, nach WENRICH und EMMERSON zu 4 - 5 Windungen rafft. Für die Schloppgeißel finden WENRICH und EMMERSON dieselbe Länge wie bei den Vordergeißeln.
- c) Der Achsenstab, der im vorderen Drittel kolbig aufgetrieben ist. Er überragt am hinteren Ende in einer Spitze auslaufend die Zelle und weist nach WITTE (104) an der Austrittsstelle einen meist deutlich sichtbaren Chromatinkörper auf. Ausnahmsweise werden im Achsenstab auch Chromatinkörper gefunden. Bei runden Formen der Trichomonaden sah RIEDMÜLLER (79) den Achsenstab nicht mehr in der Mitte, sondern peripher liegend gekrümmt, zuweilen S-förmig

- 6 -

gelagert, am Hinterende von mehr oder weniger abgeschnürten Protoplasma-
kugeln überlagert, die er als Exkretvakuolen ansieht und die er auch von der
Zelle abgestossen, im Präparat freiliegend beobachtete. WENRICH und
EMMERSON schreiben dem Achsenstab eine halbstoife Konsistenz zu, derzu-
folge der Rücken des Protozoenkörpers konvex aufgewölbt sei, im Gegensatz
zu einer mehr unregelmässigen, gestreckten Kontur der Bauchseite. An der
vorderen, kolbigen Verdickung des Achsenstabes sahen sie kleine chromati-
sche Granula, die sich bisweilen am Bauchrand anheften.

Der Kern der Trichomonas ist nach WITTE oval bis eiförmig, ein feines dich-
tes Kerngerüst mit einer grösseren Anzahl Chromatinkörperchen enthaltend,
nach RIEDMÜLLER (79) ca. 5 - 7 μ lang und 2 - 3 μ breit, oval oder
spindelförmig in der vorderen Hälfte der Zelle dem Achsenstab dicht an-
liegend. Nach WITTE verdeckt der Kern meist einen Teil des hier blasig
aufgetriebenen Achsenstabes. Bei der Kernteilung hat WITTE (104) 4 Chro-
mosomen beobachtet. Nach WENRICH und EMMERSON (101) liegt der Kern dorsal
vom Achsenstab.

RIEDMÜLLER (79) konnte in günstigen Fällen neben dem Blepharoplasten ein
sackartiges Cytostom sehen, das längs des Achsenstabes bis in die Höhe
des Kernes reichte. Gleichlautend ist der Befund von WENRICH und EMMERSON
(101), die nach der Lage des Cytostoms die Bauchseite des Parasiten fest-
legen und so zwischen dieser und dem Rücken des Zellkörpers unterschei-
den. Das geöffnete Cytostom ist nach ihrer Beobachtung dreieckig, die
äussere Ecke abgerundet.

Das Protoplasma ist dicht und enthält nach WENRICH und EMMERSON nur wenig
Vakuolen, während RIEDMÜLLER verschieden grosse Vakuolen und Chromatin-
körper fand. WITTE fand keine Chromatinkörper.

3.) Gestalt

Die Gestalt von Trichomonas genitalis bovis ist von verschiedenen
Einflüssen abhängig und unter solchen von grosser Vielfalt.

RIEDMÜLLER beschreibt die Gestalt des Parasiten rüben-flammen-spindel-
und eiförmig, DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31) fischähnlich und rettich-
artig. WITTE (104) findet in frischem Uterusinhalte und in jungen Nähr-
bodenkulturen langgestreckte Formen, während in älterem Untersuchungsmat-
erial und älteren Kulturen breite bis runde Formen vorherrschen. Vor
der Teilung beobachtete er Formen, die ein Mehrfaches der normalen Grösse
hatten, gerundet waren und 2 bis mehrere Basalkörper mit den daraus ent-
springenden Kopfgeisseln und mehrere Kerne hatten. Durch Beobachtungen an

- 7 -

gezüchteten Trichomonadenkulturen zeigt er die Beziehungen zwischen der Gestalt der Trichomonas und ihrer Biologie auf. Er betont, dass die Trichomonade vor dem Absterben eine runde Gestalt annimmt, während die Beweglichkeit schwindet, die undulierende Membran sich aber noch lange fortbewegt. Auch DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31) beobachteten noch einige Stunden, nachdem die Trichomonaden in ungünstiges Milieu verbracht worden waren, eine verminderte Bewegungsfähigkeit. Das Protoplasma stülpte sich pseudopodiumförmig aus und die Form der Trichomonade ähnelte einem verzerrten Kreis von homogenem Aussehen. Die Form des Flagellaten war dabei schwer von Leukozyten zu unterscheiden. Ähnliche Beobachtungen hat DAUST (24) beschrieben; HASSELMANN (41), der 1938 bei 378 verdächtigen Tieren 32mal Trichomonaden fand, sah 4 verschiedene Formen in solch ausschliesslicher Regelmässigkeit, dass er glaubte, sie voneinander trennen und als typisch herausstellen zu können. Er sah: a) die bewegliche schlanke Birnform, b) die ausserordentlich lebhaft bewegliche kleine Spindelform, c) die anäoide Form, d) die Kugelform in Kulturen.

JONSCHER (55) glaubt, die "gestreckte Form" akuten, die "erschläffende runde Form" chronischen Infektionsfällen zuschreiben zu können. In Wirklichkeit sind diese Formen weder typisch noch spezifisch oder voneinander abtrennbar, sondern gehen, wie WITTE bewiesen hat, von der Jugendform bis zum Absterben fließend ineinander über.

Was die runde, bewegungslose Form anbetrifft, so wurde sie bereits 1912 von BENSEN, PROWACZEK und BOHNE im Gegensatz zu DOBELL (zit. nach Prowaczek 76) für die Trichomonas vaginalis als Zyste oder Dauerform angesehen. Auch für die Geschlechtstrichomonade des Rindes wurde u.a. von DRESCHER (zit. nach ABELEIN 2), DIERNHOFER (25) und in letzter Zeit wieder von SOKOLOWSKIJ und von HCLZ (50) diese Ansicht vertreten. RIEDMÜLLER, der diese Rundform gleichfalls beobachtet hat, fällt über ihre biologische Bedeutung keine Entscheidung. ABELEIN (4) trat dieser Ansicht entgegen und verwies auf die Untersuchungen von GHRING und MURRAY, WENRICH, EMMERSON und WITTE, sowie auf seine eigenen Beobachtungen. Bis auf DIERNHOFER, dessen Versuchsanordnungen jedoch einen Fehler nicht ausschliessen, ist es bisher nie überzeugend gelungen, aus ausschliesslichen Rundformen Trichomonaden weiter zu züchten. Auch weisen die Ergebnisse aller Toxizitätsproben nicht auf die Wahrscheinlichkeit einer Zystenbildung von Trichomonaden hin, so dass viel dafür spricht, dass die Rundformen entsprechend den Untersuchungen WITTES (104) vorläufig wohl als Absterbeformen angesehen werden müssen.

- 8 -

4.) Die Bewegung

Mit Hilfe der Geisseln führen die Trichomonaden lebhaftere Bewegungen aus. RIEDMÜLLER (79) beobachtete, dass dabei die 3 Vordergeisseln peitschenartig nach vorn schlagend und dann seitlich ausholend gegen den Körper schlagen, wodurch ruckartige Vorwärts- oder Seitwärtsbewegungen ausgelöst werden. Gleichzeitig bewegt sich die undulierende Membran wellenförmig, während die Schleppgeissel eine Kreisbewegung ausführt, so dass der Körper sich rotierend fortbewegt. Mit der variierenden Form ändert sich auch die Form der Bewegung. Sie ist lebhaft und, nach seinen Beobachtungen, bei den schlanksten Formen pendelnd, ähnlich den Bewegungen der Kaulquappen. Sie wird mit zunehmender Körpermasse mehr ruckartig, bis die Zelle fast still zu liegen scheint und nur noch von Zeit zu Zeit eine ruckartige lokomotorische Bewegung ausführt. Dann erlischt die Ortsbewegung, der Zelleib liegt fest und man sieht bei genauer Betrachtung (nun am besten) das müde Schlagen der Geisseln; schliesslich bewegt sich nur noch die undulierende Membran, zuweilen auch anscheinend das Plasma. Das Ende ist völlig unbewegliche Rundform.

Die voll bewegliche Trichomonas hat eine erstaunliche Leistungsfähigkeit. MANN (62) sah sie in schleimgefüllten Kapillaren in 24 Stunden 12 cm hoch aufwandern, wobei sie noch verschiedene Bakterienarten mitschleppte.

II. Biologie

Trotz der genauen Differenzierung des Zelleibes ist die Biologie der *Trichomonas genitalis bovis* noch nicht völlig geklärt. Die meisten Kenntnisse wurden aus Versuchen zur Haltung von Trichomonaden auf künstlichen Nährmedien gewonnen.

Hinsichtlich des Milieus steht fest, dass Trichomonaden nur im flüssigen Medium lebensfähig und gegen Austrocknung sehr empfindlich sind.

1) pH-Wert.

Über den pH-Wert des Milieus stellte WITTE (104) fest, dass die Geschlechtstrichomonaden des Rindes bei einem solchen von 5,5 - 8,5 gedeihen, das Optimum jedoch nur in der Breite zwischen 7,0 - 7,6 liegt. MUSSIL (67) sah eine Vermehrung bei pH-Werten von 6,0 - 8,0; bei pH-Werten von 5,5 - 6,0 und von 8,0 - 8,5 sollen sie zwar bewegungsfähig bleiben, nicht aber vermehrungsfähig sein. Bei einem pH-Wert unter 4,5 erstarrten sie sofort, und nach einigen Stunden trat Körnelung und Zerfall ein. Schon bei einem pH-Wert

- 9 -

von 5,0 sah MUSIL Rundformen auftreten. Bei pH-Wert 9,0 wurden die Bewegungen träge; nach einigen Minuten trat Unbeweglichkeit und Auflösung der Zellen ein. Rundformen hat MUSIL im alkalischen Milieu nicht gesehen.

2.) Osmose.

MUSIL (67) findet *Trichomonas genitalis bovis* gegen Veränderungen des osmotischen Drucks wenig empfindlich. Bei Veränderung des Milieus mit Aqua dest. (1:1) entstehen Blähformen, die beweglich bleiben. Auch in 0,42%iger Kochsalzlösung (1/2 der physiologischen Konzentration) blieben die Trichomonaden gut, und in 0,10%iger Lösung immer noch deutlich beweglich. Beim Aufschwimmen in destill. Wasser erstarrten sie vollständig und wurden auch nach Verbringen in isotones Milieu nicht mehr beweglich. In hypertonscher Lösung trat bei 2,55% Kochsalzkonzentration Bewegungsverminderung, bei weiterer Konzentrationssteigerung Bewegungsverlust ein. Bei Verbringung in isotones Milieu wurden hier aber viele wieder beweglich. Über die Zeit, die er die Trichomonaden dieser Milieuänderung überliess, gibt MUSIL leider keinen Aufschluss. Das optimale Milieu ist das blutisotonische.

3.) Temperatur.

Der ungestörte Lebenszyklus der Geschlechtstrichomonade des Rindes findet nur in einer sehr geringen Temperaturbreite statt, deren Optimum bei 37 Grad liegt. Schon bei geringfügiger Abkühlung oder Erhitzung erlischt zunächst die Vermehrung und später auch die Bewegung. ABELEIN (2) hatte Trichomonaden bei 20 bis 25 Grad auf der Warmwasserheizung seiner Wohnung über Generationen am Leben erhalten, aber beobachtet, dass ihre Zahl ständig abnahm. Er vermochte aber nicht zu entscheiden, ob diese Verminderung aus der Temperatur oder dem zunehmenden Bakterienwachstum resultierte. WITTE (104), dessen Beobachtungen deshalb besonders wertvoll sind, weil er bei Reinkulturen alle störenden Einflüsse ausgeschaltet hatte, fand hinsichtlich Fortpflanzung und Lebenskraft der *Trichomonas genitalis bovis* das Temperaturoptimum bei 37 Grad C. Bei Zimmertemperatur (20 - 22 Grad) war die Lebensdauer herabgesetzt. Die Fortpflanzung begann hier erst nach 3 - 4 Tagen und nur kümmerlich, während sie bei 37 Grad schon nach 24 Stunden einsetzte.

4.) Lichteinflüsse.

DAUST (24) beobachtete die *Trichomonas genitalis bovis* vergleichend unter Lichtabschluss und Lichtzutritt und kommt zu dem Ergebnis, dass das Licht einen schädigenden Einfluss ausübe. Da seine vergleichenden Beobach-

- 10 -

lungen aber an vom Tier entnommenem Material (Pyometrazitor, Uterusspülflüssigkeit und Urin) vorgenommen wurden, sind sie nicht absolut stichhaltig, weil die verschiedenen Proben hinsichtlich Reinheit und Zusammensetzung nicht einheitlich gewesen sein dürften und damit andere Einflüsse des Milieus (pH-Wert, Konsistenz, Bakteriengehalt, Serumgehalt) nicht gleichbleibend oder ausschließbar gewesen sind. HEYMACH (47) kommt allerdings bei gleicher Versuchsanordnung ebenfalls zum Resultat eines schädigenden Einflusses des Lichtes.

5.) Sauerstoffeinfluss.

Hinsichtlich der Verträglichkeit des Luftsauerstoffes gehen die Ansichten weit auseinander. WITTE (104) schreibt dem Luftsauerstoff weder eine schädigende noch eine fördernde Wirkung auf das Gedeihen der Trichomonaden zu. JIROVEC und RODOVA (54) sahen, allerdings bei *Trichomonas vaginalis parva* und *elongata*, dass durch Luftabschluss die Lebensdauer dieser Arten um das 3-4fache verlängert wird, wobei sie dann aber auch eine Abnahme der Vermehrungsfreude (geringere Dichte der Kulturen) beobachteten. Im Gegensatz zu diesen Autoren hält HESS (45) die *Trichomonas genitalis bovis* für sehr sauerstoffempfindlich, eine Eigenschaft, worauf er sein Therapieverfahren beim infizierten Bullen aufbaute. Nach seinen Angaben ist der Sauerstoffabschluss für das Gedeihen der Trichomonaden unabhängig. RIEDMÜLLER (82) hat die Sauerstoffwirkung auf Trichomonaden genau untersucht. In 12 Versuchen verhielt sich die Zahl der aerob gehaltenen zu den anaerob gehaltenen wie 2599 zu 2889 bzw. 2813 zu 3195 (ausgezählt mit Thomas'scher Zählkammer), weshalb er die Parasiten für fakultative Anaerobier hält.

6.) Stoffwechsel.

a) Nahrungstoffe.

aa) Serum .

Hinsichtlich der Nahrung vertreten HESS (42) und REICHENOW (77) die Ansicht, dass Trichomonaden nur gelöste organische Stoffe aufzunehmen vermögen, während andere Autoren unter Hinweis auf das Cytostom die Aufnahme fester Nahrungsteile vertreten. RIEDMÜLLER (82) hat nachgewiesen, dass die Trichomonaden obligat serophil sind, wobei der wachstumsfördernde Anteil im Serum thermostabil ist und sowohl 1-1/2 stündige Erhitzung auf 56 - 60 Grad oder Kochen im Wasserbad verträgt. JIROVEC und RODOVA (54) haben für *Trichomonas vaginalis* die gleichen Ergebnisse gefunden. Auch in den Erythrozyten fand RIEDMÜLLER wachstumsfördernde Substanzen, doch waren die Trichomonaden,

- 11 -

wenn ihnen Erythrozyten vom Serum getrennt allein zur Nahrung angeboten wurden, nicht lebensfähig. Hinsichtlich der Serumkonzentration des Milieus fand RIEDMÜLLER, dass das Wachstum bei einer Konzentration von unter 10% gegenüber einer solchen von 10 - 20% zwar verzögert war, die einzelnen Individuen aber länger am Leben blieben. Auch diese Beobachtungen decken sich mit denen von JIROVEC und RODOVA bei *Trichomonas vaginalis*. WITTE (104) gibt an, dass nach seinen Versuchen das Serum vom Rind, Schaf, Ziege und Pferd gleich gut vortragen wird. Auch er fand als Optimum einen Serumgehalt des Nährmediums von 10%.

bb) Zucker und Alkohole.

DAVIS (zit. nach HEES 42) hat einen günstigen Einfluss von Dextrose auf Kulturen von *Trichomonas vaginalis* beobachtet, SZENDI (93) sah in der weiblichen Scheide an den Vermehrungsnestern der Trichomonaden einen auffallenden Mangel an Glykogen. Dies und die Tatsache, dass er im Zelleib der *Trichomonas vaginalis* Glykogen nachweisen konnte, brachte ihn zur Ansicht, dass diese sich von Glykogen ernährt. Auch HEES (42), der die pathogene Rolle der Trichomonade des Menschen in der Beraubung des Wirtes an nicht näher bezeichneten "Vorratsstoffen" sieht, deutet die Möglichkeit an, dass Trichomonaden, ähnlich den Trypanosomen, Glykogen als Nahrung verwenden. RIEDMÜLLER (82) hat nachgewiesen, dass die Geschlechts-trichomonade des Rindes Hexosen, Disaccharide, Raffinose und einige Polysaccharide als Nahrung zu verwenden vermag und diese eine wachstumssteigernde Wirkung ausüben. Am wirksamsten erwiesen sich: Fruktose, Glukose, Galaktose, Manose, Laktose und Glykogen. Pentosen und mehratomige Alkohole scheinen nicht als Nahrung aufgenommen zu werden. DOBELL (28), WAGNER und HEES (96), WESTPHAL (102) und BISHOP (20) schlugen Reisstärke als Nahrung für Trichomonaden vor. Diese soll von den Protozoen gierig in den Zelleib aufgenommen und verdaut werden. JIROVEC und RODOVA (54) haben an einigen (nicht allen) Kulturen von *Trichomonas vaginalis* beobachtet, dass die Reisstärke ein intensiveres Trichomonadenswachstum erzeugte und diese darin auch länger am Leben blieben. Ich selbst konnte nie eine Aufnahme von Reisstärke in den Zelleib und deren Verdauung, noch eine Wachstumssteigerung beobachten.

cc) Bakterien.

Als erster hat HÖHNE (zit. nach HEES 42) die Behauptung vertreten, dass Trichomonaden Bakterien zu fressen vermögen, und andere Autoren sind dieser Ansicht beigetreten.

Vor kurzem hat WEISS (99) die *Trichomonas genitalis bovis* wieder

- 12 -

als "Bakterienfresser" bezeichnet. Gegen diese Meinung traten bereits FLASKAMP, PITTLERLEIN und KUSZYNSKI (zit. nach HEES 42) auf, und WEISS widerspricht sich schliesslich selbst, indem er DIERNHOFER zitiert, der in bakterienverunreinigtem Material die Trichomonaden schnell zugrunde gehen sah. Von einer Nahrungsaufnahme in Form von Bakterien kann auch gar nicht die Rede sein, wenn man den strengen Antagonismus zwischen Trichomonaden und Bakterien bedenkt, der immer zu Gunsten der anspruchsloseren Bakterien endet. Auch RIEDMÜLLER (zit. nach ABELEIN 2) hat nachgewiesen, dass Trichomonaden keine Bakterien in ihr Protoplasma aufnehmen. Zu dem beschriebenen Irrtum mag es durch ein eigenartiges Adsorptionsvermögen, das die Trichomonadenzelle für Bakterien und andere ungelöste Substanzen (z.B. Detritusmassen) besitzt, gekommen sein. BENDER und HETTICHE (18) kommen zu der Ansicht, dass die äussere Membran des Zellkörpers aus einer klebrigen Masse besteht oder jedenfalls einen Haftstoff besitzt. Sie sahen nämlich Leukozyten und Lymphozyten, selbst grössere Epithelien an der Zellmembran der Trichomonaden fixiert, von der sie selbst durch Bewegungen des Deckglases nicht zu entfernen waren. Dieselben Adsorptionserscheinungen liegen vor, wenn andere Autoren von "Stachelachwinform" (Adsorption von Kokken) sprechen, oder die Flagellaten wie "Überstaub" (Adsorption von Kokken) sahen.

b) Ausscheidungen.

An Stoffwechsellauscheidungsprodukten hat WITTE (104) eine leichte Gasbildung beobachtet. Über Art und Menge des Gases macht er keine Angaben. Übereinstimmend mit WITTE hat RIEDMÜLLER die Bildung von Haemolyainen beobachtet. Nach seinen Angaben bilden die Trichomonaden Säuren, wodurch ein anfangs neutrales Milieu je nach Intensität des Trichomonadenwachstums bis auf pH = 4,9 herabgedrückt wurde. Übereinstimmend damit sind die Beobachtungen von JIROVEC und RODOVA (54). Bei *Trichomonas vaginalis* jedoch stellten diese fest, dass nach anfänglicher Ansäuerung vom 6.-8. Tag an ein Umschlag ins Alkalische erfolgte. Über die Art der sauren Stoffwechselprodukte machen die Autoren keine Angaben. SZENDI (93) glaubt an eine Milchsäureproduktion der Trichomonade des Menschen.

7.) Atmung.

Nach den Angaben RIEDMÜLLERs (82) hängt die Atmungsgrösse der Trichomonaden wesentlich von ihrem Alter ab. In 24 - 48 Stunden alten Kulturen war der Sauerstoffverbrauch für ca. 2 Mill. Trichomonaden etwa 4,3 $\text{cm}^3 \text{O}_2$, während er bei 60stündiger Kultur 2,8 $\text{cm}^3 \text{O}_2$, bei 3 Tage alter aber nur

- 13 -

noch 0,81 mm O₂ betrug. An Atmungskatalysatoren wurden weder Cytochrom noch Haemochromogene festgestellt. Katalase war in Spuren vorhanden.

8.) Vermehrung.

Die Vermehrung erfolgt nach WITTE (104) durch Zweiteilung, ausnahmsweise durch multiple Teilung. WITTE ist der Ansicht, dass sich dabei der Achsenstab nicht teilt, sondern auflöst und eine Neubildung erfolgt. Der Zelleib des Parasiten vergrössert sich und es entstehen zunächst durch Mitose zwei Kerne und zwei Achsenstäbe, sowie zwei undulierende Membranen, dann am Blepharoplasten statt der drei eine Mehrzahl von Kopfgeisseln, die in der Folge auseinander rücken, wodurch eine Zelle mit zwei Blepharoplasten mit je 3 Kopfgeisseln (im Vielteilungsfall mehrere Blepharoplasten zu je 3 Geisseln) entsteht. Als letztes wird das Plasma abgetrennt. Eine Vermehrung unbeweglicher, vor allem sogenannter "Zystenformen" ist WITTE nie gelungen, was sich auch mit den Erfahrungen CHATTONS (zit. nach WITTE 104) bei Trichomastix deckt und bei der klaren Versuchsanordnung WITTEs gegen eine Fortpflanzungsfähigkeit angeblicher Dauerformen spricht. Auch ich selbst konnte in mehr als 100 Fällen Kulturen, die auf Grund der durchgeführten Kontrollen ausschliesslich unbewegliche Rundformen aufzuweisen schienen, in keinem Fall zur Weitervermehrung und Fortzucht bringen, so dass mir eine Vermehrungsfähigkeit nur für vegetative Formen wahrscheinlich erscheint.

Dem entgegen glauben GRAU (mündliche Mitteilung), HOLZ (50) und WEISS (100) die Vermehrung sogenannter Dauerformen (von GRAU auch als Ruheformen bezeichnet) beobachtet zu haben. In Schloissheim hat MUNDT Ausknospung von Vegetativformen aus Rundformen beobachtet (bisher unveröffentlicht). HOLZ unterscheidet im Lebenszyklus der Trichomonaden:

- a) Den Belastungskreislauf, d.h. den Übergang von der vegetativen über die Rundform zum Zwitter.
- b) Den Teilungskreislauf, in welchem er die Zweiteilung einer unbeweglichen Rundform beobachtet haben will, und
- c) den Zerfallskreislauf, wobei sich die Zelle körnelt, darauf diese kernartigen Gebilde nach Sprengung der Membran frei werden und angeblich zu vollwertigen Trichomonaden heranwachsen.

HOLZ stützt diese Behauptung auf wenig beweiskräftige Mikrophotogramme, wobei vor allem das Heranwachsen der im Zerfallskreislauf entstandenen Kerne zur vollwertigen Trichomonade nicht beweisend gezeigt wird. Solange dies nicht eindeutig bewiesen ist, kann es sich bei den gezeigten Figuren m.E.

- 14 -

us Erythrozyten, Hyphen verschiedener Blastomyzeten oder sogar um grosse Kokken handeln, die nach meinen Erfahrungen im Nativpräparat häufig diese Bilder ergeben. Der Teilungsvorgang erfolgt nur innerhalb einer ganz geringen Temperaturbreite und sistiert beim Absinken sehr bald. Im allgemeinen ist er ziemlich eng an optimale Bedingungen geknüpft und kann schon durch geringe Milieuveränderungen gestört werden. Nach den übereinstimmenden Beobachtungen AEBLI's (8) und WITTE's geht die Vermehrungsfähigkeit bereits vor dem Ende der Bewegungsfähigkeit verloren. Über die Zeit, in der die Teilungen aufeinander folgen, existieren keine Angaben.

9.) Lebensdauer.

Da sich der Parasit durch Teilung in zwei Tochterzellen verjüngt, kann, solange der Teilungsvorgang nicht sistiert, eine Lebensdauer überhaupt nicht abgegrenzt werden. WITTE (104) fand in Reinkulturen, in denen die Trichomonaden von allen störenden Einflüssen ferngehalten wurden, dass sie im Brutschrank durchschnittlich 8 - 10 Tage am Leben blieben. RIEDMÜLLER (80) sah in Kulturen bei 10% Serumzusatz schon am 4.-5. Tag eine Abnahme der Lebensdauer, worauf ihm Passagen nur noch schwer gelangen. Ohne Serum konnte er sie 4 Tage am Leben erhalten. Daraus kann man schließen, dass Trichomonaden von der Nahrung abgeglottet etwa 4 Tage lang aus eigenem Vorrat leben können, wobei sie aber kaum am 4. Tag noch vermehrungsfähig sein dürften. Die Beobachtung WITTE's ergäbe dann, dass die Trichomonaden in 4 Tagen die Nährstoffe der Kultur aufgebraucht hätten und weitere 4 Tage von zelleigenen Reserven gelebt hätten. Nach den Beobachtungen von DAUST (24) und AEBLI (8) wird die Lebensdauer von der Temperatur beeinflusst und durch kühle Temperaturen im Sinne der van t'Hoff'schen Regel verlängert. Auch vom Serumgehalt wird sie beeinflusst; so sah RIEDMÜLLER (80) bei einer Serumkonzentration unter 10% ein zwar mässigeres Wachstum, aber eine längere Lebensdauer seiner Kulturen. Für *Trichomonas vaginalis* fanden JIROVEC und ROOOVA (54) eine Lebensdauer von 7 - 10 Tagen.

10.) Zelltod.

Wenn man von der Tatsache ausgeht, dass eine Weitervermehrung unbeweglicher Rundformen bislang nicht überzeugend nachgewiesen wurde, so muss man zu dem Schluss kommen, dass mit dem Ende der Bewegung an und in der Trichomonadenzelle, d.h. also nicht nur mit dem Aufhören des Geisselschlags, sondern auch mit dem Ende der Bewegung der undulierenden Membran und des Plasmas, der Tod eingetreten ist. Von mehreren Autoren wird die

- 15 -

Ansicht vertreten, dass sich die Trichomonadenzelle nach dem Absterben auflöst. Diese Beobachtung scheint zunächst die These der Enzystierung zu stützen, da demnach der Tod erst mit der Auflösung einträte und die unbewegliche Rundform noch eine Lebensform darstellen würde. Beobachtet man aber abgestorbene Trichomonaden in Reinkultur, so kann man immer, und zwar noch nach Monaten, bewegungslose Rundformen feststellen. Dagegen löst sich in Untersuchungsmaterial, z.B. in Pyometraeiter oder Foeten, sobald sie in Fäulnis übergehen, die Parasitenzelle nach dem Absterben immer auf. Dies führt zu dem Schluss, dass die Auflösung eine gesonderte postmortale Erscheinung ist. Da sie in Reinkulturen nicht vorkommt, dürften dafür die Bakterien verantwortlich sein, mit denen vom Tier übernommenes Untersuchungsmaterial immer verunreinigt ist. Auch in Kulturen, die mit Bakterien verunreinigt sind, tritt die Auflösung ein. Wie BEHRINGER (15) beobachtet hat, werden die Trichomonadenzellen auch bei Abtötung durch bestimmte Medikamente zur Auflösung gebracht.

Zusammenfassung der Morphologie und Biologie.

Trichomonas genitalis bovis ist ein durch 3 Kopfgeißeln, eine Schwanzgeißel und eine undulierende Membran bewegliches Protozoon von Spindelform, jedoch nach dem Milieu starken Formveränderungen unterworfen. Es gedeiht innerhalb eines pH-Wertes von 5,5 - 8,5, ist hinsichtlich des osmotischen Druckes wenig empfindlich, jedoch nur in flüssigem Milieu lebensfähig. Die physiologische Temperatur ist 37 Grad. Es ist ein fakultativer Anaerobier, höchstens aerophob, sicher nicht aerob. Als Nahrung ist Blutsarum obligat, jedoch nicht von einer bestimmten Tierart spezifisch notwendig. Hoxosen und Glykogen sind fakultative fördernde Nährstoffe. An Stoffwechselresten scheinen Gase und Säuren ausgeschieden zu werden. Die Vermehrung erfolgt durch Zweiteilung, ausnahmsweise durch Mehrteilung. Die Lebensdauer scheint 4 - 5 Tage zu betragen. Der Tod durch Altern tritt bei Ausschluss abtörender Einflüsse durch Abrundung der Zelle und Bewegungslosigkeit in Erscheinung.

III. Tenazität.

Für die Diagnosemöglichkeiten der Trichomonadeninfektion beim Rind spielt die Tenazität des Parasiten eine ausschlaggebende Rolle. ADELEIN (4) macht darüber nur allgemeine Angaben. Trichomonaden halten

- 16 -

sich in krankhaften Sekreten (Schleim und Eitormassen) nach seinen Beobachtungen bis zu 14 Tagen, zeigen aber schon nach einigen Tagen grosse Hinfälligkeit. Genaue Untersuchungen haben AEBLI (8), DAUST (24) und MUSSIL (67) angestellt.

1.) Körpereigene Stoffe.

a) Harn.

Nach den Versuchen von AEBLI (8) ist *Trichomonas genitalis bovis* in nicht sterilis, filtriertem Rinderharn bei Zimmertemperatur bereits nach 30 Minuten nicht mehr vermehrungsfähig. Im Gegensatz dazu will DAUST (24) die Trichomonaden im Harn bei Zimmerwärme durchschnittlich 6,3 Tage, bei Kellertemperatur sogar 10 Tage am Leben gesehen haben, ohne jedoch dann noch ihre Vermehrungsfähigkeit zu prüfen. Eingehendere Versuche AEBLI's (8) mit etwas saurem sterilen Rinderharn (pH 8,1 - 8,3) bewiesen, dass die Geschlechtstrichomonaden in diesem höchstens 130 Minuten vermehrungsfähig und 140 Minuten bewegungsfähig bleiben. Bei dem sterilen Charakter des Versuchsmaterials steht auch fest, dass die Noxe ausschliesslich vom Harn ausging.

b) Pyometraeiter.

Nach den Untersuchungen von DAUST (24) hielten sich die Trichomonaden im Pyometraeiter bei Zimmertemperatur mindestens 3, höchstens 9, im Durchschnitt 5,2 Tage am Leben, bei Kellertemperatur dagegen mindestens 8, höchstens 21, im Durchschnitt 13,2 Tage. Bei der sehr unterschiedlichen Beschaffenheit des am Tier abgenommenen Materials konnte diesen Zahlen nur eine Bedeutung zukommen, wenn sie aus einer sehr grossen Reihe von Fällen genommen wären. Bei den 30 von DAUST untersuchten Proben können sie nicht beweisen, dass Trichomonaden in Pyometraeiter mindestens 3 Tage am Leben bleiben, ein Befund, der auch durch die Erfahrungen der Praxis widerlegt wird.

c) Schleim und abortierte Früchte.

Über die Tenazität der Trichomonaden in Scheidenschleim und Föeten konnte ich keine vergleichenden Erfahrungen finden. Nach meinen an der Bayerischen Landesanstalt für Tierarzneibekämpfung und in der Praxis gemachten Erfahrungen entspricht sie der im Pyometraeiter und ist wie dort je nach Verunreinigung und Fortschreiten des Fäulnisprozesses starken Schwankungen unterworfen.

2.) Körperfremde Stoffe.

a) Jauche.

Nach AEBLI (8) verlieren Trichomonaden in unverdünnter, wie in auf 80% verdünnter Jauche (Verdünnung durch Bouillon mit physiologischer Kochsalzlösung) binnen 24 Stunden die Bewegungsfähigkeit, bei 70%iger Jauche blieben sie 48 Stunden beweglich, in 60%iger bis zum 15. Tag, allerdings in stark abnehmender Zahl.

b) Leitungswasser.

In steriles Leitungswasser (gekocht oder durch Glasfilter filtriert) blieben nach AEBLI (8) Trichomonaden höchstens 18 Minuten lebend und fortpflanzungsfähig. Auch innerhalb dieser Zeit wurde ihre Vermehrungsfähigkeit insofern beeinflusst, als ihre spätere Fortpflanzung in Kulturen verzögert war.

c) Destilliertes Wasser.

In destilliertem Wasser konnte AEBLI (8) im Durchschnitt nach 13 Minuten (9 - 18 Minuten) noch Vermehrungsfähigkeit, nach 15 Minuten (10 - 20 Minuten) aber stets Zelltod beobachten. Nach 5 Minuten langer Einwirkung beginnt Verzögerung der Fortpflanzung.

d) Physiologische Kochsalzlösung.

Nach AEBLI (8) blieben Trichomonaden in steriler physiologischer Kochsalzlösung durchschnittlich 26 1/2 Stunden vermehrungsfähig.

e) Chemikalien.

Versuche über die Toxizität von Trichomonaden gegenüber Medikamenten haben DAUST (24), MESSIL (67) und BEHRINGER (15) angestellt. DAUST vermischte Untersuchungsmaterial mit Tromsulim, Batticon, Entozon, Chinosol und Neurogen. Gegen Chinosol und Neurogen waren die Trichomonaden sehr empfindlich. Gegen die anderen Medikamente erwiesen sie sich schon bei geringer Verdünnung derselben oft bis zu 3 Tagen resistent. MESSIL hat eine grosse Anzahl chemischer Stoffe Trichomonadenkulturen zugesetzt. Am empfindlichsten erwiesen sich die Flagellaten gegen das Quecksilber als Chlorid und Oxycyanid und gegen das Silber als Nitrat, sowie das Chloramin. 3 Tage lebensfähig blieben Trichomonaden u.a. bei Zusatz von Kupfer und Zink als Sulfat und Chlorid (0,2%), Atoxyl (5%), Borsäure (1%) und Kaliumpermanganat (0,2%). Eosin, Trypanblau und Nigrosin konnten selbst in sehr starken Konzentrationen

- 18 -

die Trichomonaden innerhalb 3 Tagen nicht abtöten. Ob die Kulturen sich unter dem Einfluss der unschädlichen chemischen Zusätze weiter vermehren, gibt MÜSSIL nicht an. BEHRINGER liess Chloramin 3 : 1000, Lugol'sche Lösung 1 : 3 : 100, Entozon 1 : 1000 und Trypaflavin 1 : 1000 auf Trichomonaden unter dem Mikroskop einwirken. Die Bewegung erlosch:

bei Chloramin	in 30 Sekunden
" Lugol'scher Lösung	" 3 Minuten
" Entozon	" 40 Minuten
" Trypaflavin	" 60 Minuten.

HESS (45) hat die Wirkung des Wasserstoffperoxyds untersucht und schon bei 50 000-facher Verdünnung Wachstumshemmung, bei 10 000-facher Verdünnung Abtötung innerhalb 60 Minuten beobachtet.

Die Tenazitätversuche wurden von keinem der Autoren nach bestimmten chemischen Gesichtspunkten geordnet. Auffallend ist die hohe Anfälligkeit der Trichomonaden gegen Silber und Quecksilbersalze und ihre hohe Resistenz gegen organische Farbstoffe, insbesondere der Akridinreihe.

3.) Physikalische Einflüsse.

a) Wärme.

Versuche über Hitzeeinwirkung ergaben nach AEBLI (8) bei 45 Grad erst nach 8 Stunden Schädigungen, die durch sehr verzögerte Vermehrung erkennbar waren. Nach 10stündiger Einwirkung war an den Trichomonaden jede Bewegung erloschen. Bei einer 12 - 15 Minuten langen Einwirkung von 50 Grad bleibt die Fortpflanzungsfähigkeit bereits nicht mehr regelmäßig erhalten. Wurde sie über 15 Minuten ausgedehnt, ging die Vermehrungsfähigkeit immer verloren. Im Mikrooskop sah AEBLI bei 50 Grad zunächst beschleunigte, nach 2 - 6 Minuten aber gehemmte Bewegung, nach 7 - 10 Minuten Lablosigkeit. Bei Hitzeeinwirkung von 55 Grad sistierte die Fortpflanzung bereits nach 2 - 3 Minuten Einwirkungsdauer. Die Bewegung war nach 2 - 3 Minuten gehemmt, nach 4 Minuten erloschen. Mit den Beobachtungen AEBLI's stimmen die von MÜSSIL (67) überein, der bei Erwärmen auf 40 Grad besonders beschleunigte, bei 45 Grad ruckartige Bewegung sah, von 46 Grad ab aber schnell fortschreitendes Absterben feststellte. Eigenartig ist hier die im Gegensatz zu allen anderen Tenazitätsergebnissen stehende Beobachtung AEBLI's, dass durch Hitze geschädigte, bewegungslos gewordene Trichomonaden sich wieder fortpflanzten, d.h. also hier, anders als sonst, die Bewegung vor der Vermehrungsfähigkeit verloren ging. Demnach greift Wärme vornehmlich an der Bewegungsfunktion an und schädigt scheinbar erst später die sonst empfindlichere Vermehrungsfunktion.

b) Kälte.

Bei einer 49stündigen Abkühlung der Trichomonaden auf -2 Grad C sah AEBLI überhaupt keine Veränderungen. Auch Temperaturen von -2 bis -5 Grad C wurden 48 Stunden ohne Schaden ertragen. Am 3. Tage nahm bei -5 bis -6 Grad C Wachstum und Beweglichkeit ab. 69stündige Kälte von -4 Grad C zerstörte die Verzehrfähigkeit, Kälte unter 12 Grad tötete die Protozoen in jedem Fall. Im Gegensatz zu diesen Befunden stehen die Beobachtungen MUSSILA (67), der nach Einfrieren bei -14 Grad C keine Störungen sah. DALST (24) fand bei Abkühlung von Unterwuchsmaterial (Pyometraolter) die beste Haltbarkeit bei Kollertemperatur, aber auch bei Frost war diese noch 3mal grösser gegenüber Brutachrankwärme (6 Tage gegenüber 2 Tagen). McNUFF, WALSH und MURRAY (64) konnten im Eisschrank die Trichomonaden 12 Tage lebend erhalten, WITTFOGEL (107) sogar bis zu 17 Tagen. Auch DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31) erwähnten, dass in eingefrorenem Untersuchungsmaterial die Protozoen beim Auftauen in Zimmertemperatur ihre Beweglichkeit wieder erlangen.

c) Eintrocknung.

ABELEIN hat darauf hingewiesen, dass Trichomonaden gegen Eintrocknung sehr empfindlich sind und WITTFOGEL (107) kommt zu dem nämlichen Ergebnis. AEBLI (8) betont, dass bei vollendeter Eintrocknung die Trichomonaden in jedem Falle abgetötet sind. Die Zeit, innerhalb welcher die Abtötung von Trichomonaden bei Eintrocknungsversuchen eintritt, besagt also nur, wann eine vollkommene Eintrocknung eingetreten ist.

d) Bakterielle Antibiose.

Hinsichtlich des Einflusses von Schizomycoten auf Trichomonaden besteht heute die überwiegende Meinung, dass dieser ein schädigender auf das Gedeihen der Flagellaten ist. Auch die Auflösung von toten Trichomonadenzellen bei Anwesenheit von Bakterien spricht, wenn auch nicht unbedingt, für diese Ansicht.

Bereits 1927 hat REICHENOW (zit. nach WITTE 104) darauf hingewiesen, dass Trichomonadenkulturen durch zufällig vorhandene Begleitbakterien ungünstig beeinflusst wurden und die Ergebnisse der kulturellen Züchtung von diesem Keimgehalt abhängig sind. Auch ABELEIN (2) äusserte, als er bei sekundär verunreinigten Passagen von Trichomonadenkulturen einen starken Rückgang des Flagellatenwachstums bemerkte, den Verdacht, dass der Untergang der Trichomonaden durch die Bakterien bewirkt worden sein könnte.

- 20 -

Dieser Ansicht trat dann WITTE (104) bei und bestätigte sie durch seine Beobachtungen. Auch RIEDMÜLLER (81) sah, dass accidentelle Keime die Trichomonaden aus Unterwuchungsmaterial verdrängten. PINGGERA (73) hat 1936 die gleiche Erfahrung gemacht und auch SENNA (87) tritt für die Antibiose zwischen Trichomonaden und Schizomyceten ein. ABELEIN (5) wies 1941 erneut auf die Überwucherung von Trichomonaden durch Begleitkeime hin. In derselben Richtung liegen schliesslich die Erfahrungen von HESS (45), der bei Trübung von Kulturen durch Bakterienwachstum diese als unbrauchbar ausschleudert. Genauere Untersuchungen über das Verhalten von *Trichomonas genitalis bovis* zur bakteriellen Begleitflora hat AEBLI (8) in Kulturen angestellt. Er machte Versuche mit *Streptococcus faecium*, *Streptococcus lactis*, *Streptococcus bovis*, *Micrococcus pyogenes citreus*, *Bacterium coli* und *Bacterium subtilis* Michigan.

Bei der Mischkultur von Trichomonaden mit *Streptococcus faecium*, *Streptococcus lactis* und *Streptococcus bovis* blieb jegliches Trichomonadenwachstum aus, gleichgültig, ob die Kokken in der Kultur einen Vorsprung von 1,2 oder 3 Tagen hatten. Hatten die Trichomonaden in der Kultur einen Vorsprung von 1 - 3 Tagen, so wurden sie gleichwohl in 24 Stunden restlos verdrängt. Bei 4tägigem Vorsprung waren sie einen Tag nach dem Streptokokkenzusatz noch vorhanden, jedoch nur in geringer Zahl. Der pH-Wert sank durch das Streptokokkenwachstum auf 5,2 - 4,6, wenn Traubenzucker im Nährsubstrat vorhanden war; ohne diesen nur auf 7,2 - 6,2. Demgegenüber blieben die Trichomonaden bei Mischkulturen mit *Micrococcus pyogenes citreus* nicht nur am Leben, sondern zeigten die ersten 4 Tage die gleiche Vermehrung wie die nicht verunreinigten Kontrollen. Vom 4. Tag ab wurden die Trichomonaden verdrängt. Wenn die Mikrokokken im Kulturwachstum um 3 oder 4 Tage voraus waren, so blieben die Trichomonaden zwar bis 6 Tage am Leben, vermehrten sich aber nicht. Auch hier wurde der pH-Wert auf 5,2 - 5,5 gesenkt. Die Ergebnisse mit *Bacterium coli* schwanken zwischen dem Ausbleiben jeglichen Wachstums und einer kurzen Lebensdauer bis zum 3. Tag. Ohne Traubenzucker verschoob das *Bacterium coli* den pH-Wert ins Alkalische, mit Traubenzucker wurde er auf 5,2 herabgedrückt. Diese unterschiedlichen Ergebnisse sind m.E. auf die grosse Variantenbildung des *Bacterium coli* zurückzuführen. Bei Mischkulturen von *Trichomonas genitalis bovis* mit *Bacterium subtilis* Michigan zeigte sich keine Wachstums hemmung der Flagellaten. Das Bakterium wuchs langsam und änderte im Traubenzuckerfreien Medium die pH-Zahl nicht, in Traubenzuckerbouillon wurde sie bei kaum beeinträchtigtem Trichomonadenwachstum auf 5,2 herabgesetzt.

AEBLI glaubt nun die Wachstums hemmung wenigstens teilweise der Säure-

- 21 -

bildung der verwendeten Schizomyceten zuschreiben zu können. Es kann dies aber, wie die Ergebnisse mit *Micrococcus pyogenes citreus* und die mit *Bacterium subtilis* Michigan in Traubenzuckerbouillon zeigen, nur in beschränktem Ausmass der Fall sein. Auch AEBLI vermutet in Stoffwechselprodukten der Bakterien für Trichomonaden schädigende Substanzen. Bedeutsam ist sein Nachweis, dass bei der Mischkultur von Bakterien mit Trichomonaden gleichzeitig eine Erschöpfung der Nährböden an Eiweiss durch die Begleitkeime eintrat. Wurde ein von Bakterien (*Dipterococcus faecius*) überwuchertes Nährboden nämlich keimfrei filtriert und das Filtrat erneut mit Trichomonaden beimpft, so war deren Wachstum spärlich und dauerte nur bis zum 3. Tag. Bei Serumzugabe aber wurde es wieder ein vollwertiger Nährboden, auf dem sich die Flagellaten ausgezeichnet vermehrten. Diese Tatsache spricht allerdings auch gegen die Annahme, dass für Trichomonaden giftige Stoffwechselprodukte der Bakterien in Nährboden in Lösung gehen, da diese ja das Filter passiert hätten. Nach AEBLI werden die Trichomonaden durch Bakterien aus Kulturen verdrängt:

infolge Erschöpfung der Nährböden (Eiweissmangel),
infolge Bildung von giftigen Stoffwechselprodukten,
infolge Säuerung des Milieus.

Ob über diese angedeuteten Notizen hinaus noch eine spezifische Antibiose besteht, etwa dergestalt, dass Bakterien spezifische Parasiten der Trichomonaden darstellen, ist nicht erwiesen. Sicher scheint zu sein, dass verschiedene Bakterienarten verschieden stark zu schädigen vermögen, einige auch un-schädlich sein dürften. Zur un-schädlichen Gruppe dürften diejenigen Keime gehören, die häufig in Untersuchungsmaterial infizierter Tiere mit Trichomonaden gleichzeitig gefunden werden. ABELEIN (2) hat in Pyometraeritern vornehmlich Mikrokokken, Streptokokken und Diplokokken gefunden. SAUR (13) hat die Bakterienflora des Uterus von 12 trichomonadeninfizierten Kühen untersucht. In 7 Fällen fand er die Trichomonaden allein, bei sonst steriler Matra. Viernmal gleichzeitig *Micrococcus albus*, einmal grampositive Streptokokken, einmal *Bacterium coli*, einmal *Bacterium tuberculosis* und einmal *Bacterium aerogenes*. Auf die häufige Keimfreiheit des Uterus bei Trichomonadeninfektion wurde auch von ABELEIN (2) und KÜST (57) hingewiesen. Fasst man diese Ergebnisse zusammen, so unterstreicht die Keimfreiheit des Uterus bei Trichomonadeninfektion die Ansicht der Antibiose mit den Schizomyceten. Die mehrfachen Beobachtungen deuten aber auch auf eine geringere Antibiose zwischen Trichomonaden und Coccaceen, da sie mit solchen immerhin nicht einzeln angetroffen wurden. Wenn MANN (62), der die transportierende Fähigkeit der Trichomonaden für Bakterien beobachtet hat, am häufigsten und sichersten die Veranschlagung von Kokken sah, so spricht dies gleichfalls für die

- 22 -

Ansicht, da im allgemeinen wohl nur die für den Transporteur hamlosen Keime verschleppt werden können.

Zusammenfassung der Tenazitätsbeobachtungen:

Die Widerstandsfähigkeit der *Trichomonas genitalis bovis* ausserhalb der Befallsorgane des Wirtes ist gering. Auch in körpereigenen Stoffen des Wirtes sind sie dann nur beschränkte Zeit lebensfähig, am längsten in Pyometraciter, Föten und Scheidenschleim.

- 23 -

C. Spezieller Teil

Die Diagnose

Die Schwierigkeit, den Erreger selbst im infizierten Organismus aufzufinden, führt zu der Frage, ob nicht aus den Symptomen der Krankheit oder der Reaktion des Organismus eine sichere Diagnosestellung möglich ist.

I. Diagnosemöglichkeiten ohne Nachweis des Erregers.

1.) Aus dem Krankheitsverlauf.

Die Frage, ob aus dem Verlauf der Krankheit und deren Symptomen der spezifische Charakter der Infektion mit Sicherheit erkannt werden kann, muss verneint werden. Beim Bullen ergibt die Ansteckung zunächst überhaupt keine regelmäßigen Symptome. Beim weiblichen Rind zeitigt die Infektion

entweder Sterilität, d.h. überhaupt Ausbleiben der Konzeption, mitunter verbunden mit Cervicitis und Knötchenbildung in der Vaginalschleimhaut
oder Befruchtung mit darauffolgendem Frühabort
oder Befruchtung mit darauffolgender Pyometrabildung
oder Befruchtung und Austragen der Frucht bis zur normalen Geburt.

Grundsätzlich können diese Symptome auch aus anderen Ursachen entstehen (unspezifische Uterus- und Scheidenkatarrhe, mechanische Reizungen der Scheide beim Sprung, Pyogenospyometra, ovarielle Störungen). DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31) nennen zwar die grobsinnlichen Erscheinungen beim Trichomonadenabort, so das anämische Aussehen der Foeten oder den "Eiersuppencharakter" der Sekrete, pathognostisch. Doch lehrt die praktische Erfahrung, dass hier die objektiven Wahrnehmungen zur sicheren Diagnose nicht genügen. Die abortierten Foeten, wohl die typischsten Merkmale der Infektion, gelangen, sofern ein Abort überhaupt eintritt, häufig erst stark mazeriert und angefault in die Hand des Diagnostikers, gehen aber auch häufig bei kleinträchtigem Zustand in der Streu verloren. Was die Ausflüsse anbelangt, so ist hier ein typisches Aussehen aber keineswegs konstant. Die grobsinnlichen Wahrnehmungen können also allenfalls einen Verdacht, niemals aber eine sichere Diagnose ermöglichen.

2.) Aus den anatomisch-pathologischen Veränderungen.

BAUR (14) hat die anatomisch-pathologischen Veränderungen am Endometrium des trichomonadeninfizierten Rindes untersucht, wobei in 6 Fällen Reinfektionen vorlagen und in 5 Fällen gleichzeitig auch Bakterien aufgefunden wurden. Er nennt die pathologisch-anatomischen Veränderungen gleichfalls typisch. Die Mucosa sei gelblich, graugelblich, graurötlich bis schmutziggrau und besitze einen feuchtglänzenden schleimigen Überzug oder klares, schleimiges Exsudat, bisweilen auch grosse Mengen eines klaren, wässrigen, serösen Exsudats. In einem Fall war die Mucosa mit vielen stecknadelkopfgrossen Cysten besetzt. Die Karkunkeln waren erbsen- bis haselnussgross und gelb oder bezassen ein gelbes Zentrum. Hieran sieht man, wie sehr bei aller Eigenart des Befundes die Erscheinungen bereits bei 12 Fällen variieren und demnach eine sichere Diagnose wohl nicht ermöglichen. Da diese Veränderungen am lebenden Tier nicht festgestellt werden können, sind sie nicht diagnostisch verwertbar. Auch gibt es ja Trichomonadeninfektionen, die zunächst nur in der Vagina haften.

Beim Bullen will KÜST (59) starke Anschwellung des Praeputiums mit schleimig-eitrigem Ausfluss, mit starker Rötung und Schwellung der Schleimhaut und dem Auftreten hirsekorngrosser, im Anfangsstadium hochgeröteter Knötchen, besonders an der kaudalen Umschlagstelle des Praeputiums beobachtet haben. Bei länger dauernder Krankheit sollen sich die Knötchen verkleinern und immer mehr verflachen. Mit diesen Beobachtungen decken sich die von DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31), MÖLLER, PALLASKE und VOLKMANN (zit. nach ABELEIN 5). Dagegen hat ABELEIN (2 u.5) betont, dass häufig infizierte Bullen gefunden werden, die keinerlei entzündliche Veränderungen zeigen und bei denen die Ansteckung völlig symptomlos vertragen wird. In Ansteckungsversuchen mit Reinkulturen hat DANGELMAIER (zit. nach ABELEIN 5) nachgewiesen, dass Trichomonaden bei Bullen im Praeputialsaack nur schwache Reizungen hervorriefen. Zu den gleichen Ergebnissen kamen BRAUER (23), SCHAAF (23) und SCHUMANN (zit. nach ABELEIN 5). Auch KÜST (58) räumt ein, dass keinerlei Entzündungserscheinungen mehr festzustellen sind, wenn die Krankheit erst länger vorliegt.

BELLER und SCHREIBER (17) haben 890 untersuchte Bullen (von denen 50% trichomonadenpositiv waren) diesbezüglich näher beobachtet. Tiere mit stark geröteter Penisschleimhaut und hochgradiger Follikulitis erwiesen sich nur zu 54,3% als trichomonadenpositiv, solche mit leicht geröteter Penisschleimhaut und geringgradiger Follikulitis zu 50,6%, Bullen mit völlig unveränderter Penisschleimhaut zu 45,0%. Damit kommt den

- 25 -

entzündlichen Erscheinungen der Penisohleimhaut bezüglich der Trichomonadeninfektion wohl keine pathognostische Bedeutung zu. Auch bei meinen eigenen Untersuchungen habe ich dafür keinen Anhalt gefunden. Abgesehen davon kann ein Vorhautkatarrh, denn um einen solchen handelt es sich ja bei den entzündlichen Veränderungen, vielerlei Ursachen haben.

Die pathologisch-anatomischen Veränderungen durch die Trichomonadeninfektion sind also weder beim weiblichen Rind - hier mit Ausnahme der auch nicht immer auftretenden Reibeisenvagina - noch beim Bullen pathognostisch und für eine sichere Diagnose daher nicht verwertbar.

3.) Aus den histologischen Veränderungen.

BAUR (14) fand in der Uterusschleimhaut von 12 trichomonadeninfizierten Schlachtkühen folgende histologischen Veränderungen:

Das Zylinderepithel der Schleimhautoberfläche des Endometriums war stellenweise abgestossen oder mit kleinen Lücken versehen und mit Plasmazellen infiltriert, in einem Fall war das einschichtige Zylinderepithel in ein 4-5-schichtiges umgewandelt (produktive Entzündung). Bei Reininfektion fand er immer eine plasmazelluläre und lymphozytäre Infiltration in der Propria mucosae und Fibroplasten, besonders im Stratum cellulare und um die Drüsen herum. Öfters findet er vor allem in den Karunkeln deutliche Eosinophilie. Die Gefäße sind hochgradig erweitert, mit Erythrozyten gefüllt und weisen oft Lücken auf, aus denen diese ins Umgebungsgewebe austreten. In 5 Fällen wurden zwischen den Zellen Pigmentablagerungen gefunden (Gallenfarbstoffe).

In den Karunkeln waren die Veränderungen ähnlich. WEIRICH und EMMERSON (101) wollen Phagozytose der Trichomonaden durch Leukozyten beobachtet haben.

Im ganzen kommt das Bild einer Entzündung von exsudativem und proliferativem Charakter nahe. Ob es sich bei den Epithellücken um postmortale Defekte und Schäden durch das Mikrotom gehandelt hat, muss offen bleiben. Bei Mischinfektion mit *Bacterium coli* und nicht hämolytischen grampositiven Streptokokken kamen zu den exsudativen und proliferativen auch degenerative Veränderungen hinzu. BAUR fand dann tropfige Entmischung, schollige Degeneration und Karyorhexis. Ebenso traten polymorphkernige Leukozyten auf. Hier beginnt das histologische Bild schon stark zu variieren.

Inwieweit eine histologische Prüfung des Endometriums, etwa nach Entnahme einer Gewebeprobe, wie sie in der Humanmedizin geübt wird, für die Trichomonadeninfektion zur Diagnose brauchbar ist, kann nach den vorliegenden Angaben nicht gesagt werden. Selbst wenn die von BAUR beobachtete Eosinophilie von den Trichomonaden herrührte, so könnte in einem solchen

- 26 -

Fall ein accidenteller Parasitenbefall das gleiche Bild hervorgerufen haben. Die anderen Bilder aber verlieren mit den in der Praxis nicht seltenen Mischinfektionen bereits den typischen Charakter. Auch wird man immer erst dann histologische Befunde erheben können, wenn der Uterus infiziert ist, nicht aber wenn die Ansteckung noch in der Scheide lokalisiert bleibt. Allenfalls besteht nach Bereicherung der Kenntnisse die Möglichkeit, durch das histologische Bild eine bestehende Metritis den Trichomonaden zuschreiben oder diese als Ursache ausschließen zu können.

Beim Bullen ist eine histologische Untersuchung diagnostisch sinnlos, da hier keine Veränderungen erzeugt werden.

4.) Aus der Reaktion des Infektionsträgers.

a) Die Komplementbindungsreaktion.

Die Frage, ob die Geschlechtstrichomonade des Rindes antigene Eigenschaften besitzt, die man über die serologischen Reaktionen diagnostisch auswerten könnte, hat bereits 1932 als erster RIEDMÜLLER (80) untersucht. Er fand bei starker Infektion spezifische Antikörper im Blut. WITTE (105) erprobte kurz darauf die Komplementbindungsreaktion an 18 Seren trichomonadeninfizierter Tiere und 77 Kontrollseren (darunter Bang und Tuberkulose). Sein Resultat ist, dass die negative Reaktion die Infektion nicht ausschliesst, die positive aber beweisend sei. (Die von WITTE gleichzeitig untersuchte Agglomeration und das Riekenberg'sche Phänomen erwiesen sich beim Rind als unbrauchbar.) Mit der Komplementbindungsreaktion haben sich in neuester Zeit FLORENT (34) und ZAVAGLI (zit. nach DOMMEN 29) wieder befasst. Die Schwierigkeit liegt hier in der sehr schwachen antigenen Wirkung der Trichomonaden. FLORENT legt deshalb grössten Wert auf die sorgfältige Herstellung des Antigens, wobei er den alkoholischen Auszug am wirksamsten fand. Trotzdem konnte er bei schwacher Infektion keine Komplementbindung erreichen. Während ZAVAGLI überraschend gute Ergebnisse sah (bei 225 Untersuchungen nur 8 zweifelhafte Resultate), berichtet ROSSI (zit. nach DOMMEN 29) 1949 von 1,3 Fehlresultaten. Obwohl nun DOMMEN (29) fand, dass das Antigen aus frischen isolierten Stämmen am stärksten ist und in der Antigenherstellung noch vorsichtiger zu Werke ging, findet er die Komplementbindungsreaktion nicht genügend genau, um beim Einzeltier im negativen Fall diagnostisch beweisend zu sein. Auch bei positivem Befund ist sie bei gleichzeitiger Banginfektion oder Bangvaccination nicht mehr eindeutig. Ausserdem fand er in einem hohen Prozentsatz fragliche Reaktionen, 7 negative Reaktionen bei nachgewiesenen Trichomonadenbefall und eine ebensolche bei einem Bullen, der seit 4 Monaten sicher

- 27 -

angesteckt war. Ähnliche Erfahrungen ausserten ENDRESS und MORGAN (zit. nach DITGENS 27).

Damach kann gesagt werden, dass die Komplementbindungsreaktion bei Trichomonadeninfektion zu wenig Genauigkeit besitzt, um für eine sichere Diagnose verwertbar zu sein.

b) Die Präzipitationsreaktion.

Die Präzipitation hat nach den Angaben von DITGENS (27) zuerst 1944 SVEC diagnostisch anzuwenden versucht. Dieser konnte, wie auch POSTIZZI, keine befriedigenden Erfolge erzielen. Nähere Erfahrungen sind darüber nicht bekannt geworden.

c) Die Alexinfixation.

Zur Diagnose der Trichomonadeninfektion wurde von FLORENT (zit. nach DITGENS 27) die Alexinfixation benutzt. Sie soll sich gut bewährt haben, doch liegen für die Auswertung noch nicht genügende Erfahrungen vor. Es ist noch ungeklärt, wie lange Antikörper nach der Abheilung im Blute verbleiben und ob bei Trächtigkeit unspezifische Reaktionen vorkommen.

d) Die Agglutinationsreaktion. aa) Serumagglutination.

Die Serumagglutination wurde von WITTE und ENDRESS zunächst als unspezifisch angesehen, da die Agglutinine gegen Trichomonaden in fast jedem Rindersorum fanden; KERR und ROBERTSON (56) verbesserten die Technik dahin, dass die Reaktion diagnostisch verwertbar erschien. PIERCE (72) fand dagegen nur bei massiver Infektion eindeutige Reaktionen und hält das Verfahren für die Diagnose am Einzeltier für wenig geeignet. FLORENT (zit. nach DITGENS 27) befasste sich ebenfalls mit der Serumagglutination und findet, dass der weite Spielraum der Beurteilung keine diagnostische Sicherheit verbürge.

bb) Mucosagglutination.

PIERCE (71) dürfte als erster 1946 die Anwesenheit von Agglutininen im Vaginalschleim festgestellt haben. An seine Beobachtungen schlossen sich die von KERR, ROBERTSON und FLORENT (zit. nach DITGENS 27) an. FLORENT brachte dabei einen Tropfen Vaginalschleim von der Umgebung der Portio auf einen Objektträger und daneben einen solchen einer Trichomonadensuspension. Da die Überdecken mit dem Deckgläschen umflut die Suspension den Schleimtropfen, ohne sich mit ihm zu vermischen. Im positiven Fall kann man nach 5 - 10 Minuten an der Randlinie des Schleimtropfens die Agglutination der Trichomonaden beobachten. Die stärksten agglutinierenden Eigenschaften

- 28 -

zeigte der Schleim aus der Umgebung der Portio. Die Ergebnisse verschlechtern sich mit Brunatschleim, Pyometraeiter oder bei Verdünnung mit Uterussekrete. Ganz allgemein soll der Vaginalschleim stärker agglutinieren als der aus dem Uterus kommende. Die Agglutinine sollen hitzestabil sein und eine Temperatur von 60 Grad eine Stunde lang vertragen, bei 100 Grad aber sofort vernichtet werden. Sie treten bei Ansteckung im Vaginalschleim früher als im Blutsrum auf, stets sechs bis acht Wochen nach der Infektion. Dann bleiben sie allerdings auch nach erfolgter Abheilung noch Monate bis zu 1 1/2 Jahren im Scheidenschleim nachweisbar. Im Uterussekrete sind sie nur bei genügend massiver Infektion aufzufinden; sie treten dort wesentlich später auf und sind auch weniger lang vorhanden. FLORENT bringt das Vorhandensein der Agglutinine mit einer lokalen Immunitätsausbildung in Zusammenhang, die dann zur Selbstreinigung der infizierten Tiere führt. Die Selbstreinigung erfasst demnach zunächst Vagina und Cervix und erst später den Uterus. Gestützt wird diese Ansicht durch die Tatsache, dass im Praeputialsack der Bullen keine Agglutinine ermittelt wurden, beim Bullen aber auch keine Spontanheilung vorzukommen scheint.

DITGENS (27) hat die Brauchbarkeit der Mucosagglutination überprüft. Er hält sie für eine wichtige Ergänzung der mikroskopischen Untersuchung, jedoch mehr für Reihenuntersuchungen und als Herdentest geeignet. Er betont die Einfachheit des Verfahrens und die Möglichkeit, weit zurückliegende Infektionen und auch abgeheilte Fälle noch nachweisen zu können. Damit werden aber auch die Nachteile erkennbar. Sie ist ungeeignet für den Nachweis der Abheilung, für die Diagnose am männlichen Tier und weitestgehend abhängig von der Beschaffenheit der Schleimprobe, die zähflüssig, nicht mit Pyometraeiter vermischt und nicht von trübsigen Tieren abgenommen sein soll. Auch Pseudoagglutinationen können zu Fehlergebnissen führen.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die serologischen Reaktionen nicht zuverlässig genug ausfallen und vor allem die Sicherheit des Ausschlusses nicht zulassen, sodass sie diagnostisch wenig brauchbar sind.

5.) Aus dem Nachweis von Symbionten oder regelmäßigen Begleitkeimen.

BAUR (13) fand bei der Untersuchung erkrankter Uteri auffallend häufig *Micrococcus albus* mit *Trichomonaden* vergesellschaftet. Dies führte ihn zu der Folgerung, dass bei ähnlichen Veränderungen des Uterussekrete,

- 29 -

wie man sie bei Trichomonadensuche findet, und bei Anwesenheit des Micrococcus albus, d.h. also ohne Nachweis der Trichomonas genitalis bovis, doch auf diese geschlossen werden dürfte und der Verdacht auf Trichomonadensuche gestellt werden müsse.

Nun spricht BAUR von dem Verdacht einer Infektion und keineswegs von der Möglichkeit einer Diagnose bei Auffinden des Micrococcus albus. Nach den Untersuchungen AEBLIs (8) leben die Trichomonaden sicher mit einigen Bakterien in strenger Antibiose, während sie gegen andere, und hier scheinbar gegen einige Kokken, indifferent sind. Von einer Symbiose, schon gar von einer obligaten, ist bisher nichts nachgewiesen worden, wie ja auch BAUR nicht bei allen, sondern nur in 4 von 11 Fällen Micrococcus albus, dabei aber auch 7mal Trichomonaden ohne jeden Begleitkeim fand. Eine obligate Symbiose aber wäre die Voraussetzung, um den Trichomonadenbefall durch Auffinden des Begleitkeims sicher nachweisen zu können. Aus AEBLIs Ergebnissen folgernd, könnte man sagen, dass bei Auffinden bestimmter (nämlich für Trichomonaden verträglich) Keime eine Trichomonadeninfektion immer noch möglich ist (z.B. bei Micrococcus albus), während bei Nachweis anderer (antibiotischer) Keime eine Trichomonadeninfektion vielleicht ausgeschlossen werden kann. Um diese Folgerung diagnostisch auswerten zu können, fehlen bislang noch die Erfahrungen und genaue Untersuchungen am lebenden Tier, da man nicht vergessen darf, dass AEBLI seine Beobachtungen in vitro gemacht hat. Möglicherweise werden nämlich in den von Trichomonaden befallenen Wirtsorganen für die Bakterien hemmende und die Trichomonaden dadurch begünstigende Einflüsse geltend, die von den Versuchsergebnissen AEBLIs abweichende Befunde ergeben können. Keinesfalls können bis heute aus der bakteriellen Begleitflora sichere diagnostische Schlüsse auf eine Trichomonadeninfektion gezogen werden. Zusammenfassend ist zu sagen, dass es bis jetzt nicht gelingt, aus Symptomen oder Reaktionen des infizierten Organismus die Trichomonadensuche mit Sicherheit zu erkennen.

II. Diagnose durch den Nachweis des Erregers.

Damit bleibt einzig der schwierige Weg, den Erreger im befallenen Organ aufzusuchen und ihn zum Nachweis daraus zu isolieren. Dazu eignet sich bislang nur die vegetative Form des Parasiten, da die als Dauerformen angesprochenen Rundformen noch nicht mit Sicherheit von ähnlichen Zellgebilden (Lymphozyten, Epithelien oder Pilzhyphen) im Nativpräparat differenziert werden können. Mit Rücksicht auf diese Tatsache wird seit 1947 an der

- 30 -

Bayrischer Landesanstalt für Tierarzneibekämpfung (GRAU 40) bei negativem Trichomonadenbefund des Untersuchungsmaterials das Ergebnis in den Wortlaut: "Keine Vitalformen von Trichomonaden nachzuweisen" gefasst, womit die Möglichkeit des Vorhandenseins nicht sicher differenzierbarer Rundformen offengelassen ist.

1.) Isolierungsmöglichkeiten nach Geschlecht des Wirtes.

Sieht man von der eine Zeitlang vertretenen Ansicht, Trichomonaden vermöchten in die Blutbahn überzugehen und seien dort nachweisbar, der ABELEIN (5) überzeugend entgegengetreten ist, ab, so bleibt nur der Weg, die Flagellaten in den Geschlechtsorganen des männlichen oder weiblichen Rindes aufzufinden. Da die Trichomonadensuche eine Deckinfektion ist und der Bulle den Hauptüberträger darstellt, ist es zunächst grundsätzlich gleichgültig, wo die Diagnose an der Infektionskette angreift, d.h. ob die Infektion bei der Kuh nachgewiesen wird und damit auf den Zustand des Bullen geschlossen wird oder umgekehrt. Entscheidend bei der Wahl des Angriffspunktes ist die Frage, bei welchem Geschlecht die Diagnose leichter, noch wichtiger aber, bei welchem sie sicherer ist.

a) Beim weiblichen Tier.

Aus den Toxizitätsbefunden ergibt sich nun, dass die Haltbarkeit der Flagellaten in den Uterussekreten und in der abortierten Frucht noch relativ am grössten ist. Da dieses Untersuchungsmaterial anscheinend auch am leichtesten zu gewinnen ist, war dies der Weg, der sich zur Diagnose vor allem anbietet und auch in der Vergangenheit am meisten beschritten wurde, zumal er die Möglichkeit bot, das Material in die Hand erfahrener Diagnostiker gelangen zu lassen. So einfach dieser Weg zunächst erscheint, so unsicher ist er aber bei genauer Betrachtung. Die Flagellaten halten sich nämlich nur vorübergehend in der Vagina auf und wandern, solange die Cervix passierbar ist, in den Uterus, wohin sie nach den Untersuchungen von MANN (62) anscheinend durch anlockende Stoffe, die sich nur im Brunstschleim befinden, geleitet werden. Mit Sicherheit sind sie dann nur noch im Uterus zu finden, während sie in der Scheide völlig fehlen können. Das leicht zugängliche Scheidensekret täuscht dann den Diagnostiker, während der schwer zugängliche Uterus infiziert ist.

HOLIAN (48) fand bei 71 positiven weiblichen Tieren 19mal die Trichomonaden im Diverticulum suburethrale und gelangte zu der Ansicht, dass dort ein Hauptansiedlungspunkt sei, an welchem die Parasiten am sichersten nachgewiesen werden können. Solange sich die Infektion auf die Vagina beschränkt,

mag dies gültig sein.

Tritt nun nach Konzeption Pyometrabildung ein, so kann erst bei spontaner oder artifizieller Entleerung des Uterus die Sauche nachgewiesen werden. Im allgemeinen ist dann im Eiter der Flagellat leicht zu finden. Aber auch hier schwankt seine Häufigkeit bedeutend, und andererseits ist die Pyometra nur eine Möglichkeit des pathologischen Geschehens.

Kommt es dagegen zum Verwerfen, so ist auch hier oft der Erreger nur im Uterus lokalisiert und erst nach Eintritt des Schadens nachzuweisen. Auch in der verworfenen Frucht schwankt der Flagellatengehalt und kann so gering sein, dass der Nachweis misslingt, besonders wenn die Frucht erst in verändertem Zustand (Fäulnis) zur Untersuchung gelangt. Bisweilen schützen die Eihäute, welche die im Uterus angesiedelten Trichomonaden manchmal nicht zu durchdringen vermögen, die Frucht, sodass im Fetus dann keine Parasiten gefunden werden können. Im Falle des Sterilbleibens des weiblichen Tieres nach dem Sprung oder im Zustand nach dem Frühabort, wie überhaupt nach dem Abklingen des akuten Infektionsstadiums, werden nach den Beobachtungen BARTLETTS (12) die Trichomonaden nicht mehr dauernd ausgeschieden, sondern entziehen sich vorübergehend dem Nachweis, um dann noch am regelmässigen einige Tage vor der Brunst auffindbar zu sein.

Nach den Versuchen DIERNHOFFERS (26) scheint ausserdem beim weiblichen Rind eine kurz dauernde Schleimhautimmunität möglich zu sein, bei der dann eine neue Infektion nicht haftet oder bei Konzeption die Frucht ausgetragen wird. Wenn man bei der Untersuchung der verdächtigen Sterilität eines Bestandes dann an ein solches Tier gelangt, kann der Befund natürlich nichts aussagen. Somit ist die Diagnosenstellung am weiblichen Tier von vielen Zufälligkeiten abhängig und kann nur im positiven Falle beweisend sein. Sie kann sogar bei Untersuchung mehrerer Tiere eines verdächtigen Bestandes täuschen und bleibt stark dem Zufall unterworfen.

b) Beim männlichen Tier.

Beim Bullen ist die Diagnose zunächst bedeutend schwieriger, weil der Befall meist viel geringer ist als beim weiblichen Tier und der Nachweis nicht durch ein spontan ausgeworfenes Sekret möglich ist. Hinsichtlich der Befallsorgane bestehen noch heute grosse Meinungsverschiedenheiten. Sieht man wieder von der von KÜST (59), WAGNER und HEES (96) vertretenen Ansicht der Vegetation von Geschlechtstrichomonaden im Blut ab, so bleibt die Theorie von KÜST und FEILING (zit. nach ABELEIN 5) und SCHWAB (zit. nach AEBLI 8), derzufolge die Trichomonaden beim Bullen auch Harnröhre und Geschlechtsanhangdrüsen zu besiedeln vermöchten. Neben FATAMURA, KARLSON

- 32 -

und BOYD (zit. nach HESS 45) und DE BLIEK und BOOS (zit. nach ABELEIN 4) hat sich jüngst SOKOLOWSKIJ (89) erneut zu dieser Anschauung bekannt. Dagegen steht die Ansicht ABELEINS (5), dazufolge die Trichomonaden nur den Vorhautsack zu besiedeln vermögen. Bei 56 Bullen, die im Vorhautsack nachweisbar Trichomonaden beherbergten, konnte er in keinem Fall im Harn und Samen, wenn diese Sekrete so gewonnen wurden, dass sie vorher nicht mit der Praeputialschleimhaut in Berührung kamen, Trichomonaden nachweisen. Zu dem sinngemäss gleichen Ergebnis kam BEHRINGER (13), der bei 52 Bullen Trichomonaden nur im untersten Teil des Geschlechtsapparates fand und nur in 2 Fällen eine postmortale Verschleppung in die unteren Harnröhrenabschnitte annahm. Am überzeugendsten widerlegen die Heilungsergebnisse behandelter Bullen von HESS die Annahme des Aufstiegs der Trichomonaden in Harnröhre und Anhangdrüsen, da HESS sich therapeutisch ja nur auf den Praeputialsack beschränkt. Wie AEBLI (8) beobachtet hat, sind ausserdem die Flagellaten gegen den Harn sehr empfindlich.

Was also die Befallsorgane beim Bullen betrifft, so kann als bewiesen gelten, dass hier nur der Praeputialsack in Frage kommt. STOSS (91) hat in der Vorhauttasche des Bullen im Wandblatt nischenförmige Einsenkungen, an Eichel und Umschlagstelle aber alveoläre Gruben nachgewiesen, die ABELEIN (3) als die Befalls- und Vermehrungsnester der Trichomonaden beim Bullen erkannte. BARTLETT (12) wies bei seriennässigen Untersuchungen dabei den stärksten Trichomonadenbefall am Collum glandis, fast ebenso starken auf dem benachbarten Wandblatt nach. Dann sinkt er ab in der Reihenfolge: Galea glandis-cranialis, an das Orificium des Praeputiums angrenzende Schleimhautpartie - mittlere Partie des Wandblattes. Frei in der Praeputialhöhle wird man also wenige Trichomonaden finden, sodass zu ihrer Auffindung gewisse Hilfen nötig sind.

Das älteste Abnahmeverfahren für Untersuchungsproben stellt das Abklatschpräparat von der Eichel des erigierenden Penis dar. Das nächste war ein Abkratzipräparat, wobei mit dem Rand des Objektträgers aus der Schleimhauttiefe Material gewonnen wurde.

ABELEIN benützte dann einen Tupperkatheter, dessen Pinsel an der Umschlagstelle des Vorhautsackes hin- und hergeschoben wurde. MÖLLER (65) ersetzte den Katheter durch einen Gummischlauch. Ein bedeutender Fortschritt war das Verfahren von BENESCH (19), der mit einer Rekordspritze 20 ccm physiologische Kochsalzlösung in den Vorhautsack infundierte, diesen abmassierte und die wiederaufgefangene Flüssigkeit 3 - 5 Minuten von Hand zentrifugierte, um das Zentrifugat unter dem Mikroskop zu un-

- 33 -

tersuchen. Auf dieser Methode beruhen heute alle verbesserten Verfahren der Abnahmetechnik.

HESS (46) legt darauf Wert, dass die Bullen vor der Untersuchung zur Erektion gereizt werden, um mit der Dehnung der Rutenschwellkörper die Trichomonaden aus den Penisgrübchen auszupressen, was zu besseren Ergebnissen führe.

ABELEIN (6) empfiehlt zur Abnahme der Spülprobe eine Ballonspritze, deren Kanüle nach dem Injizieren der Spülflüssigkeit in der Vorhautöffnung liegen bleibt und nach dem Abmassieren dieselbe wieder zurücksaugt.

Trotz dieser fortlaufenden Vervollkommenung der Methodik, den Erreger aus dem Befallsorgan zu isolieren, klagen fast alle Autoren über die Unzuverlässigkeit seines Nachweises beim Bullen. HEITGRESS (44), der infizierte Bullen mit Chinosolspülungen zu behandeln versuchte, konnte bei wiederholter Untersuchung des Praeputialsekrets keine Trichomonaden nachweisen, obwohl, wie er feststellte, die Tiere weiterinfizierten. Auch FEILING (33) untersuchte einen Bullen, der gesund schien, aber weiter ansteckte. KÜST (59) wie auch MÖLLER (65) betonen, dass nach ihren Erfahrungen die Bullen bei mikroskopischer Untersuchung des Praeputialsekrets keine Erreger nachweisen liessen, dabei aber regelmässig infiziert hatten. Ebenso bemerken BELLER, SCHAAF und SCHERLE (16), dass die Diagnose beim Bullen nur unsicher und unregelmässig gelänge. Die Möglichkeit, dass die Trichomonaden zeitweise verschwinden und also zur Zeit der Untersuchungen gar nicht nachweisbar waren, wurde bei allen diesen Fällen durch die gleichzeitige Ansteckung widerlegt. Es handelte sich also ausschliesslich um Diagnosemängel, durch welche die spärlichen Trichomonaden nicht aufgefunden wurden. Deshalb bediente man sich bislang des männlichen Tieres zum Nachweis der Infektion nicht, und soweit ein Befund über die Zuchttauglichkeit eines solchen nötig war, suchte man diesen, wie auch BELLER, SCHAAF und SCHERLE (16) vorgeschlagen hatten, durch den sogenannten Probesprung zu erheben. Indem man den fraglichen Bullen ein jungfräuliches weibliches Tier decken liess, suchte man aus dem Ergebnis einen Schluss auf den Gesundheitszustand des Bullen zu ziehen. Dieses Verfahren ist äusserst unsicher und fragwürdig. Die Erfahrung der Praxis hat gelehrt, dass viele Bullen erst durch den Probesprung angesteckt wurden. Andererseits sind Trichomonaden nicht so hoch infektiös, dass das weibliche Tier von einem einzigen Sprung obligat hätte angesteckt werden müssen, und die normale Befruchtung der zur Probe verwendeten Kalbin schloss die Infektion des Bullen keineswegs aus, und schliesslich wurde durch den Probesprung der Diagnoseversuch auf das weibliche Tier übertragen und damit all den Zufalls-

faktoren preisgegeben, denen er bei diesen unterliegt.

Somit erscheint der Bulle zur Diagnose der Trichomonadeninfektion äusserst ungeeignet. Dagegen steht allerdings die Tatsache, dass der infizierte Bulle allein die Trichomonaden nicht nur immer in demselben zugänglichen Organteil, sondern auch hier mit nur mässig schwankender Befallsdichte und absoluter Regelmässigkeit beherbergt. Weder von einer kurzen Immunität, noch von einer Selbstheilung ist beim Bullen Stichhaltiges beobachtet worden. Dass der Bulle in Wirklichkeit zur Diagnosestellung wohl geeignet ist, beweisen die Versuche von ABELEIN (5), der bei 150 nachweisbar infizierten (d.h. ansteckenden) Bullen 146mal (= 97 v.H.) Trichomonaden nachweisen konnte. Er bewies dabei, dass die Trichomonaden nach Heften der Infektion auch nicht nur zeitweise aus dem Vorhautsack verschwinden. Die Fehlresultate der Diagnoseversuche beim Bullen resultieren also nicht aus der Abnahmetechnik, sondern aus der Schwierigkeit, die oft nur sehr wenigen Flagellaten in dem Probenmaterial aufzufinden.

Somit ist aber zunächst der Trichomonadennachweis beim Bullen eine Frage der individuellen Übung des Diagnostikers und der in der Praxis oft nicht aufwendbaren Untersuchungszeit. Schliesslich war auch ABELEIN (5) bei behandelten Bullen äusserst vorsichtig und stützte sich hier zusätzlich auf den Probesprung. Trotzdem traten bisweilen bei solchen Tieren Rückfälle ein, so dass die Sicherheit des Ausschlusses nicht erreicht schien.

2.) Verbesserung des Nachweises.

Um die genannten Schwierigkeiten zu überwinden, suchte man sich zweier in der Bakteriologie geübter Verfahren zu bedienen: Entweder die wenigen Erreger einer spezifischen Färbung zu unterziehen, durch die sie vom Umgebungsmaterial oder auch bei Entartung der Form leicht erkennbar wären, oder durch Vorbringen in ein ihnen entsprechendes Milieu, d.h. durch Kultivierung sie so zu vermehren, dass sie leicht zu finden wären.

a) Färbemethoden.

Infolge der schweren Färbbarkeit der Flagellaten selbst wurde vielfach das Umgebungsmaterial gefärbt, aus dem sich dann die ungefärbten Trichomonaden heraus abhoben. Solche Verfahren haben DRESCHER und HOPFENGÄRTNER (31) (Zusatz 2% Eosinlösung nach BRUG) und BENDER und HETTCHE (18) (0,85% Kochsalzlösung gesättigte Brillantkräusylblaulösung) beschrieben.

Die Trichomonaden selbst sind u.a. nach folgenden Methoden anfärbbar: Gramfärbung nach SCHMID und KAMNIKER (84), Färbemethode nach DRESCHER und HOPFENGÄPNER (31) (Fixierung mit 2% Osmiumsäure, Färbung mit Fuchsin nach Lufttrocknung).

Färbemethode nach HEES (zit. nach HASSELMANN 41) (Fixierung mit Sublimat, Färbung mit Methylblau).

Färbemethode nach DAUST (24) (Färbung mit Karbolfuchsin).

Hier findet allerdings HEYMACH (47), dass das Karbolfuchsin ohne Fixierung des Fibrin zu stark anfärbt, wodurch häufig Täuschungen möglich seien.

Färbemethode nach CAMERON (zit. nach STEINHAUS 90) (Fixierung mit Schaudinnlösung, Färbung mit Giemsalösung).

ÖHLER (68) empfiehlt die Giemsa- und die Heidenheim'sche Färbung, KÜST (59) die komplizierteren Methoden nach NÖLER, GALLI-VALERIO, die Budapest-Färbemethode und die Feuchtfixierung in Osmiumdämpfen. SZENDI (93) fand die sehr komplizierte Pappenheim'sche May-Grünwald-Giemsa-Färbung brauchbar.

Häufig benutzt wurde auch die Methode nach May-Grünwald-Romanowski. Desgleichen findet HEYMACH (47) bei allen Mängeln der färberischen Methoden die nach Giemsa-Romanowski noch am brauchbarsten. Versuche einer Vitalfärbung der Trichomonaden hat MEYER (zit. nach STREIT 92) mit Neutralrot unternommen. STREIT hat diese Methode und mehrere andere Vitalfarbstoffe überprüft und fand kein brauchbares Verfahren. Auch ich fand bei eigenen Versuchen die Vitalfärbung mit Neutralrot unbrauchbar.

Die Nachteile der Färbemethoden liegen neben dem zum Teil für die Praxis nicht vertretbaren Aufwand nach dem Urteil RIEDMÜLLERS (79) in der ungleichen Farbaufnahme der Flagellaten in ein und demselben Präparat und in ihrer häufig eintretenden Formveränderung durch die Fixierung. Auch fällt die Färbung nach dem Medium ganz verschieden aus. KÜST (59) räumt keiner der Färbemethoden einen Vorteil gegenüber dem Nativpräparat ein. STREIT (92), der eine grosse Reihe von Färbemethoden erprobte, hält das Nativpräparat für am leistungsfähigsten, Trocken- wie Vitalfärbungen aber sämtlich für unzuverlässig. Immerhin ermöglicht nach seinen Angaben ein von ihm entwickeltes Verfahren (Lobendfixierung mit 1%iger Milchsäure und Färbung mit 1%igem Malachitgrün oder Methylblau) auch die Erkennung von unbeweglichen Rundformen der Trichomonas vaginalis. ZETI (108) hält gleichfalls das Nativpräparat für das zur Untersuchung geeignetste und die Färbung nur bei bewegungslosen Trichomonaden angebracht.

- 36 -

Keine der Färbungsmethoden hat sich bis heute in die Diagnostik eingeführt und selbst an Instituten, bei denen Aufwand und Technik weniger ins Gewicht fielen, werden sie wenig geübt.

Schliesslich ziehen EIDENAUER (98) und RIEDMÜLLER (79) das Dunkelfeld für den mikroskopischen Nachweis der Trichomonaden im Nativpräparat dem Hellfeld vor, während es STREIT (92) überflüssig findet. Die Mehrzahl der Autoren untersuchen das Nativpräparat im Hellfeld.

Möglicherweise können färberische Methoden den Nachweis von Trichomonaden in mikroskopischen Präparaten erleichtern. Bei spärlichem Befall ist es jedoch nicht sicher, dass in jedem Präparat Flagellaten vorhanden sind, womit dann auch die färberische Methode keine diagnostische Sicherheit verbürgt.

b) Kulturmethode.

Der andere Weg zur Verbesserung des Nachweises der *Trichomonas genitalis bovis* ist der über Züchtung auf Nährböden. Die Versuche der Kultivierung der Trichomonaden dienten ursprünglich nicht dem Zwecke der Diagnostik, sondern dem der Erforschung ihrer Biologie. Eine solche Kultivierung gelang erstmalig durch Zufall 1913 ESCOMEL mit *Trichomonas intestinalis* auf Salatbouillon (zit. nach POHL 74). CHATTON züchtete 1918 *Trichomastix* auf Nährböden und DOFLEIN und REICHENOW gelang 1927 die Kultivierung von Darmflagellaten (zit. nach WITTE 104). Die Züchtung von Geschlechts-trichomonaden des Menschen glückte nur selten und nie in Reinkultur. Für die achlochten Ergebnisse machte REICHENOW (77) störende Begleitkeime verantwortlich.

aa) Flüssige Nährböden.

Die ersten Angaben über die Kultivierung von *Trichomonas genitalis bovis* stammen meines Wissens von RIEDMÜLLER (79). Er nennt 1929 aber seine Ergebnisse unbefriedigend. Er erprobte verschiedene Nährböden und konnte die Parasiten auf der Nährflüssigkeit nach ANDREWS 4 Tage am Leben erhalten. Eine Vermehrung und Weiterzüchtung gelang nie. 1932 versuchte ABELEIN (2) unter den Verhältnissen seiner Landpraxis die Reinzüchtung. Er verwendete Rinder-Amnions- und Allantoisflüssigkeit oder Fruchtwasser mit 5% Rinderserum. Es gelang ihm so, die Trichomonaden zu erhalten und bis zu 7 Generationen weiter zu züchten. Dabei nahm ihre Wachstumsfreude dauernd ab. Gleichfalls 1932 unternahm McNUTT, WALSH und MURRAY (zit. nach DITGENS 27) erfolgreiche Kulturversuche. 1933 gelang es WITTE (104), erstmalig die Trichomonaden von der bakteriellen Begleitflora zu trennen und rein zu züchten.

Er konnte im Gegensatz zu ABELEIN auf Anionsflüssigkeit kein Wachstum erzielen. Dabei untersuchte er 19 verschiedene Nährböden auf ihre Brauchbarkeit zur Kultivierung der Geschlechtstrichomonaden des Rindes. Wachstum ermöglichte darunter einzig der Hohn'sche Eiernährboden ohne Glycerin mit einigen Tropfen Blut im Kondenswasser. WITTE selbst benützte zur Reinzüchtung Peptonbouillon (1% Pepton-WITTE 0,3% Kochsalz, 0,2% sekundäres Natriumphosphat pH = 7,6 und 1% Blutzusatz). Damit gelang es ihm, seine Stämme über 50 - 63 Passagen weiterzuzüchten. Der am längsten isolierte Stamm wurde 205 Tage auf künstlichem Nährsubstrat gehalten, wobei WITTE betont, dass bei strengster Asepsis eine beliebig lange Weiterzüchtung möglich sei. Die Methode WITTEs setzte sich so durch, dass sie 1935 von WITTFOGEL (107) bereits als Standardmethode angegeben wird. Auch WITTFOGEL selbst züchtete Trichomonaden in Blut- und Serumbouillon und im Locke-Hühnerer-Serumnährboden nach BOECK und DRBCHLAV mit gutem Erfolg. Ebenso benützte RIEDMÜLLER (82) 1936 zu seinen grundlegenden Versuchen Serumbouillon. Im gleichen Jahr berichtete BLASCHKE (21), dass es ihm gelungen sei, durch Zusatz von Locklösung zum Untersuchungsmaterial die Trichomonaden für längere Zeit am Leben zu erhalten. Gleichfalls 1936 empfiehlt DIERNHOFER (25) das von ihm entwickelte Verfahren der Züchtung auf paraffinierter Pyometrabouillon. Er entnimmt dazu "nicht übelriechenden" Pyometraeiter, den er mit 2 - 3% Chloroform versetzt und nach 14tägigem Abstoßen mit der 4fachen Menge Peptonbouillon vermischt. Dann wird das Gemisch in sterile Kulturröhrchen gefüllt und das Chloroform im Vakuum zum Abdampfen gebracht. DIERNHOFER glaubte mit diesem Nährboden das Milieu den natürlichen Verhältnissen etwas nähergebracht zu haben. Bei genauer Betrachtung ist seine Methode lediglich eine Modifizierung der WITTE'schen, wobei nach dessen Versuchsergebnissen der Pyometraeiter überflüssig erscheinen muss. Ob die Chloroformvermischung die Nährböden in jedem Fall, wie beabsichtigt, sicher zu entkeimen vermochte, erscheint fraglich, zumal das Ausgangsmaterial, d.h. der Pyometraeiter, für welchen keine biologisch getesteten Reinheitsbedingungen gestellt wurden, innerhalb weiter Grenzen schwanken musste. Die Paraffinüberschichtung war ursprünglich von CHATTON 1918 für die Kultur von *Eutrichostix colubrorum* eingeführt worden. Wie von DIERNHOFER wurde sie in der Folgezeit zu Kulturversuchen von allen Forschern angewandt, die Trichomonaden als streng anaerob betrachteten. Meines Wissens wird der DIERNHOFER'sche Nährboden heute nicht mehr gebraucht. 1939 empfahl ZEETI (109) sterilisierte Kuhmilch mit einem Zusatz von 5 - 10% defibrierten Blutes als Kulturmedium für *Trichomonas genitalis bovis*, wobei er betonte, dass der Casein-Lactoalbumin-Lactoglobulin-Komplex für das Gedeihen

- 38 -

der Trichomonaden besonders günstig sei. Über diesen Nährboden liegen keine Erfahrungen vor.

Für die Antigengewinnung zur Alexinfixation soll der flüssige Nährboden nach WEYBRIDGE, modifiziert von DEFAYS (zit. nach DITGENS 27) besonders geeignet sein. Er stellt jedoch einen auf diesen Zweck eingestellten Spezialnährboden dar. Zur Anzucht von Trichomonaden empfiehlt DITGENS (27) das Nährmedium nach SCHOOP (1000 ocm physiologische Kochsalzlösung, 0,2 ocm einer Lösung primären und sekundären Kaliumphosphats, 10 - 12 Tropfen Rinderserum, 1 Messerspitze Reisstärke).

bb) Übersichtungsnährböden.

Mehrfach fanden auch für die Kultivierung von Trichomonas genitalis bevis Übersichtungsnährböden, die aus einem festen und einem darüberschichteten flüssigen Teil bestehen, Verwendung. Hierher gehört zunächst der in der Humanmedizin für Trichomonas vaginalis oft benützte Tanabe-Chiba-Nährboden, mit welchem GOSSMANN (36) 1939 Versuche anstellte, aber keine Erfolge sah. Der von WITTE (104) brauchbar befundene Hohn'sche Eiernährboden bietet nach diesen Angaben keine Vorteile. Sehr gut fanden WAGNER und HEES (95) den Übersichtungsnährboden von BOECK und DRBCHLAV, modifiziert nach DOBELL und LAIDLAW (s.unten). McNEIL gelang die Kultivierung von Trichomonaden auf Lockes Eiblutmedium nach KOFID (zit. nach RIEDMÜLLER 82). Zum Halten von (herausgezüchteten) Trichomonadenstämmen erwähnt DITGENS (27) das Nährmedium nach SCHNEIDER, das aus einem Eierschichtnährboden und einer Übersichtungsflüssigkeit besteht.

Herr Dr.habil.SCHELLNER von der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleiheim berichtete 1950 nach einer Studienreise nach Amerika von einem dort gebräuchlichen, sehr komplizierten Trichomonaden-Nährboden. Dieser besteht aus einem festen Eierschichtnährboden, ähnlich dem Hohn'schen Eiernährboden. Der flüssige Teil, der dem festen Übersichteteil überlagert wird, ist eine Natriumzitratlösung mit 5 - 7,5% Serumzusatz, die mit einer Bromkresolpurpurlösung und Hämatain versetzt ist. Die Bromkresolpurpurlösung soll durch Farbumschlag die Veränderung des pH-Wertes und das damit eingetretene optimale Wachstum der Flagellaten anzeigen. Angeblich soll der Nährboden bei Zimmertemperatur Vermehrung ermöglichen.

Nach meinen mit Laborkulturen angestellten Versuchen halten sich die Trichomonaden auf dem Nährboden, vermehren sich aber bei Zimmertemperatur nicht. Der Farbumschlag ist für das Trichomonadenwachstum nicht beweisend, da er durch bakterielle Verunreinigung ebenso eintritt. Der Nährboden ist sehr kompliziert und bietet a.E. keine Vorteile.

cc) Feste Nährböden.

Auf festen Nährböden wurden Trichomonaden erstmals von RIEDMÜLLER (zit. nach DITGENS 27) gezüchtet. Er verwendete Serumagarstichkulturen (1% Agar, 10% Serum, pH = 7,4), die er für die Fortzucht besonders geeignet fand und in Röhrchen mit paraffinetränkten Stöpseln vor Austrocknung schützte. Bekannter sind die Versuche von SEDLMEIER (86), der 1942 auf Fortnerplatte mit einer Nährbouillon-Agar-Glukosemischung (1 Teil glukosierte, 1%ige Peptonbouillon, 1,5% Agar, mit der gleichen Menge Pferdeserum) züchtete. Diesen Nährboden hat ZAVAGLI zur Antigenherstellung für die Komplementbindungsreaktion benutzt. FLORENT (zit. nach DITGENS 27) hält den SEDLMEIER'schen Nährboden für die Heranzüchtung von Trichomonadenstämmen aus bakterienhaltigem Material für besonders geeignet. FLORENT modifizierte ihn für die Weiterzucht von Trichomonaden (gewöhnliche Bouillon 0,75% Agar, 1,5% Glukose, in Röhrchen sterilisiert und vor Benutzung je 0,5 ccm Pferdeserumzugabe) und verbindet ihn (durch Gummiröhrchen) mit einer Prodigiosakultur, welche die Sauerstoffspannung in der Trichomonadenkultur herabsetzt. Faast man die Literatur über die Kultivierungsversuche von *Trichomonas genitalis bovis* zusammen, so wurden flüssige wie auch Übersichtungs- und auch feste Nährböden grundsätzlich mit Erfolg verwendet. Allen Methoden gemeinsam ist der Serumzusatz von etwa 10%. Der andere Anteil des Nährbodens ist nach den jeweiligen Methoden sehr verschieden (Amnion- und Allantoisflüssigkeit, Bouillon, Pyometraeiter-Bouillon, Eierschlagagar, Traubenzuckeragar, sterile Milch), sodass dieses Komplex keine spezifisch nutritiven Eigenschaften zuzukommen scheinen. Er mag die Kultivierung jeweils mehr oder weniger fördern, dürfte aber kaum ausschlaggebend sein. Nach den Angaben von DITGENS (27) sollen die flüssigen Nährböden zur Anzucht, die festen dagegen mehr zur Weiterzucht von Trichomonaden geeignet sein.

3.) Die kulturelle Diagnostik.a) Reinzüchtungsmethoden.

Aus den Ergebnissen aller Züchtungsversuche von Trichomonaden geht hervor, dass das Mischlingen ihrer Isolierung von der bakteriellen Begleitflora das größte Hindernis für die Kultivierung darstellt. Trotzdem ist die Reinzüchtung der Flagellaten bereits nach verschiedenen Methoden gelungen:

- 40 -

WITTE (104) ging von keimfreiem Pyometrainhalt aus. Er musste sich also nicht mit einer Trennung der Trichomonaden von der Begleitflora beschäftigen. Ebenso gelang es ERNST, aus keimfreiem Samen Trichomonaden rein zu kultivieren.

MANN (52) liess Trichomonaden aus unreinem Material in Glaskapillaren aufwandern. Häufig enthielt dann die oberste Spitze der Kapillare die Trichomonaden frei von Begleitkeimen und konnte zur Reinzucht verwendet werden.

SEDLMEIER (86) liess die Trichomonaden auf seinen Nährböden anwachsen, wo sie dann verästelnde Gänge bildeten. An der Spitze dieser Gänge konnte er sie rein entnehmen. Diese beiden Verfahren eignen sich zur Isolierung der Trichomonaden für diagnostische Kulturen nicht. Das MANN'sche Verfahren setzt starken Befall im Ausgangsmaterial voraus und versagt gerade in den Fällen, in denen sich die Kulturen bewähren sollen. Es ist ausserdem sehr kompliziert. Die Methode von SEDLMEIER setzt die gelungene Anzucht voraus, der aber in der diagnostischen Kultur die Isolierung vorangehen müsste. Praktisch bedeutsam sind also nur die Isolierungsversuche durch Substanzen, die auf Bakterien selektiv schädigend wirken und auf denen die folgenden Methoden beruhen.

b) Die kulturelle Diagnostik.

In grösserem Umfange wurde das Kulturverfahren erstmals 1935 von WAGNER und HEES (95) diagnostisch verwendet, nachdem schon mehrfach solche Versuche mit der Geschlechts-trichomonade des Menschen vorangegangen waren. Die beiden Autoren gingen zunächst von der WITTE'schen Methode aus, die sie aber wenig befriedigte. Die Fehlerquelle sahen sie in der Bakterienverunreinigung und im Fehlen eines festen Substrates im Nährboden. Daraufhin wählten sie den von BOECK und DRBOHLAV eingeführten, von DOBELL, LAIDLAW, BRUMPT und DESCHIENS modifizierten Überwachungs-nährboden zur Kultivierung von Ruhrerregern. Der feste Teil bestand aus schräg erstarrtem Pferdeserum, der flüssige aus einer Emulsion von gepuffertem physiologischer Kochsalzlösung, mit 10% Eiereiweiss und einer 0,5% Reistärke. (Somit fällt der Nährboden keineswegs aus dem üblichen Rahmen. Er besitzt wieder die Serumkomponente im flüssigen Teil und noch einen 2. Nährkomplex.) WAGNER und HEES setzten erstmalig zur Messung der Begleitkeime den Nährböden chemische Stoffe zu und zwar Trypaflavin in einer Konzentration von 1:10 000. Der flüssige Anteil wurde täglich bis auf den Bodensatz abgehoben und erneuert. Mit dieser Methode wiesen sie von Januar 1934 bis Mai 1935 bei 200 Proben (Föten, Eihäute, Sekundine

und Pyometrasekret) in 27 Fällen (= 18,5%) Trichomonaden nach. Keine der Untersuchungsproben war von einem Bullen. Da Vergleichsangaben über erhobene mikroskopische Befunde des Materials fehlen, ergibt sich zunächst kein Schluss auf die Leistungsfähigkeit der Methode. 1937 berichteten WAGNER und HEES (96) über Trichomonadenbefunde im Blut von 25 Bullen und 50 Kühen, wobei sich bei nur 9 der 25 blutpositiven Bullen auch im Vorhautsack Trichomonaden nachweisen ließen. Diese zum Teil auch von KÜST und WAGNER in Zusammenarbeit erhobenen Befunde wiesen Trichomonaden im Blut von noch nicht zuchtfähigen und symptomatisch nicht kranken Rindern nach und schienen das unrisse Bild der Trichomonadenseuche zu erschüttern. KÜST (59) glaubte daraus auf eine orale Infektion und überhaupt auf eine Ubiquität der Geschlechtstrichomade schließen zu können. 1938 berichtet HASSELMANN (41) über sehr günstige Erfahrungen mit der Kulturmethode von WAGNER und HEES. In keinem mit dem Mikroskop nachgewiesenen Infektionsfall hatte die Kultur versagt, in 149 mikroskopisch negativen Fällen waren im Kulturverfahren Trichomonaden gefunden worden. 1941 überprüfte ABELEIN (5) die Angaben von WAGNER und HEES. Unter strengen Versuchsbedingungen wurde bei 128 Tieren (92 Bullen, 36 Kühe), bei denen im Geschlechtsakt Trichomonaden nachgewiesen worden waren, oder die nachweisbar angesteckt hatten, Blut entnommen. In keinem Fall konnten aus dem Blut Trichomonaden gezüchtet werden. Auch die intravenöse Infektion mäßig regelmäßig. Gleichzeitig wies ABELEIN darauf hin, dass die von WAGNER und HEES kulturell festgestellten Trichomonaden 4 Kopfgeißeln besaßen und es sich somit um Verwechslungen mit anderen, den Geschlechts-trichomonaden ähnlichen Flagellaten gehandelt haben musste.

Ebenfalls Kulturversuche zur Diagnose der Trichomonadeninfektion hatte 1935 EMMERSON (32) unternommen. Er verwendete Locke-Eier-Blutlösung und Locke-Eier-Blut-Serumlösung. So untersuchte er 411 Tiere. Davon war bei 32 mit dem Mikroskop und der Kultur die Infektion nachzuweisen. Bei 17 Tieren fand er die Trichomonaden nur in der Kultur, im Mikroskop aber nicht, bei 13 Tieren im Mikroskop, während die Kultur versagte. 1936 versuchte PINGGERA (73) die kulturelle Diagnose durch Verbesserung der Haltung der Begleitkeime für die Praxis brauchbar zu machen. Er arbeitete mit dem DIERNHOFER'schen Nährboden und fand einen Zusatz von 1: 300 000 Trypafavin, 1: 10 000 Natriumazid und 1: 500 Natriumfluorid am wirksamsten, ohne dass die Trichomonaden geschädigt worden wären. Obwohl es ihm nach seinen Angaben immer gelang, auf diese Weise die Trichomonaden von Verunreinigungen zu trennen, liegen keine Erfahrungen über diagnostische Erfolge vor. GOSSMANN (36) versuchte 1939 die kulturelle Diagnose mit dem Tanabo-Chiba-

Nährboden. Es gelang ihm die Züchtung in mehreren Fällen, in denen mit dem Mikroskop bereits im Nativpräparat Trichomonaden nachgewiesen worden waren. Aber auch mikroskopisch positive Befunde fielen in der Kultur negativ aus und nie war ein Befund in der Kultur positiv, der bei mikroskopischer Prüfung negativ gewesen war. Bei der Mehrzahl aller dieser Versuche wurden als Ausgangsmaterial Ausscheidungen weiblicher Tiere benutzt.

1941 berichtete ASELEIN (5) über seine Erfahrungen in der Trichomonaden-diagnose beim Bullen. Er fasst sie dahin zusammen, dass bei der fraglichen Zuverlässigkeit aller Kulturverfahren ihm die mikroskopische Musterung des Nativpräparates am sichersten erscheine. Einen wesentlichen Fortschritt für die kulturelle Diagnostik der Trichomonadeninfektion stellen 1949 die Erfahrungen von HESS (45) dar, der als Nährboden Serumabouillon verwendete, zur Keimhemmung aber Penicillin, je nach Verunreinigung 600 - 1000 i.E. (G-Natriumsalz) pro cem Nährboden zusetzte. Er verwendete diese Methode zur Diagnostik beim Bullen. Das Ausgangsmaterial wurde nach dem Verfahren von BENESCH (19) gewonnen und behandelt und die Kulturen aus dem Zentrifugat beimpft. Bei heissem Wetter und accidenteller Verunreinigung wurde die Spülprobe für den Weg ins Labor nach einem von SCHNEIDER (85) angegebenen Verfahren durch Zusatz von 50 000 i.E. Penicillin auf je 100 cem Flüssigkeit geschützt. Besonderen Wert legt HESS auf Englumigkeit der Kultur-röhrchen zwecks Verkleinerung der Luftkontaktfläche und ebenso auf die Paraffinüberdachung. Trotzdem müssen nach seinen Angaben bisweilen Kulturen wegen mikrobieller Überwucherung ausgeschieden werden. 1951 verbesserte HESS (46) dann seine Methode dadurch, dass er dem Penicillinzusatz noch einen solchen von Streptomycin hinzufügte. Auch hier tritt aber angeblich bei vorgeschütztem Ausgangsmaterial bisweilen noch Versagen der Kulturen auf. Dieses Verfahren ist bis jetzt das gebräuchlichste. In jüngster Zeit haben BELLER und SCHREIBER (17) über ihre damit gesammelten Erfahrungen berichtet. Von 2370 untersuchten Tieren waren mikroskopisch positiv 674 Proben, in Kulturversuch positiv 369 Proben, 153 Proben aber zur Kultur ungeeignet.

Zusammenfassung:

Nach den Kenntnissen über Infektionsweg und -verlauf der Trichomonaden-seuche erscheint das männliche Tier allein dauernd zur Diagnostikstellung geeignet. Um diagnostisch an die Sicherheit des Ausschlusses heranzukommen, muss der im Praeputialsekret häufig äusserst geringe und leicht zu übersehende Trichomonadenbefall angereichert werden. Die Anreicherungs-möglichkeit

- 43 -

durch Überprüfung von Sekreten auf Kulturen konnte bisher hinsichtlich Zuverlässigkeit und Einfachheit den Anforderungen der tierärztlichen Praxis nicht genügen. Es war daher die Leistungsfähigkeit des HESS'schen Verfahrens für die Trichomonaden diagnose in der Praxis zu überprüfen und möglicherweise ein Weg zu suchen, das Kulturverfahren für die Seuchenbekämpfung verwertbar zu machen.

- 44 -

D. Eigene Versuche.

Die Mindestforderung für ein diagnostisch in der Trichomonadenbekämpfung verwertbares Kulturverfahren ist die gleiche Zuverlässigkeit der Befunde wie bei sofortiger mikroskopischer Prüfung eines Nativpräparates (blutige genaueste Methode), wobei besonderer Wert auf Haltbarkeit der Kulturen innerhalb der zum Transport aufzuwendenden Zeitintervalle zu legen wäre.

Darüber hinaus muss als wünschenswertes Ziel für die Kulturmethode eine möglichst grosse Vermehrungsfähigkeit der Trichomonaden ins Auge gefasst werden, wodurch die Diagnostizierung der Kulturen erleichtert und fehlerhafte Ergebnisse weitestgehend vermieden würden.

An der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung war vor Beginn meiner Versuche bereits mit dem HESS'schen Kulturverfahren gearbeitet worden. Es waren damit Laborstämme gezüchtet und über Monate weitergezüchtet worden (Dr. Bethke). Als Ausgangsmaterial hatten ausschliesslich die Sekrete weiblicher Tiere gedient, die mikroskopisch bereits als positiv ermittelt waren. In einem Fall war das bei der mikroskopischen Untersuchung negative Material eines weiblichen Tieres in der Kultur positiv. Positives Material ging in den ersten Kulturen schwach an, jedoch wies die Kulturen nach Passage starkes Wachstum auf. Als Erfahrung (Dr. Bethke) lag vor, dass zur Anzucht am günstigsten ein Penicillinzusatz, wie von HESS (43) beschrieben, verwendet wird, für die Passagen sich ein solcher von Streptomycin besser bewährt habe. Zur Untersuchung eingesandte Spülproben von der Infektion verdächtigen Bullen hatten nie ein positives Kulturergebnis geliefert.

Für meine Versuche verwendete ich als Nährboden die von WITTE beschriebene, an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung geringgradig modifizierte Serumbouillon (fortan "Schleissheimer Nährboden" genannt). Sie bestand aus: Bouillon mit Zusatz von 1% Pepton (Trodenpepton Merck), 0,3% Kochsalz, 0,2% Natriumphosphat, 10% inaktiv. Rinderserum, eingestellt auf pH = 7,5 (nach Michaelis). Als Untersuchungsmaterial standen mir die der Infektion verdächtigen Tiere, welche laufend der Abt. für Unfruchtbarkeitsbekämpfung des Rindergesundheitsdienstes in Bayern (der "Rindergesundheitsdienst in Bayern" ist ein Verein, der sich aus Vertretern der Tierärzteschaft und der Landwirtschaft zusammensetzt und sich die Bekämpfung von Zuchtschäden zur Aufgabe gestellt hat, fortan abgekürzt RGD) zur Diagnose überstellt wurden, zur Verfügung.

- 45 -

Versuchsreihe 1: Versuche mit Penicillin zur Keimnennung in Trichomonadenkulturen.

Um einen Überblick über die Genauigkeit des an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung vorliegenden Verfahrens für die Diagnose am Bullen zu bekommen, wurden 12 Bullen, bei welchen eine Infektion durch Untersuchung des Zentrifugats einer Spülprobe festgestellt worden war, gleichzeitig durch Kulturverfahren untersucht. Technik der Abnahme und mikroskopische Untersuchung:

Nachdem die Praeputialöffnung des Bullen mit Wasser und Seife gründlich gereinigt und die Penishaare gestutzt worden waren, wurde der Bulle hinter einer Kuh gereizt und 2 - 3mal zum Aufsprung und zum Ausschachten gebracht, am Decken aber durch Erfassen und Beiseiteziehen des Penis gehindert. Dann wurden mit einer Ballonspritze ca. 80 - 100 ccm phys. Kochsalzlösung in den Vorhautsack infundiert und unter Zuhalten der Praeputialöffnung ca. 2 Min. der Vorhautsack abmassiert. Die mit der Ballonspritze zurückgesaugte Flüssigkeit wurde 10 Min. von Hand zentrifugiert und 1 Tropfen des so erhaltenen Depots unter dem Deckglas mit dem Mikroskop (Mikroak. Leitz, Okular 4, Objektiv 6) durchgemastert. (Die mikroskopischen Untersuchungen nahmen die Sterilitätstierärzte des RGD vor.) Nachdem bei den 12 Bullen so die Infektion ermittelt worden war, wurde mit steriler Pipette jeweils 1 - 2 Tropfen des gleichen Zentrifugendepots auf je einen Schleimscheimer Nährboden verimpft. Die Nährböden waren, in dünne Kulturrohre abgefüllt und mit sterilen Gummistopfen verschlossen, mitgeführt worden. Unmittelbar vor der Beimpfung wurde ihnen unter sterilen Kautelen 800 i.E. Penicillin G-Natriumsalz zugesetzt. (Die mittlere von HESS angegebene Dosis.) Die sofortige Beimpfung an Ort und Stelle sollte eine Veränderung der Spülprobe bis zur Ankunft im Labor ausschließen. Die so beimpften Kulturen trafen nach höchstens 4stündigem Kraftwagentransport im Labor ein. Auf dem Transport war darauf geachtet worden, dass die Kulturrohre senkrecht standen und nicht gekippt wurden. Im Labor wurden die Nährböden sofort mit flüssigem Paraffin überschichtet und in den Brutschrank (37 Grad C) verbracht. Um die bakterielle Begleitflora zu beobachten, wurde von jeder Kultur nach 24stündiger Bebrütung 1 Tropfen des Bodensatzes mit steriler Pipette entnommen und auf Blut-Agar- und Drigalakiplatte ausgestrichen. Die bakterielle Flora wurde hinsichtlich Kokken, Coli, Bact. proteus und Bact. fluorescens liquef., sonst aber nicht näher differenziert. Alle nicht einteilbaren Keime wurden als "Verunreiniger" bezeichnet.

- 46 -

Zeichenerklärung: Bei dem mikroskopischen Trichomonadenuntersuchungs-
ergebnis bedeutet + die grundsätzlich festgestellte
Infektion ohne Bezug auf die Zahl der Flagellaten im
Gesichtsfeld. - = kein Trichomonadenwachstum in
den Kulturen.

Bei dem bakt. Untersuchungsergebnis bedeutet
+ = einzelne Kolonien über 1/4 der Platte verstreut,
++ = 1/2 der Platte mit Kolonien besachsen,
+++ = 3/4 " " " " "
++++ = ganze Platte von Kolonien besachsen
x = Trübung der Nährflüssigkeit.

Ergebnis: Tabelle 1

Nr.	Name d. Bullen (bzw. d. Besitz- zers) und Standort	Mikro. Unters- ergeb.	Kulturergebnis					Bakt. Unters.- ergebnis
			2.	3.	4.	5.	6. 7. Tag	
1	M. in L.	+	-	-	-	-	-	Kokken +, Coli ++, Proteus +++, Verunr. +++
2	R. in S.	+	-	-	-	-	-	Kokken-, Coli +++, Verunr. +++, fluor. liqu. +
3	B. in S.	+	-	-	-	-	-	Kokken -, Coli +++, Proteus +++, Verunr. +++
4	L. in O.	+	-	-	-	-	-	Kokken +, Coli ++, Proteus ++, fluor. liqu. ++
5	R. in M.	+	-	-	-	-	-	Kokken +, Coli +++, Verunr. ++
6	St. in M.	+	-	-	-	-	-	Kokken -, Coli ++, Verunr. +++, Proteus +

- 47 -

Tabelle 1 (Forts.)

Nr.	Name d.Bullen (bzw.d.Besitzers) und Standort	Mikro. Unters.- ergebni.	Kulturergebnis						Bakt.Unters.- ergebnis
			2. Tg.	3. Tg.	4. Tg.	5. Tg.	6. Tg.	7. Tg.	
7	G. in W.	+	-	-	-	-	-	-	Kokken ++, Coli ++, Verunr. ++
8	H. in W.	+	-	-	-	-	-	-	Kokken +, Coli +++, Verunr. ++, Proteus +++++
9	M. in J.	+	-	-	-	-	-	-	Kokken -, Coli ++, Verunr. ++
10	H. in K.	+	-	-	-	-	-	-	Kokken -, Coli +++, Proteus ++, Verunr. +++, fluor.liqu. ++
11	M. in K.	+	-	-	-	-	-	-	Kokken +, Coli ++, Verunr. ++, Proteus ++, fluor.liqu. ++
12	M. in K.	+	-	-	-	-	-	-	Kokken +, Coli +++, Verunr. ++, fluor.liqu. +

Besprechung des Ergebnisses:

In keiner der aus 12 verschiedenen, nachweislich infizierten Spülproben beimpften Kulturen konnten bei 7tägiger Kontrolle Trichomonaden gefunden werden. Nach der bakteriologischen Kontrolluntersuchung gelang durch den Penicillinzusatz die Hemmung der Kokken in 5 Fällen völlig, in 6 Fällen war mäßiges Kokkenwachstum vorhanden, in 1 Fall hatte die Hemmung der Kokken versagt. Bact.coli war in allen Kulturen vorhanden, in 6 war ihr Wachstum sehr stark, in 6 etwas geringer, jedoch in keiner mäßig. In 5 Kulturen war Bact.fluorescens liqu. aufgetreten. Nicht näher differenzierte Verunreinigungskeime waren in allen Kulturen vorzufinden. 8 Kulturen waren schon nach 48stündiger Bebrütung getrübt, bei 4 begann die Trübung erst am 3.Tag. Mit der Trübung fort-

- 48 -

schreitend bekamen die Kulturen einen üblen stinkenden Geruch (Bact.coli).

Zusammenfassung:

Bei der angegebenen Versuchsanordnung versagte die Kultur (Schleimheimer Nährboden + 800 i.E. Penicillin) bei 12 trichomonaden-infizierten Fällen 12mal. Der Penicillinzusatz vermochte die Praeputialflora nur teilweise zu hemmen. Nach Hinweisen der Literatur musste als Grund des Versagens der Kulturversuche die ungenügende Keimhemmung des Penicillin gegenüber der Praeputialflora des Bullen vermutet werden. Erst nach Verbesserung der Keimhemmung und Ausschluss dieser Fehlerquelle konnte auf etwaige andere Fehler geschlossen werden.

Versuchsreihe 2: Untersuchung der Bakterienflora des Praeputialsackes.

Um einer Verbesserung der Keimhemmung in Trichomonadenkulturen aus Spülproben von Bullen näherzukommen, war die Art der Praeputialflora näher zu untersuchen. Dazu wurden von 23 verschiedenen Bullen - wie bei Versuch 1 - Vorhautspülproben abgenommen, im Labor zentrifugiert (10 Min. bei 2000 Umdrehungen) und der Bodensatz mit der Platinoöse jeweils auf Agar und Blutplatte, um einen Überblick über das Säure- bzw. Alkalibildungsvermögen aus Milchzucker zu erhalten, ebenso auf Drigalski- und Phenolrotplatte ausgestrichen.

Nach 24stündiger Bebrütung wurden zunächst die verschiedenen Keime in Reinkulturen zu trennen versucht. Soweit dies nicht durch Ablepfung reiner Kolonien auf weitere Platten möglich war, wurden die Keime 3mal in Traubenzuckerbouillon gewaschen und erneut ausgestrichen. Die Trennung gelang dann immer, bis auf die von Bact.proteus vulgaris überwucherten Kulturen. Hier war es oft mit den mir verfügbaren Mitteln nicht möglich, die Keime vom B.proteus zu trennen.

Gemäss Tabelle 4 zeigen daher die Bullen Nr.3 L.W., Nr.6 M.E., Nr.11 H.I., Nr.13 T.I. und Nr. 19 L.L. eine bedeutend geringere Varietät der Praeputialflora als die übrigen. Dies ist dadurch begründet, dass bei der Proteusüberwucherung nur ein Teil der Keime isoliert werden konnte. Zur Differenzierung wurden weiter von den verschiedenen Kolonien mikroskop. Präparate angelegt, nach Gram gefärbt und unter dem Mikroskop geprüft. Die Gramfärbung sollte eine Einteilung der vorgefundenen Keime ermöglichen, die vielleicht einen Schluss auf das Verhalten zum Penicillin oder Streptomycin zuliesse. Weitere Differenzierungsmethoden wurden zunächst nicht angewendet.

- 49 -

In folgenden wurden die in der Bakteriologie bekannten Keime von den sog. "Verunreinigungskoiken" abgetrennt.

Tabelle 2

1.) Bekannte Kokken. An bekannten Kokken traten auf:

Staph. albus	11x = bei 46% der unters. Tiere
Staph. aureus	2x = " 8,5% " " "
Staph. flavus	4x = " 17% " " "
Staph. citreus	3x = " 13% " " "
Strept. fascium	4x = " 17% " " "

Von jeder Art wurde 1 Stamm (z.B. von den 11 Stämmen des Staphyl. albus 1 Stamm) auf Schrägblutagar überimpft, um zu späteren Versuchen zur Verfügung zu stehen.

2.) Bekannte Stäbchen. An bekannten Bakterien (Stäbchenform) traten auf:

B. subtilis	5x = bei 21,5% der unters. Tiere
B. proteus vulgaris	5x = " 21,5% " " "
B. pyocyan. fluor. liqu.	6x = " 26%
(fluor. liqu.)	5x = 22%
B. pyocyan.	1x = 4,5% " " "
B. coli/alkaligenes	27x = " 117% " " "
davon typischer Coli (Drigalski)	8x = " 32% " " "
typischer Alcaligenes (Drigalski neg., Phenolrot pos.)	6x = " 26% " " "
labil	13x = " 56% " " "

Sämtliche 5 Proteusstämme zeigten auf Phenolrotplatte einen Farbumschlag ins Rote (Alkalibildner) und wiesen sonst morphologisch und kulturell keine Unterschiede auf. Sie wurden als biologisch gleich betrachtet und von einem Stamm eine Schrägagarkultur angelegt.

Die 5 Subtiliasämme zeigten ebenfalls morphologisch und kulturell keine Unterschiede. Sie wurden als gleich angesehen und wie oben auf Schrägagar konserviert.

Die 6 Pyocyan/Fluorescens liquof.-Stämme erzeugten gem. Tabelle 3 auf der Phenolrotplatte alle Farbumschlag (Alkalibildner), jedoch in verschiedener Stärke. Desgleichen war die Farbatoffbildung auf Agar, der Geruch und das Wachstum verschieden stark. Sämtliche 6 Stämme wurden daher auf Schrägagar angelegt.

- 50 -

Die 27 Stämme der Coligruppe zeigten gem. Tabelle 3 auf Drigalaki- und Phenolrotplatte sehr verschiedenen Farbumschlag und ungleiches Wachstum (gleichmässiger waren die kult. Eigenschaften der 13 coli-alkaligeneslabilen Stämme). In Anbetracht der grossen Varietät der Coligruppe wurden alle 27 Stämme auf Schrägagarkulturen gelegt. Von sog. "Verunreinigungskeimen", die in der Bakteriologie nicht näher benannt sind, wurden insgesamt bei den 23 Bullen 215 Kulturen untersucht (davon 158 Stäbchen, 57 Kokken), bei deren Vergleich nach den oben beschriebenen Gesichtspunkten die Isolierung von 37 verschiedenen Stämmen (davon grampos. Kokken 8, gramneg. Kokken 3, grampositive Stäbchen 6, gramnegative Stäbchen 20) gelang. Ein Stamm der grampositiven Stäbchen (Stamm 3) und einer der gramnegativen Stäbchen (Stamm 8) liess sich in Passagen nicht weiterzüchten, 2 Stämme der gramnegativen Stäbchen (Stamm 6 und Stamm 20) gediehen nur auf Serumagar. Alle anderen wurden rein isoliert und auf Schrägblutagar (Kokken) bzw. Schrägagar (Stäbchen) überimpft. (Die 2 bezeichneten Stämme auf Schrägserumagar.) Die anaerobe Praeputialflora und die möglicherweise nur in flüssigem Milieu gedeihenden Keime, zu deren Isolierung ich keine Möglichkeit hatte, wurden zunächst vernachlässigt.

Tabelle 3

Einteilung der Verunreinigungskeime einschliesslich
Coli- und Pyocyaneus-Gruppe.

Zeichenerklärung: Unter Drigalaki bzw. Phenolrot ist das Verhalten der Keime auf diesen Nährböden angegeben.
- bedeutet Wachstum, aber kein Farbumschlag.
Wenn auf diesen Nährböden überhaupt kein Wachstum erfolgte, ist dies eigens angegeben.

- 51 -

Reihe Kokken, grampositiv.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur Blutplatte	Drigalski	Phenolrot
1	große, grampos. Kokken, einzeln, meist zu zweit liegend	feinste hellweiße glasige Pünktchen über die Platte verstreut, nicht haemolisierend	kein Wachstum	kein Wachstum
2	große, grampos. Kokken, verstreut meist zu zweit liegend, schwach anfärbend	zäh schleimige, wie ölige weißlich transparente, große Tropfen, nicht haemolisierend	-	-
3	große, grampos. ovoide Kokken, traubenförmig in dichten Haufen u. Beeten liegend	Kolonien grau transparent, schleimig in Tropfen und im Strich angehend nicht haemolisierend	-	-
4	sehr kleine grampos. traubenförmig liegende Kokken	in steckradelkopf-großen Tropfen angehend weißlich transparente Kol. beizender aromatischer Geruch, nicht haemolisierend	lila gefärbte Kol. bei Passagen Verlust der Farbe	-
5	große grampos. Diplokokken, einzeln, nie zu zweit liegend	weißlich graue Tropfen von 1 mm Durchm. bildend, nicht haemolisierend	lila gefärbt, bei Passagen Verlust der Farbe	-
6	grampos. traubenförmig liegende große, auffallend plastische kugulrunde Kokken	große auffallend grün-grau gefärbte zerfließende Tropfen, nicht haemolisierend	-	-

- 52 -

Tabelle 3 (Forts.) Reihe Kokken, grampositiv.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur Blutplatte	Drigalaki	Phenolrot
7	kleine grampos. traubenförmig liegende Kokken, größtmäßig zwischen Stamm 3 u. 4 liegend	weiße etwas transparente Tropfen von 1 μ m Durchm.	-	-
8	große kugelförmige nach grampos. färbende, dicht in Haufen liegende Kokken	stark auffallend trockene hellgrau-weiße wie Mehl liegende Kol., an den Rändern wie gefiedert, nicht haemolysierend	kein Wachstum	-

Reihe Kokken, gramnegativ.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur Blutplatte	Drigalaki	Phenolrot
1	große gramneg. ovoide traubenförmig liegende Kokken	blaugrau-weiße, traubenförmig verästelt liegende feinste Punkte, nicht haemolysierend	-	-
2	große, kugelförmige, gramneg. in engen Haufen liegende Kokken	allerfeinste, wie Staub über die Platte gleichmäßig verteilte, transparente Pünktchen, nicht haemolysierend	kein Wachstum	-
3	kleine gramneg. (teilweise gramlabile) ovoide Kokken, in Haufen liegend	Kol. wie Stamm 4 der grampos. Reihe, möglicherweise Variante desselben, nicht haemolysierend	-	-

- 53 -

Tabelle 3 (Forts.)
 Reihe Stäbchen, grampositiv.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur (Agar)	Origalaki	Phenolrot
1	plumpe, dicke, stark grampos., anfärbende kurze Stäbchen, eng und oft verklumpt zusammenliegend	weiß, transparent, im Strich angehend, beim Abstreichen fest wie eingebrannt auf Nährboden haftend	-	-
2	kurze, plumpe, grampos. bis gram-labile Stäbchen, Coliform	gelblich, schmutzige im Strich angehende, glänzend schleimige Kol.	-	-
3	sehr lange, dicke, oft gewellte, zum Teil am Ende kopfförmig verdickte, auch mit 2 Verdickungen versehene Stäbchen, stark grampos.	feine mäßig im Strich angehende glasig-weiße Kol., nicht weiterzüchtbar	kein Wachstum	-
4	lange dünne, in leichten Knickungen hintereinander liegende, achwach grampos. Stäbchen	glasige, sehr transparente, in feinsten Pünktchen auslaufende Tropfen von höckeriger, unglatter gezackter (scholliger) Oberfläche	-	kein Wachstum
5	lange dünne, in leichter Knickung hintereinander liegende, grampos. Stäbchen. Morphol. idontisch mit Stamm 4	graue, wenig transparente, tropfenförmige Kol., die nach außen helleren Ring zeigen	-	-
6	große, lange, grampos. Stäbchen	graugelbliche, auffallend trockene, hohe, tropfenförmige Kol. mit niederen ringförmigen Wall umgeben, Kol. abhebbar (Subtilis-variante?)	kein Wachstum	kein Wachstum

- 54 -

Tabelle 3 (Forts.)
Reihe Stäbchen, gramnegativ.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur (Agar)	Drigalaki	Phenolrot
1	lange, feine, oft zu zweit hintereinander liegende gramneg. Stäbchen	große, schleimige, grauweiß-transparente Tropfen, schwer abstreifbar, peppig-schleimig, hinterläßt auf der Platte eigenartige wie eisblumenförmige Konturen	-	-
2	kurze, plumpe, dicke, gramneg., größtenteils zebroid angefarbte Stäbchen	Streichholzkopfgröße, weiße Kol. von auffallend fauligem Geruch	-	-
3	kleine, plumpe, oft hintereinander verklebte, z.T. bipolar angefarbte gramneg. Stäbchen	Streichholzkopfgröße, weiße Kol., auffallend faulig. Geruch, möglicherweise Variante von Stamm 2	-	-
4	kurze, sehr dicke plumpe, meist nur in der Umrandung angefarbte gramneg., wie ineinander verfilzt liegende Stäbchen	weißlich transparent im Strich angehende Kol. von fadem Geruch	-	-
5	äußerst kurze, kokkoide gramneg. Stäbchen, gleichmäßig zerstreut im Gesichtsfeld	sichtlich orangerot-weißliche transparente große zerfließende tropfenförmige Kol.	-	-
6	sehr lange dünne, zebroid gefärbte gramneg. Stäbchen	völlig durchsichtige wie Wassertropfen aussehende Kol., nur auf Serumagar (mäßig) Wachstum	kein Wachstum	kein Wachstum

- 55 -

Tabelle 3 (Forts.) Reihe Stäbchen, gramnegativ

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur (Ager)	Origalski	Phenolrot
7	plump, dicke, stark gramneg. anfärbende durcheinanderliegende Stäbchen	feineta miliar ange- säte glasige Pünkt- chen	-	-
8	sehr lange, in Bündeln liegende gramneg. Stäbchen	nur im 1. Anstrich feine glasige tröpf- chenförmige Kol. bil- dend. Nicht weiter- züchtbar.	kein Wachstum	kein Wachstum
9	kurze, dicke, gramneg. Stäbchen	grauweiße, durchsich- tige stecknadelkopf- große Kol.	-	-
10	dicke, mittellange, sehr schwache gramneg. Stäbchen	eigenartige trockene kuppenförmige, von fla- chem Wall umgebene, gelbliche Kol. bildend, die im ganzen von der Platte abhebbar sind (Subt.-Variante?)	-	ganz leicht rotend
11	kurze, feine, gramneg. Stäbchen	große, gelbliche, undurch- sichtige (deckfarbige) ineelförmige Kol. Fader Geruch	-	-
12	feine, mittellange, gramneg. diffus im Gesichtsfeld verteilte Stäbchen	stecknadel- bis zünd- holzkopfgröße graue undurchsichtige Kol.	-	-
13	sehr kurze, kokkoide plump, gramneg. Stäbchen	Kol. im Strich sehr dick angehend, grau deckfarben	dunkelrote deckfarb. Kol. erzeugten kei- nen Farbumschl. auf d. Platte	-

- 56 -

Tabelle 3 (Forts.) Reihe Stäbchen, gramnegativ.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur (Agar)	Drigalski	Phenolrot
14	wie Stamm 4, jedoch	aureomycin- u. streptomycinresistent	-	-
15	lange, dünne, einzeln liegende gramneg. Stäbchen	fein graumelierte, zündholzkopfgröße, transparente Tropfen, die in feinsten Tropfen auslaufen	-	-
16	sehr kurze, plumpe, ovoide, deutlich gramneg. Stäbchen einzeln u. in Haufen im Ges.feld (Grenzfall Kokken/Stäbchen)	dicke dunkelgrau-grünliche, tropfenförmige Kol. mit aufgehellt. Rändern von ca. 3 mm Durchm., bisweilen auch im Strich angehend, fader stinkender Geruch	grau-blau anfärbend	-
17	feinste Stäbchen, meist in Bündeln (wie agglutin) zusammenliegend, schwach gramneg. anfärbend	üppig in dickem graubraunem Strich angehende Kol.	Kol. grau-lila gefärbt	-
18	große, lange u. dicke gramneg., an den Enden starker (bipolar) anfärbende Stäbchen	große (Durchm. 3 µm) grautransparente, tropfenförm. Kol., nicht scharf konturiert, sondern allmählich in Umgebung ausfließend	-	-
19	dicke, plumpe (colif.) Stäbchen	große (Durchm. 3 µm) tropfenförm. Kol., in der Mitte rotbraun, nach außen grünlich	-	-

- 57 -

Tabelle 3 (Forts.) Reihe Stäbchen, gramnegativ.

Stamm Nr.	Mikroskopisches Bild	Bild der Kultur (Agar)	Drigalaki	Phenolrot	
20	feine, lange, bisweilen gewellte, fadenförm., gramneg. Stäbchen	kleine stecknadelkopfgroße, gelbbraune, klebrige, fadenziehende Kol., nur auf Serumagar züchtbar	kein Wachstum	-	
<u>Reihe Bacterium coli/alkaligenes.</u>					
Stamm Nr.	Mikrosk. Bild	Bild der Kultur (Agar)	Drigalaki	Phenolrot	Typ.-Bestimmung
1	plumpe, kurze gramneg. Stäbchen	grau-weiße, auch in Strich angehende Kol.	roter Umschlag	-	B. coli
2	"	in klein. grau-weiß. Tropfen angehend	rosa Umschlag, arom. Geruch	-	Coli-Variante
3	"	dicke, hohe, in schleim. Strich angeh. Kol.	erst nach Tagem Umschlag in leichtes ins Grünliche geh. Rosa	stark rotend	B. alkaligenes
4	dicke, plumpe gramneg. Stäbchen	dicke, grau-weiße, in Strich angeh. Kol.	grau-blaue Kol., Farbumschl. teils rötlich, teils lila	schwach rotend (wenn v. Drig. lila Kol. abgezüchtet)	B. coli - alkaligenes labil
5	"	"	-	stark rotend	B. alkaligenes
6	"	"	-	"	"

- 58 -

Tabelle 3 (Forts.) Reihe Bacterium coli/alkaligenes

Stamm Nr.	Mikrook. Bild	Bild der Kultur (Agar)	Drigalski	Phenolrot	Typ.- Bestimmung
7	dicke, plumpe graueg. Stäbchen	kleine zündholz- kopfgr. tropfenförm. Kol.	Farbumschl. rosa	-	B.coli
8	"	dicke, grauweiße, im Strich ang. Kol.	Farbumschl. rot	-	B.coli
9	"	"	Farbumschl. tiefrot	-	B.coli
10	"	"	Farbumschl. rot	-	B.coli
11	"	"	-	schwach rötend	B.alkaligenes
12	"	in groß. Beeten auf ganze Platte ausfließend	Teile d. großfläch. Kol. bewirken rosa Farbumschlag	schwach rötend	B.coli - alkaligenes labil
13	"	kleine unregelmäßige Inseln bildende Kol.	kein Farbumschlag	sehr stark rötend	B.alkaligenes
14	"	"	roter Farbumschlag	-	B.coli
15	"	große (4 mm Durchm.) tropfenf. grauweiße Kol.	-	schwach rötend	B.alkaligenes
16	"	"	schwacher Farbumschlag	-	B.coli

- 59 -

Tabelle 3 (Forta.) Reihe *Bacterium coli/alkaligenes*

Stamm Nr.	Mikrosk. Bild	Bild der Kultur (Agar)	Origalaki	Pheno. rot	Typ.- Bestimmung
17	dicke, plumpe, gramneg. Stäbchen	dicke, grauweiße, im Strich ang. auch in Beeten ausfließende Kol.	graublau Kol, Farb- umschl. teils rose teils lila	teilweise schwach rotend	<i>B. coli</i> - alkaligenes labil
18	"	"	"	"	"
19	"	"	"	"	"
20	"	"	"	"	"
21	"	"	"	"	"
22	"	"	"	"	"
23	"	"	"	"	"
24	"	"	"	"	"
25	"	"	"	"	"
26	"	"	"	"	"
27	"	"	"	"	"

Reihe *Bacterium pyocyanum* (einschliesslich *Bacterium fluorescens liquefaciens*).

Stamm Nr.	Bild der Kultur (Agar)	Geruch	nicht ausschüttelbar	fluorescens liqu.
1	Üppig im Strich ang., lindgrün, metallisch glänzende Einachtläge	stark äßlich, veilchenähnlich	nicht ausschüttelbar	fluor. liqu.
2	im Strich ang., in Beete ausfließend, schwache, sehr ins Gelbliche gehende Grünfärbung	schwacher Geruch	"	"

- 60 -

Tabelle 3 (Forts.) Reihe Bact.pyocyanum (einschl. Bact. fluorescens liquefaciens)

Stamm Nr.	Bild der Kultur (Agar)	Geruch	nicht ausschüttelbar	fluorescens liqu.
3	im Strich gut, aber nicht üppig ang., dunkel-flaschengrün, an Oberfläche metallisch irisierende Auflage	starker aromatischer süßer (Veilchen-) Geruch	ausgeschüttelbar	B.pyocyanum
4	in Beete ausfließende, flaschengrüne Kol., die aber erst nach 3 Tg. Farbstoff bilden. Metallfarbene Auflage	süßlicher Veilchengeruch	nicht ausschüttelbar	B.fluor. liqu.
5	- " - Farbe tief lindgrün	sehr starker süßl. Geruch	"	"
6	schwach in zerfließenden Tropfen angeh. Kol., die nach 2 Tg. erst grau-grün färben	schwacher Veilchengeruch	"	"

- 61 -

Tabelle 4

Vorkommen der isolierten Bakterienstämme in der Praeputialflora von 23 untersuchten Bullen

Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Bekannte Keime		Verunreinigungskeime (Die Zahlen geben die Nr. der isolierten Stämme an.)			
		Kokken	Stäbchen	Kokken		Stäbchen	
				gram-		gram-	
				pos.	neg.	pos.	neg.
1	L.1 in S.	Coli 1	1,2,3,8	1		1,2,4,6,10,16, 18	
2	L.2 in S.	Staph.alb. Strept.faec.	Coli 2,4	1,4,6,8		1,2	1,2,4,8,11,16, 17
3	L. in W.	B.fl.liqu.1 Prot.vulg. B.alk.17	2,6			2,7,9,19	
4	F. in N.	Staph.aur. B.aubt. Coli 7	B.fl.liqu.2	1,4,8		2,3	4,5,8,11,16,17, 19
5	S. in A.	Coli 18	4,6	1	1,4	2,3,6,12,15,18	
6	M. in E.	Staph.alb. Strept.faec.	Prot.vulg. Coli 9,19	1		6	4,9,14
7	P. in E.	Strept.faec.	Coli 10,20	1,7			1,4,7,10,11,13,16,18
8	R. in G.	Staph.alb. Staph.citr.	B.aubt. Alkalig.3	1,2		2	3,4,6,11,17,18, 20
9	M. in St.	Staph.aur. Staph.alb.	Alkalig.11	4,8	3	2,5	2,4,9,16,17,19
10	L. in M.	Staph.albus	Coli 13,21	5,7,8			2,3,4,11,13,16

- 62 -

Tabelle 4 (Forts.)

Nr. Name d. Gallen u. Standort	Bekannte Keime		Verunreinigungskeime (Die Zahlen geben die Nr.d.iaol.Stämme an.)					
	Kokken	Stäbchen	Kokken			Stäbchen		
			pos.	gram- neg.		pos.	gram- neg.	
11 H. in I.	Strept.faec.	Coli 12 Alkalig.14 pyocyane.3		1			9,10	
12 L. in H.	Staph.flavus " albus " citr.	B.subt. Coli 22 fluor. liqu.4	1,4	2	4,6		4,5,7,11, 16,18	
13 M. in L.		Proteus Alkalig.15	6,8		1		12,16	
14 T. in I.		Coli 35 23		1	1,3		1,4,8,15, 16,19	
15 J. in O.	Staph.albus " flavus " citr.	B.subt. Coli 5	2,4 6,8		4		2,4,7,11, 16,18	
16 P. in W.	Strept.faec.	B.fl.liqu.5 Alkalig.24 Proteus	4		2,4		4,6,9,12, 17,18	
17 P. in W.	Staph.albus	B.subt. Alkalig.6	1,3,4		5,6		3,5,7,12 16,20	
18 H. in K.	Staph.albus " flav.	Coli 25	2,6,8		1		1,3,4,11, 17,18	
19 L. in L.		Alkalig.26 Proteus vulg.	8	1	1,2		14,16,19	
20 P. in L.	Staph.albus	B.alkal. Coli 9	1,2,4		4		1,2,4,9, 11,16,18	
21 T. in J.	Staph.alb. " flav.	Flu.liqu.6 Coli 27 Proteus		3	2		2,4,9,10, 15,16,18	

- 63 -

Tabelle 4 (Forts.)

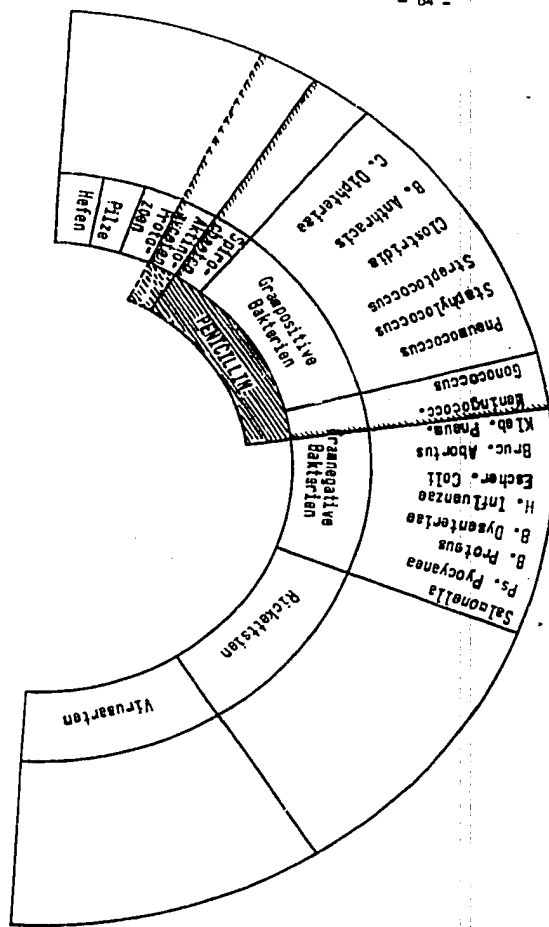
Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Bekannte Keime		Verunreinigungskeime (Die Zahlen geben die Nr. d. i. St. an.)			
		Kokken	Stäbchen	Kokken		Stäbchen	
				pos.	gram-neg.	pos.	gram-neg.
22	M. in B.		proteus Coli 16	8		2,6	6,9,10, 16,17
23	A. in O.		Coli 8	1,4,7,8		6	1,2,4,6,11, 16,18

Auswertung des Ergebnisses:

Von den aus 23 verschiedenen, sehr sauber gewonnenen und grobsinnlich nicht verunreinigten Spülproben gezüchteten Begleitkeimen konnte ich 20 verschiedene grampositive Stämme (5 Arten benannter Kokken, 8 Arten unbenannter Kokken, 1 Art benannter Stäbchen, 6 Arten unbenannter Stäbchen) und 26 verschiedene gramnegative Stämme (3 Arten unbenannter Kokken, 3 Arten benannter Stäbchen, 20 Arten unbenannter Stäbchen) isolieren, wenn man die Keime aus der Coli- und Pyocyanus/fluorescens-Gruppe als jeweils einen Stamm zählt. Nimmt man die aus diesen Gruppen gezüchteten Stämme als verschieden an, so verschiebt sich das Übergewicht in der Praeputialflora noch mehr auf die Seite der gramnegativen Keime (20 grampositiv, 57 gramnegativ). Jedenfalls nimmt die Gruppe der gramnegativen Stäbchen in der Begleitflora von Praeputialspülproben die Vorherrschaft ein.

Schliesst man aus dem Ergebnis auf das Hemmungsvermögen von Penicillin gegenüber den in den Vorhautspülproben vorkommenden Keimen, so ergibt sich folgendes Bild:

Bekannt ist das Hemmungsvermögen von Penicillin z.Zt. nur gegen bekannte, in der Hauptsache pathogene Keime. Im Spektrum dargestellt ist die Hemmungsbreite dieser Antibiotika folgende:



Wirkungsspektrum des Penicillins

Tabelle 5
(nach PARK, DANIS)

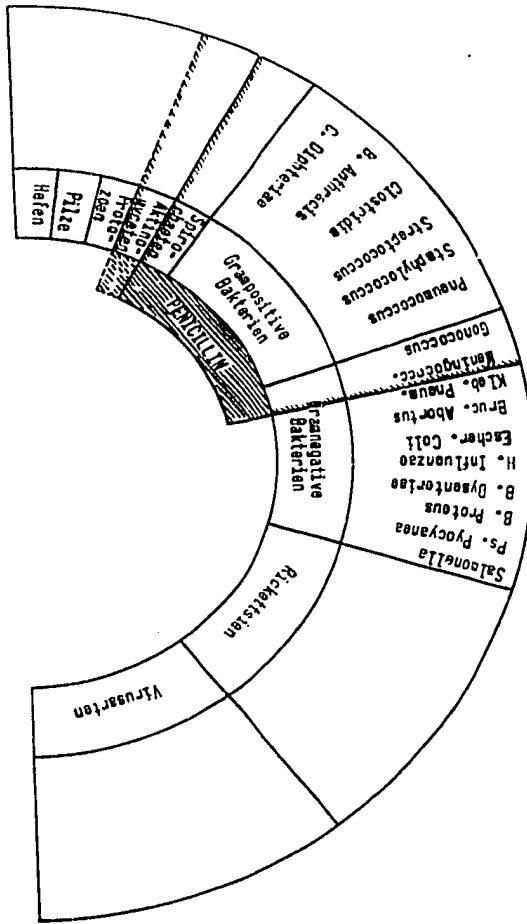
- 65 -

Das in Tabelle 5 aufgezeichnete Hemmungsspektrum des Penicillin stellt allerdings nur einen Anhalt dar - wie überhaupt die Erforschung der Antibiotika noch im Fluss ist -, doch fanden auch HEILMAIER und WALTER (43) bei angestellten Versuchen das Penicillin u.a. unwirksam gegen Brucellakkeime, B.coli, Enterokokken, Proteus vulgaris und Pyocyanus. Hochwirksam war es gegen Staphylokokken und Streptokokken (gegen Strept.faecium nur wirksam), gegen einige offensichtlich penicillinresistente Staphylokokken aber völlig unwirksam. Nach VOGEL (94) sind gegen Penicillin völlig unempfindlich u.a. Staph.albus, Strept.faecalis, Strept.liquofaciens, Micrococcus flavus, Saprophyten, gramnegative Kokken, B.subtilis, B.pyocyanum, B.fluorescens, B.coli und B.aerogenes.

Wenn auch nicht zu sagen ist, an welcher Stelle die von mir isolierten Verunreinigungskeime in das Spektrum einzugliedern sind und ob sie summarisch zu der von VOGEL als penicillinresistent angeführten Gruppe der Saprophyten gehören, so zählen sie doch überwiegend zu der Gruppe der gramnegativen Stäbchen, auf die das Penicillin nach den bisherigen Kenntnissen gar nicht oder kaum einwirkt. 9 von den 20 gezüchteten gramnegativen Bakterienstämmen der Verunreinigungsflora (Stamm 2,3, 4, 5, 7, 9, 13, 16, 19) standen ausserdem, zumindest morphologisch, dem Bact.coli sehr nahe. Eine Hemmungswirkung durch das Penicillin war nach den Angaben VOGELS (94) gar nicht zu erwarten gegen folgende isolierten Keime: Staph.albus, Micrococcus flavus, Strept.faecium, B.subtilis, B.pyocyan., B.fluorescens, B.coli. Ebenso nicht gegen die 3 gezüchteten gramnegativen Kokkenstämme (Verunreiniger). Was das B.proteus vulgaris anbelangt, erfolgt gegen dieses nach FLEMING und ABRAHAM (zit. nach VOGEL) vollständige Hemmung durch Penicillin erst bei einer Konzentration von 1:4000 (dagegen z.B. gegen Staphylococcus aureus schon bei 1:1 000 000).

Berücksichtigt man ferner, dass durch Bact.coli das Ferment Penicillinase gebildet wird, welches das Penicillin zerstört, dabei aber in jeder der zu Versuch 2 gewonnenen 23 Spülproben B.coli oder diesen sehr nahestehende Keime isoliert wurden, ja es überhaupt fraglich erscheinen muss, ob unter Stallverhältnissen colifreie Spülproben gewonnen werden können, so spricht dies noch mehr gegen die Brauchbarkeit des Penicillin als Hemmungszusatz für Trichomonadenkulturen aus Spülproben von Bullen. Es muss nämlich angenommen werden, dass das Penicillin, selbst wenn es in grösserem Umfang gegen die Begleitflora der Spülproben wirksam wäre, von dem doch meistens anwesenden Coli rasch zerstört wird. Diese Schlüsse stimmen mit dem Ausfall meines Versuches 1 überein.

Aus den Ergebnissen des Versuches 1 und den Schlüssen : Versuch 2 erscheint das Penicillin als Zusatz zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen aus Bullenspülproben nicht geeignet. Auf der Suche nach einer wirksamen



Wirkungsspektrum des Penicillins

Tabelle 5
(nach PARK, DAVIS)

- 65 -

Das in Tabelle 5 aufgezeichnete Hemmungsspektrum des Penicillin stellt allerdings nur einen Anhalt dar - wie überhaupt die Erforschung der Antibiotika noch im Fluss ist -, doch fanden auch HEILMAYER und WALTER (43) bei angestellten Versuchen das Penicillin u.a. unwirksam gegen Brucellakkeime, B.coli, Enterokokken, Proteus vulgaris und Pyocyanus. Hochwirksam war es gegen Staphylokokken und Streptokokken (gegen Strept.faecium nur wirksam), gegen einige offensichtlich penicillinresistente Staphylokokken aber völlig unwirksam. Nach VOGEL (94) sind gegen Penicillin völlig unempfindlich u.a. Staph.albus, Strept.faecalis, Strept.liquofaciens, Micrococcus flavus, Saprophyten, gramnegative Kokken, B.subtilis, B.pyocyanus, B.fluorescens, B.coli und B.aerogenes.

Wenn auch nicht zu sagen ist, an welcher Stelle die von mir isolierten Verunreinigungskeime in das Spektrum einzugliedern sind und ob sie summarisch zu der von VOGEL als penicillinresistent angeführten Gruppe der Saprophyten gehören, so zählen sie doch überwiegend zu der Gruppe der gramnegativen Stäbchen, auf die das Penicillin nach den bisherigen Kenntnissen gar nicht oder kaum einwirkt. 9 von den 20 gezüchteten gramnegativen Bakterienstämmen der Verunreinigungsflora (Stamm 2,3, 4, 5, 7, 9, 13, 16, 19) standen ausserdem, zumindest morphologisch, dem Bact.coli sehr nahe. Eine Hemmungswirkung durch das Penicillin war nach den Angaben VOGELS (94) gar nicht zu erwarten gegen folgende isolierten Keime: Staph.albus, Micrococcus flavus, Strept.faecium, B.subtilis, B.pyocyan., B.fluorescens, B.coli. Ebenso nicht gegen die 3 gezüchteten gramnegativen Kokkenstämme (Verunreiniger). Was das B.proteus vulgaris anbelangt, erfolgt gegen dieses nach FLEMING und ABRAHAM (zit. nach VOGEL) vollständige Hemmung durch Penicillin erst bei einer Konzentration von 1:4000 (dagegen z.B. gegen Staphylococcus aureus schon bei 1:1 000 000).

Berücksichtigt man ferner, dass durch Bact.coli das Ferment Penicillinase gebildet wird, welches das Penicillin zerstört, dabei aber in jeder der zu Versuch 2 gewonnenen 23 Spülproben B.coli oder diesen sehr nahestehende Keime isoliert wurden, ja es überhaupt fraglich erscheinen muss, ob unter Stallverhältnissen colifreie Spülproben gewonnen werden können, so spricht dies noch mehr gegen die Brauchbarkeit des Penicillin als Hemmungszusatz für Trichomonadenkulturen aus Spülproben vom Bullen. Es muss nämlich angenommen werden, dass das Penicillin, selbst wenn es in grösserem Umfang gegen die Begleitflora der Spülproben wirksam wäre, von dem doch meistens anwesenden Coli rasch zerstört wird. Diese Schlüsse stimmen mit dem Ausfall meines Versuches 1 überein.

Aus den Ergebnissen des Versuches 1 und den Schlüssen aus Versuch 2 erscheint das Penicillin als Zusatz zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen aus Bullenspülproben nicht geeignet. Auf der Suche nach einer wirksamen

Keimhemmung wählte ich zunächst das Aureomycin. Nach HEILMAYER und WALTER ist das Aureomycin hochwirksam gegen Strep.typhimurium, B.colli, Staphylokokken (einachl. der penicillinresistenten Stämme) und Streptokokken, unwirksam aber gegen B.proteus und B.pyocyaneus. Die fehlende Wirkung auf B.pyocyaneus glaubte ich in Kauf nehmen zu können, da echter Pyocyaneus anscheinend selten war (1x bei 23 Bullen) und dieser, wie das Bact. fluorescens liq., nur langsam, meist erst nach 3 - 4 Tagen in den Kulturen hervorkucherte.

Versuchsreihe 3: Versuche mit Aureomycin zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen.

Vor einer Erprobung der Keimhemmungswirkung des Aureomycin in Trichomonadenkulturen war die Verträglichkeit des Antibiotikums gegenüber Trichomonaden zu klären. Zu diesem Zwecke züchtete ich eine Trichomonadenkultur aus Pyometraeiter. Der Eiter wurde unter sterilen Kautelen von einer Kuh M. in J. entnommen und davon je 0,2 ccm mit steriler Pipette auf 3 mitgeföhrte Schließheller Nährböden, denen gleichzeitig je ccm Nährboden 500 i.E. Penicillin zugesetzt wurden, überimpft. Nach 4stündigem Transport wurden sie im Labor bei 37 Grad bebrütet. Nach 48 Stunden wurde mit steriler Pipette eine Probe des Bodensatzes entnommen, diese unter dem Deckglas mikroskopisch (auf Trichomonadendichte) untersucht und gleichzeitig mit der Platinaöse auf Blut-Agar-Drigalski- und Phenolrotplatte ausgestrichen. Am 3.Tag wurde der Bodensatz nochmals unter dem Deckglas auf Trichomonaden untersucht und die dichteste und bakterienfreieste Kultur auf 3 weitere Nährböden mit 300 Gamma Streptomycinzusatz überimpft. Dabei wurde je ein Tropfen Bodensatz mit steriler Pipette in den neuen Nährboden gebracht. Nach Beimpfung wurden die Nährböden immer mit flüssigem Paraffin überschichtet. Jede Passage wurde ebenso behandelt und am 3.Tag überimpft.

Tabelle 6

Reinzüchtung eines Trichomonadenstammes aus Pyometraeiter.

Zeichenerklärung:

- Trichomonaden: + = 1 Trichomonde je Gesichtsfeld Obj.6,Ok.4,
- ++ = ca. 5 - 10 Trichomonaden je " " " "
- +++ = dichtestes Wachstum (ca. 50-100 je Gesichtsfeld)
- Begleitkeime: + = höchstens 1/4 der Platte mit Kolonien besiedelt
- (+) = verzinz. Kolonien

++ = höchstens 1/2 der Platte mit Kolonien besiedelt
 +++ = 3/4 " " " " "
 x = Überimpfte Trichomonadenkultur

Kultur Nr.	Hemmungszusatz je 100 ml Nährboden	Trichomonadenwachstum		Begleitkeime
		2. Tag	3. Tag	
Anzucht 29.1.50	1 500 i.E. Penic. G. Na	+	++ x	Micrococc. alb. +, Coli +
	2 500 i.E. Penicillin	++	+	Micrococc. alb. +, Verunr. keim. +, Coli +
	3 500 i.E. Penicillin	+	+	Cocc. ++, Verunr. keim. +, Coli ++
1. Passage	1 300 Gam. Streptomycin	++	++	Coli +
	2 300 Gam. Streptomycin	++	+++ x	Coli (+)
	3 300 Gam. Streptomyc.	+	++	Micrococc. albus +, Coli +
2. Passage	1 300 Gam. Streptomycin	++	+++ x	-
	2 300 Gam. Streptomycin	+++	++	Coli (+)
	3 300 Gam. Streptomycin	++	+++	-
3. Passage	1 -	+++	+++ x	-
	2 -	+++	+++	-
	3 300 Gam. Streptomycin	++	+++	-
4. Passage	1 -	+++	+++	-
	2 -	++	+++	-
	3 -	+++	+++ x	-
	1 -	+++	+++	-
	2 -	+++	+++	-
	3 -	+++	+++	-

- 68 -

Besprechung des Ergebnisses:

Nachdem die Anzuchtkultur bei mittlerem Trichomonadenwachstum noch *Micrococc. albus*, *B. coli* und Verunreinigungskeime in geringem Ausmass enthalten hatte, gelang es, über 2 Passagen mit 300 Gamma Streptomycin je ccm Nährboden Reinkulturen zu erhalten, die ohne keimhemmende Zusätze weitergezüchtet werden konnten und sich auf eine maximale Trichomonadendichte einstellen. Die Trichomonaden erzeugten am Boden des Kulturrohrchens eine wolkige Trübung, die am 3. Tag 1/4 der Höhe des Nährbodens erreichte. Vom 4. Tag an nahm das Wachstum rasch ab. Der beste Beweis für die Reinheit der Kulturen war neben dem negativen Plattenbefund das Gelingen der Weiterzucht der Trichomonaden ohne antibiotische Zusätze bei gleichmäßigem und maximalem Wachstum. Die Passagen wurden bis zur 9. fortgesetzt, dann ging die Kultur verloren. Die 5. Passage diente als Ausgangsmaterial zum folgenden Versuch.

Die 5. Passage war aus zweimaliger Überimpfung einer Trichomonadenkultur ohne keimhemmende Zusätze gewonnen worden. Damit stand zu erwarten, dass die Flagellaten nicht mehr unter einem immerhin möglichen Einfluss des Streptomycin standen. Dies schien mir für den Versuch von Bedeutung.

Versuchsreihe 3a: Erprobung der Verträglichkeit des Aureomycin auf *Trichomonas genitalis bovis* in Kulturen.

Bei dem vorstehenden Versuch wurden Schleißheimer Nährböden mit steigenden Mengen Aureomycin versetzt. Ich verwendete dazu pulverförmiges Aureomycin (Lederle). Um auf die gewünschten, sehr geringen, nicht auswägbaren Mengen zu kommen, versetzte ich jeweils grössere Nährbodenteile mit auf der Mikrowaage abteilbaren Aureomycinnengen und verteilte sie dann mit steriler Pipette auf Kulturrohrchen zu je 3 ccm Nährboden. Zunächst legte ich so je 5 Nährböden mit der Konzentration von 50 Gamma, 100 Gamma, 200 Gamma, 300 Gamma, 400 Gamma, 500 Gamma Aureomycin pro ccm Nährboden an. Sofort darauf wurden die Nährböden mit je 1 Tropfen Trichomonadenreinkultur aus der 5. Passage beimpft. Am 2. und 3. Tag wurde von jeder Kultur mit steriler Pipette eine Bodensatzprobe entnommen und unter dem Mikroskop auf Wachstumsdichte geprüft. Dabei wurde neben den morphologischen Eigenschaften der Trichomonaden vor allem ihre Vermehrungsfähigkeit beobachtet. Wie erwähnt, beobachtete bereits WITTE (104), dass ältere Trichomonadenreinkulturen, in denen die Flagellaten noch reichlich Bewegung zeigten, nicht mehr weitergezüchtet werden konnten. Demzufolge kann von der Bewegungstüchtigkeit der Trichomonaden nicht bindend auf noch vorhandene Vermehrungsfähigkeit geschlossen werden. Diese aber ist Voraussetzung für das Gelingen jeden Kulturwachweises. Die Trichomo-

- 69 -

naden verhielten sich unter Aureomycineinfluss folgendermassen:

T a b e l l e 7

Zeichenerklärung: (+) = 1 Trichomonade im ganzen Präparat (1 Deckglas
18 x 18 mm)
+ = 1 - 3 Trichom. auf 3 Gesichtsfeldern (Obj.3, Ok.4)
++ = 10-15 " " 3 " (" " " ")
+++ = 10-15 " " 3 " (" 6 " ")

Kultur	50 Gam.	100 Gam.	200 Gam.	300 Gam.	400 Gam.	500 Gam.
1	++ 1)	++ 1)	++ 1)	+ 2)	+ 4)	(+) 5)
2	++ 1)	++ 1)	++ 1)	++ 2)	+ 3)	-
3	++ 1)	++ 1)	++ 1)	+ 4)	+ 4)	-
4	++ 1)	++ 1)	++ 1)	++ 3)	(+) 5)	-
5	++ 1)	++ 1)	++ 1)	++ 3)	+ 4)	-

Kontrolluntersuchungen am 4. und 5. Tag zeigten Abnahme der Wachstumsdichte.

Mikroskopischer Befund:

- 1) schlanke, äusserst bewegliche spindelförmige Trichomonaden, Konturen scharf, heller, glasklarer Zellkörper;
- 2) mehr zur Ovalen bis Rundung neigende, klare, durchsichtige Zellform, deutliche, lokomotorische Bewegung;
- 3) völlige Rundform, Zellplasma klar, aber grünlich schimmernd, ab und zu lokomotorische ruckartige Bewegung;
- 4) völlige Rundform, teilweise zur 3-4fachen Grösse aufgebläht, z.T. röhrenartige, kuppenartig hervorstrebende (rosa schimmernde) Vakuolen, die am Rand nur noch schmalen, sichelförmigen Plasmaum erkennen lassen. Als Trichomonaden nur noch an Hand der bis zu dieser Entertung vorhandenen

- 70 -

- Übergangsformen erkennbar. Bisweilen aktive Eigenbewegung des Plasmas oder kurze ruckartige lokomotorische Bewegung erkennbar;
- 5) morphologisch wie 4), jedoch keine Bewegung mehr.

Nach dem Ergebnis dieses Versuchs lag die toxische Schwelle des Aureomycin zwischen 200 und 300 Gamma.

Versuchsreihe 3b: Genaue Untersuchung der Verträglichkeitsgrenze des Aureomycin für Trichomonaden in Kulturen.

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

Tabelle 8.

	150 Gam.	200 Gam.	250 Gam.	300 Gam.
Kultur 1	↔ 1)	↔ 1)	↔ 2)	+ 4)
Kultur 2	↔ 1)	↔ 1)	↔ 1)	↔ 3)
Kultur 3	↔ 1)	↔ 2)	+ 3)	(+) 5)
Kultur 4	↔ 1)	↔ 1)	+ 2)	+ 4)
Kultur 5	↔ 1)	↔ 1)	↔ 2)	+ 3)

Besprechung der Ergebnisse (Versuch 3a und 3b):

1.) Morphologisch:

Nach den vorstehenden Versuchen war das Aureomycin für *Trichomonas genitalis bovis* in Kulturen bis zu einer Konzentration von 200 Gamma je ccm Nährboden verträglich. Die Flagellaten glichen dabei den beim Tier in Infektionsfällen auffindbaren schlanken Formen und waren ausserordentlich beweglich. In einer einzigen von 10 Kulturen (Versuch 3b, Kultur 3) traten bereits bei 200 Gamma Aureomycin/ccm Nährboden rundliche Formen mit trägerer Bewegung auf. Bereits von 250 Gamma Aureomycin/ccm Nährboden traten morphologische Entartungen auf, wobei überdimensionale Aufblähung und Auftreibungen besonders ins Auge fielen.

- 71 -

2.) Verwehrungsfunktionell:

Alle mit steigenden Aureomycindosen von 50 - 500 Gamma je ccm Nährboden versetzten Kulturen zeigten eine gehemmte Vermehrung. Bei Konzentrationen von 50 - 200 Gamma war die Vermehrung gegenüber der einer Reinkultur etwa auf 1/3 bis die Hälfte reduziert (aus der Kulturdichte geschlossen). Bei einer Konzentration von 250 Gamma Aureomycin aufwärts nahm die Vermehrungsintensität der Trichomonaden stark ab. Bereits bei Zusatz von 250 Gamma war in 2 von 5 Kulturen eine deutliche Vermehrung nicht mehr nachweisbar.

Zusammenfassung:

Das Aureomycin ist bis zu einer Konzentration von 200 Gamma/ccm Nährboden für Trichomonaden in Reinkulturen bei einmaliger Passage verträglich, ohne morphologische Veränderungen hervorzurufen, setzt jedoch bereits bei 50 Gamma die Vermehrungsintensität herab.

Versuchsreihe 3c: Verträglichkeit des Aureomycin in weiteren Passagen.

Um die Verträglichkeit des Aureomycin noch weiter zu erproben, überimpfte ich die in Versuch 3 b unter 200 Gamma Aureomycin gezüchteten Kulturen 1 und 2 weiter auf je weitere 4 Nährböden, denen Aureomycin in Mengen von 50 Gamma, 100 Gamma, 150 und 200 Gamma je ccm Nährboden (alle Dosen innerhalb der bisher erprobten verträglichen Breite) zugesetzt waren. Dabei wurde jeweils 1 Tropfen des Bodensatzes der erwähnten Kultur auf den neuen Nährboden am 3. Tag (Tag der Kontrolle) überimpft. Die beimpfte Passage wurde 3 Tage bei 37 Grad bebrütet und von 3. bis 7. Tag jeweils 1 Probe des Bodensatzes mit steriler Kapillare entnommen und auf Wachstumsdichte und Formveränderung überprüft.
Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

- 72 -

T a b e l l e 9

Verträglichkeit des Aureomycin auf Trichomonaden
in 2. Passage

Ausgangs- material	Aureomycin pro ccm Nährboden	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag	7.Tag
Kultur 1 (Vers. 3b)	50	+ 1)	+	+	++	+++
	100	+ 1)	(+) ¹⁾	(+) ¹⁾	+	++
	150	-	-	-	-	-
	200	-	-	-	-	-
Kultur 2 (Vers. 3b)	50	+ 1)	+	++	++	+++
	100	+ 1)	+ 1)	+ 1)	++	+++
	150	+ 2)	(+) ²⁾	-	-	-
	200	-	-	-	-	-

- 1) häufig grosse und kleine Trichomonaden mit grossen Vakuolen, die im Licht eine leicht rosa Färbung zeigen, Plasma in Form von Sichel oder Halbmond nur noch als Zellsaum vorhanden und grünlich schimmernd. Die aufgetriebenen Formen sind z.T. gross, träge, fast unbeweglich, z.T. aber von normaler Grösse und voller Beweglichkeit;
- 2) nur dicke, rundliche, häufig um ein Vielfaches vergrösserte Formen, mit rosa schimmernden Vakuolen und halbmondförmigen Plasmasaum, träge und nur noch bisweilen ruckartige Bewegung.

Besprechung des Ergebnisses:

Bei 2. Aureomycinpassage vertrugen die Trichomonaden eine Konzentration von 200 Gamma pro ccm Nährboden nicht mehr. 1 Stamm (Kultur 2) hielt sich bei 150 Gamma Aureomycin pro ccm Nährboden noch bis zum 4. Tag, ohne aber noch Vermehrung zu zeigen. Ein 2. Stamm (Kultur 1) ging bei dieser Konzentration bereits zugrunde. 50 und 100 Gamma Aureomycin pro ccm Nährboden wurden

- 73 -

von beiden Stämmen vortragen.

a) Morphologisch zeigte die Trichomonaden bei 2.Aureomycinpassage starke Veränderungen. Auffallend war die häufig zu beobachtende Vakuolenbildung, die den Hauptteil der Zelle bildete und das Plasma zu einem schmalen Saum verdrängte. Trotz dieser Formveränderung waren die Flagellaten zum Teil noch voll beweglich. Bei 50 Gamma Aureomycin wurden die Formveränderungen bis zum 3.Tag, bei 100 Gamma Aureomycin bis zum 5.Tag beobachtet. Von da ab waren Normalformen wieder vorherrschend.

b) Vermehrungsfunktionell: Die Vermehrungsfähigkeit war in 2.Aureomycinpassage bei einer Konzentration von 50 Gamma als völlig unterdrückt zu bezeichnen. Vom 6.Tag ab nahm die Vermehrungsfreude steigend zu. Bei 100 Gamma war bei einem Stamm (Kultur 1) die Vermehrung bis zum 6.Tag voll unterdrückt, bei dem anderen (Kultur 2) bis zum 5.Tag. Von da ab war auch bei dieser Konzentration Vermehrung festzustellen. Bei allen Aureomycinkonzentrationen waren in 2.Passage wesentlich verlängerte Auswuchszeiten der Kulturen festzustellen.

Zusammenfassung:

In 2.Passage nimmt die Giftwirkung des Aureomycin zu. Sie äußert sich in morphologischer Veränderung der Protozoenzelle und Verhinderung der Vermehrungsvorgänge.

In 1.Passage noch verträgliche Dosen (200 Gamma, 150 Gamma) wirken bei 2.Passage tödend.

Versuchsreihe 3d: Anhalten der Aureomycineinwirkung auf Trichomonaden in weiterer (aureomycinfreier) Subkultur.

Um das Anhalten der Aureomycineinwirkung auf Trichomonaden zu untersuchen, überimpfte ich gleichzeitig die mit 200 Gamma Aureomycin versetzten Kulturen 4 und 5 des Versuches 3b auf je 4 weitere Schleihelmer Nährböden, denen keinerlei weitere Zusätze beigegeben wurden. Die Überimpfung geschah durch je einen Tropfen Bodensatz am 3.Tag. Die beimpften Kulturen kamen in den Brutschrank und wurden vom 2. - 6.Tag täglich kontrolliert. Dabei wurde dann täglich mit Kapillaren 1 Probe des Bodensatzes entnommen und unter dem Mikroskop auf Trichomonadenformen und Vermehrungsfreude geprüft.

Die Ergebnisse waren:

- 74 -

T a b e l l e 10

Anfangs- kultur	Versuchs- kultur	2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag	6.Tag
	1	+	++	+++	+++	+
Kultur 4	2	+	+	+++	+++	+
(Vers.3b)	3	++	+++	+++	+	+
	4	+	++	+++	+++	+
	5	+	+++	+++	+	+
Kultur 5	6	++	+++	+++	+	+
(Vers.3b)	7	+	++	+++	+++	+
	8	++	++	++	++	++

Zeichenerklärung:

- (*) = 1 Trichomonade im ganzen Präparat (1 Deckglas 18 x 18 mm)
Mikroskop Leitz, Obj.3, Okul.4
- + = 1-3 Trichomonaden auf 3 Gesichtsfelder Objekt.3, Okular 4
- ++ = 10-15 " " 3 " " 3, " 4
- +++ = 10-15 " " 3 " " 6, " 4

Besprechung des Ergebnisses:

Als Ausgangsmaterial dienten 2 Reinkulturen von mittlerem Wachstum, die mit 200 Gamma Aureomycin je ccm Nährboden versetzt waren. Nach Überimpfung auf reine (von Antibiotika freie) Nährböden zeigten nach 2 Tagen von 8 Kulturen 6 mäßiges, 2 mittleres Wachstum.

Nach 3 Tagen hatten von 8 Kulturen 3 die optimale Dichte von Reinkulturen erreicht, 4 zeigten mittleres, 1 mäßiges Wachstum.

Nach 4 Tagen hatten 7 Kulturen das optimale Wachstum erreicht, 1 zeigte mäßiges Wachstum.

Nach 5 Tagen standen 4 Kulturen noch in optimaler Dichte, 3 Kulturen waren im Verfall (Überaltert), 1 Kultur zeigte mittleres Wachstum.

Nach 6 Tagen befanden sich 7 Kulturen in Verfall (Überaltert), 1 Kultur in mittlerem Wachstum.

Bei keiner Kultur traten morphologische Veränderungen (mit Ausnahme von alten Formen) auf.

Zusammenfassung:

Bei Weiterzucht von Trichomonaden nach einmaliger Aureomycinpassage von 200 Gamma je ccm Nährboden auf reinen Schleihweiser Nährböden wuchsen 7 von 8 Kulturen zur ursprünglichen Dichte von Reinkulturen heran. Der Wachstumshöhepunkt stellte sich nach 3- bzw. 4-tägiger Bebrütung ein. Er war also gegenüber unbelasteten Reinkulturen um 24 - 48 Stunden verzögert. Demnach scheint die Aureomycinwirkung auf die Vermehrungsfunktion von Trichomonaden reversibel zu sein und sich bei einmaliger verträglicher Einwirkung (200 Gamma) nach 3 - 4 Tagen völlig zu verlieren, soweit es sich nicht um eine Ausleseerscheinung handeln mag.

Versuchsreihe 3a: Untersuchung der Hemmungsfähigkeit des Aureomycin auf die in Versuch 2 isolierten Bakterien der Praeputialflora.

In einem Zwischenversuch prüfte ich die Keimhemmungsfähigkeit des Aureomycin in Trichomonadennährböden bei einer Konzentration von 200 Gamma je ccm Nährboden, der höchsten in einmaliger Passage für Trichomonaden verträglichen Dosis.

Nach Versuchen von ABRAHAM und FLOREY (7) ist bei Penicillin die bakterio-statische Wirkung nur in geringem Grad von der Keimeinsaat abhängig, sodass die Vermehrung von mehreren Millionen (penicillinempfindlichen) Keimen noch bei einer Konzentration von 1 : 100 000 vollständig gehemmt wird. Wenn auch für das Aureomycin ähnliche Verhältnisse angenommen werden durften, suchte ich eine möglichst gleichmäßige Keimeinsaat zu erreichen. Ich verimpfte daher 1 Öse der auf Schrägkulturen gelegten Stämme der Tab. 4 auf je 1 Serumbouillonröhrchen, das 24 Stunden - bei den langsamer wachsenden Fluorescens- und Pyocyaneusstämmen 3 Tage - bebrütet wurde. Dann wurden diese flüssigen Kulturen als Ausgangsmaterial verwendet und je 1 Tropfen davon auf je 1 Röhrchen Schleihweiser Nährboden, das je ccm 200 Gamma Aureomycin zugesetzt waren, mit steriler Pipette verimpft. Nach 48 Stunden - bei Fluorescens nach 3 Tagen - wurde den Kulturen 1 Tropfen Bodensatz entnommen und mit der Platindrahe auf Blut-Agar-Origelaki- und Phenolrotplatte ausgestrichen und diese bebrütet. Die Ergebnisse waren:

- 76 -

Tabelle 11

Reihe Kokken, grampositiv.

Stamm	Blutplatte	Drigalskiplatte	Phenolrotplatte
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	+ einige vereinzelte Kolonien, keine Veränderung gegenüber der Aus.Kultur	kein Farbumschlag	kein Farbumschlag
6	-	-	-
7	+ vereinzelte Kolonien, keine Veränderung der Ausgangskultur	kein Farbumschlag	kein Farbumschlag
8	-	-	-

Reihe Kokken, gramnegativ.

Stamm	Blutplatte	Drigalskiplatte	Phenolrotplatte
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-

- 77 -

Tabelle 11 (Forts.)
 Reihe Stäbchen, grampositiv.

Stamm	Agar	Originalplatte	Phenolrotplatte
1	-	-	-
2	+ Kolonien nicht mehr im Strich, sondern in kleinen Tropfen angehend	-	-
3	war nicht weiterzuchtbar	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
<u>Reihe Stäbchen, gramnegativ.</u>			
Stamm	Agar	Originalplatte	Phenolrotplatte
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	Kol. keine Orangefärbung sondern grauweiße und kleine Pünktchen	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	war nicht weiterzuchtbar	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-

- 78 -

Tabelle 11 (Forta.)
Reihe Stäbchen, gramnegativ.

Stamm	Agar	Drigalskiplatte	Phenolrotplatte
11	+ Kol. transparenter als Ausgangskultur kleine Tropfen	-	-
12	-	-	-
13	-	-	-
14	+ in einzelnen Tropfen nicht mehr im Strich angehend, sonst unverändert	Kol. nicht mehr dunkelrot, sondern graublaue Platte, kein Farbumschlag	kein Farbumschlag, Kol. wie auf Agar
15	(+) ganz vereinzelte punktförmige Kol.	kein Farbumschlag	kein Farbumschlag
16	+ vereinzelte tropfenförmige Kolonien, transparent	Kolonien glasig, grau, kein Farbumschlag	kein Farbumschlag
17	-	-	-
18	-	-	-
19	+ vereinzelte Kolonien von ca. 1-2 mm Durchmesser	kein Farbumschlag	kein Farbumschlag
20	-	-	-

Reihe Coligruppe.

Stamm	Agarplatte	Drigalskiplatte	Phenolrotplatte
1	-	-	-
2	-	-	-
3	-	-	-

- 79 -

Tabelle 11 (Forts.)
Reihe Coligruppe

Stamm	Agarplatte	Drigalskiplatte	Phenolrotplatte
4	+ zündholzkopfgrosse vereinzelte Kolonien grau transparent	+ kein Farbumschlag Kolonien glasig	kein Farbumschlag
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	-	-
8	-	-	-
9	-	-	-
10	-	-	-
11	-	-	-
12	-	-	-
13	+ vereinzelte grau- weisse Kolonien von 1 mm Durchmesser	kein Farbumschlag	erst nach 3 Tagen schwache Rötung
14	-	-	-
15	-	-	-
16	-	-	-
17	++ nicht mehr im Strich angehend, zündholzkopf- grosse Kolonien	++ kein Farbumschlag	++ nach 4 Tagen schwacher Farbumschlag in Orangerot
18	+ -"-	-"-	-"-
19	+ nicht mehr im Strich angehend, zündholzkopf- grosse Kolonien	+ kein Farbumschlag	+ nach 4 Tagen schwacher Farbumschlag in Orangerot
20	+ -"-	-"-	-"-

- 80 -

Tabelle 11 (Forts.)
Reihe Coligruppe

Stamm	Agarplatte	Drigalskiplatte	Phenolrotplatte
21	+ nicht mehr im Strich angehend, zündholzkopfgroße Kolonien	+ nach 3 Tagen schwacher Farbumschlag in Rosa	+ kein Farbumschlag
22	+	+ kein Farbumschlag	+
23	-	-	-
24	+ vereinzelte, inselartige, grauweiße Kolonien	+ kein Farbumschlag	+ kein Farbumschlag
25	-	-	-
26	+ vereinzelte, zündholzkopfgroße Kolonien	+ nach 3 Tagen schwacher Farbumschlag in Rosa	+ kein Farbumschlag
27	++	+ kein Farbumschlag	+ nach 2 Tagen deutlicher Farbumschlag in Rot

Reihe Fluorescens/Pycocyanus.

Stamm	Agar	Phenolrot
1	-	-
2	in Inseln von 4-5 mm Durchmesser wachsend, schwach grüngelb färbend	Farbumschlag nach 3 Tagen schwach rötlich
3	-	-
4	+ in zündholzkopfgroßen Kolonien angehend, erst nach 4 Tagen grün färbend	Farbumschlag nach 4 Tagen schwach rötlich
5	-	-
6	+ Kolonien wie Ausgangskultur	Farbumschlag nach 3 Tagen deutlich rot

- 81 -

Tabelle 11 (Forts.)

<u>Reihe Bekannte Keime</u>				
<u>Bakt. Art</u>	<u>Blutplatte</u>	<u>Agarplatte</u>	<u>Drigalski- platte</u>	<u>Phenolrot- platte</u>
Staph. albus	-			
Staph. aureus	-			
Staph. flavus	-			
Staph. citreus	-			
Strept. faecium	-			
B. subtilis		-	-	-
B. proteus		↔ kein Überwuchern der Platte, sondern beschränkte Inzelsbildung	(+)	+ schwach rosa Farbumschlag

Besprechung der Ergebnisse:

Die Aureomycineinwirkung entsprach bei einer Konzentration 200 Gamma/ccm Nährboden in allgemeinen der Erfahrung der Literatur. Dabei wurden von bekannten Keimen abgetötet: je ein Stamm von Staph. albus, Staph. aureus, Staph. flavus, Staph. citreus, Strept. faecium und B. subtilis. B. proteus wurde nicht abgetötet, jedoch im Wuchs sichtlich gehemmt und im Alkalibildungsvermögen geschwächt. Von 5 Stämmen B. fluorescens liqu. wurden 2 abgetötet, 2 nur gehemmt. Farbbildungsvermögen und Alkalibildung waren geschwächt und protahiert. 1 Stamm B. pyocyaneus wurde abgetötet. Alle 11 restlichen wurden im Wachstum wie in der Säure- bzw. Alkalibildung deutlich gehemmt. 3 der 11 Stämme hatten Säure- oder Alkalibildungsvermögen völlig verloren. 1 Stamm (Stamm 27) hatte seine Alkalibildung fast voll erhalten.

An Verunreinigungskeimen wurden von 8 Stämmen grampositiver Kokken 6, von 3 Stämmen gramnegativer Kokken sämtliche, von 5 Stämmen grampositiver Stäbchen 4 und von 19 Stämmen gramnegativer Stäbchen 13 völlig abgetötet. Die verbleibenden 9 Stämme waren alle im kulturellen Wachstum gegenüber der Ausgangskultur deutlich gehemmt.

- 62 -

(Fürbeversuche wurden nicht unternommen.)

Folgerungen:

Nach VOGEL (94) wirken die Antibiotika auf die einschlägige, empfindliche Bakterienflora teils bakterizid, teils bakteriostatisch. Die bakteriostatische Wirkungsgruppe beeinflusst die Lebensfunktionen der Bakterienzelle antagonistisch so, dass diese in vivo den Abwehrkräften des Wirtes unterliegt. In vitro bleibt die antagonistische Beeinflussung zwar erhalten, doch kommt es nicht zur Abtötung der Bakterienzelle. Dies war bei den 23 Bakterienstämmen, die eine Aureomycinpassage von 200 Gamma/ccm Nährboden überstanden, aber alle mehr oder minder antagonistisch beeinflusst wurden, der Fall.

Es war nun zu untersuchen, ob bei den Keimen der Praeputialflora, welche durch die höchste für Trichomonaden verträgliche Aureomycindosis nur bakteriostatisch beeinflusst wurden, diese Hemmungswirkung des Aureomycin auch den bakteriellen Antagonismus gegen Trichomonaden in Kulturen beeinflusste oder gar beseitigte. Beweisend konnte hier lediglich die gelungene Kultur von Trichomonaden aus von einer möglichst grossen Reihe infizierter Bullen abgenommenem Material sein, d.h. mit anderen Worten die gelungene kulturelle Diagnostizierung möglichst vieler männlicher Tiere. Zu fordern war mindestens, dass die kulturelle Diagnose, verglichen mit der mikroskopischen Prüfung des Zentrifugats der Spülprobe, nie versagte.

Versuchsreihe 3f: Untersuchung der Brauchbarkeit des Aureomycin als Keimhemmungszusatz zu diagnostischen Trichomonadankulturen.

Um diese Möglichkeit zu erproben, untersuchte ich in der Folge sämtliche wagen Trichomonadenverdacht der Unfruchtbarkeitsbekämpfungsabteilung des RGD. Überstellten Bullen kulturell. Der Vorgang der Untersuchung war folgender: Vor Abfahrt an den Untersuchungsort wurden für jeden zu untersuchenden Bullen 2 Schleimharn Nährböden mit 200 Gamma Aureomycin/je ccm Nährboden versetzt und die Kulturröhren mit Gummistopfen steril verschlossen. Die Fahrt zum Untersuchungsort erfolgte mit Kraftfahrzeug oder Bahn. Dort wurde die Spülprobe, wie in Versuch 1 beschrieben, abgenommen und vorbereitet. Das Zentrifugat der Spülprobe wurde darauf jeweils von einem Sterilitätsarzt mikroskopisch untersucht und gleichzeitig zwei Tropfen durch mich auf jede der mitgeführten Kulturen verimpft. Nach Rückkehr ins Labor wurden die Kulturen mit flüssigen Paraffin überschichtet, die Gummistopfen durch sterile Wattestopfen ersetzt und die so zubereiteten Kulturen

- 85 -

In den Brutachrank verbracht. Vom 3.Tag ab entnahm ich dann täglich bis zum 5.Tag mit der Kapillare Bodenzusatzproben und prüfte diese auf Trichomonadenwachstum. Ein Nachteil dieser Versuchsanordnung lag darin, dass die Nährböden im Labor bereits vor der Abfahrt zur Untersuchung mit Aureomycin versetzt werden mussten. In Anbetracht der sterilen Handhabung der Nährböden und der geringen Menge des Zusatzes fand ich diesbezüglich zunächst kein anderes Verfahren. Nach den Angaben der Literatur verlieren aber die Antibiotika in Suspension rasch ihre Aktivität.

Speziell für das Aureomycin gibt VOGEL (94) an, daß es in Lösungen geringerer Konzentration in Gegenwart von Serum bei 37 Grad C sofort inaktiviert wird, bei 4 Grad C jedoch stabiler sei. Ebenso nennt die Herstellerfirma (Lederle USA) das Aureomycin als Zusatz für Serumnährböden ungeeignet, weshalb auch der Nährbodentest zur Prüfung seiner Hemmungswirkung unbrauchbar sei. Gerade diese wenig Erfolg versprechende Situation war aber gegeben, denn der Serumzusatz in den Nährböden war nicht zu umgehen und eine niedrigere Temperatur nur bis zum Augenblick der Bebrütung, und selbst da nur durch relativ grossen Aufwand (etwa Kühlung in Thermosflaschen), zu erreichen. Ich beschloss diese Momente zunächst zu vernachlässigen, jedoch die Zeiten, die vom Ansetzen der Nährböden (Aureomycinzugabe) bis zum Beginn der Bebrütung verstrichen, genau zu registrieren, um daraus etwaige Schlüsse abzuleiten. Die Untersuchungsergebnisse an 34 Bullen waren folgende:

Tabelle 12

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

Ifd. Nr.	Name des Mikro- Bullen u. Standort	Mikro- skop. Unters.	Zeitdauer Aureomycin- zusatz bis zur Bebrütg.	Kultur Nr.	Untersuchungs- ergebnis der Kultur nach					Bemer- kungen
					2	3	4	5	Tg.	
1	M. in K.	+	12 Std.	1	+	+	+	-		
				2	-	-	-	-		
2	H. in W.	-	4 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
3	K. in S.	-	5 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
4	R. in G.	+	10 Std.	1	++	++	+	-		
				2	+	+	-	-		

- 84 -

Tabelle 12 (Forts.)

Ifd. Nr.	Name des Bullen u. Standort	Mikro-akop. Unters.	Zeitdauer Aureomycin-zusatz bis zur Bebrütg.	Kultur Nr.	Untersuchungs- ergebnis der Kul- tur nach					Bemer- kungen
					2	3	4	5	Tg.	
5	T. in J.	-	12 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
6	H. in B.	+	6 Std.	1	(+)	(+)	-	-		
				2	+	+	-	-		
7	G. in B.	-	6 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
8	L. in L.	+	7 Std.	1	+	+	(+)	-		
				2	+	+	+	(+)		
9	P. in L.	+	7 Std.	1	(+)	+	-	-		
				2	(+)	(+)	-	-		
10	L. in M.	-	5 Std.	1	+	(+)	(+)	-		
				2	++	+	+	-		
11	Sp. in P.	-	7 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
12	St. in U.	-	6 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
13	J. in O.	-	5 Std.	1	+	(+)	-	-	Vorbehandelt mit	
				2	-	-	-	-	Boveplavinsalbe	
14	L. in Sch.	-	3 Std.	1	+	(+)	-	-		
				2	+	+	-	-		
15	L. in Sch.	-	3 Std.	1	+	+	-	-		
				2	+	-	-	-		
16	S. in A.	-	12 Std.	1	-	-	-	-		
				2	-	-	-	-		
17	A. in O.	-	9 Std.	1	+	+	-	-		
				2	-	-	-	-		

- 85 -

Tabelle 12 (Forts.)

Ifd. Nr.	Name des Mikro- Bullen u. skop. Standort Unters.	Mikro- Aureomycin- zusatz bis zur Bebrütg.	Zeitdauer	Kultur Nr.	Untersuchungs- ergebnis der Kul- tur nach					Bemer- kungen
					2	3	4	5	Tg.	
18	W. in St.	-	10 Std.	1	-	-	-	-	-	
				2	-	-	-	-	-	
19	L. in W.	-	6 Std.	1	-	-	-	-	-	
				2	-	-	-	-	-	
20	S. in E.	-	4 Std.	1	-	-	-	-	-	
				2	-	-	-	-	-	
21	H. in I.	+	6 Std.	1	++	++	+	-	-	
				2	++	++	+	-	-	
22	Z. in X.	-	9 Std.	1	-	-	-	-	-	
				2	-	-	-	-	-	
23	H. in I.	+	16 Std.	1	-	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	-	
24	M. in I.	+	16 Std.	1	-	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	-	
25	P. in W.	-	12 Std.	1	-	-	-	-	-	
				2	-	-	-	-	-	
26	H. in E.	-	8 Std.	1	++	+	(+)	-	-	
				2	(+)	(+)	-	-	-	
27	T. in I.	+	18 Std.	1	-	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	-	
28	L. in Sch.	-	3 Std.	1	+	+	-	-	-	1. Nachunter- suchg. nach Behandlung
				2	-	-	-	-	-	
29	L. in Sch.	-	3 Std.	1	+	+	+	-	-	"
				2	(+)	-	-	-	-	
30	J. in R.	+	20 Std.	1	-	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	-	

- 86 -

Tabelle 12 (Forts.)

Ifd. Nr.	Name des Bullen u. Standort	Mikroskop. Unters.	Zeitdauer Aureomycin-zusatz bis zur Bebrütg.	Kultur Nr.	Untersuchungs- ergebnis der Kultur nach				Bemerkun- gen
					2	3	4	5 Tg.	
31	M. in R.	+	21 Std.	1	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	
32	R. in H.	+	18 Std.	1	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	
33	H. in Sch.	+	20 Std.	1	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	
34	S. in P.	+	20 Std.	1	-	-	-	-	Versager
				2	-	-	-	-	

Besprechung der Ergebnisse:

Von 34 Bullen wurden 22 als infiziert ermittelt (darunter 2 Rezidiv-behandelter Bullen). Bei 6 infizierten Tieren stimmte der positive mikroskopische Befund der Spülprobe mit dem Kulturergebnis überein, ebenso bei 12 negativen Tieren. In 8 Fällen (= 36,3% der infiziert ermittelten Tiere), darunter 2 Rezidivfälle, konnten die Trichomonaden nur im Kulturversuch nachgewiesen werden, während sie bei der mikroskopischen Prüfung des Zentrifugats der Spülprobe nicht gefunden worden waren. In 8 Fällen (= 36,3% der infiziert ermittelten Tiere) hatte der Kulturversuch bei positivem mikroskopischen Befund der Spülprobe versagt.

Mit 36,3% Erfolgsfällen gegenüber ebenso vielen Versagerfällen hielten sich in der vorstehenden Versuchsreihe die Fehlerprozente der mikroskopischen Untersuchung der Spülprobe und der Kulturmethode die Waage.

In den Kulturen wurden nach 2- und 3-tägiger Bebrütung die Trichomonaden am sichersten gefunden. Vom 4. Tag ab wurde das Ergebnis unsicher, nach 5-tägiger Bebrütung habe ich in keinem Fall mehr Trichomonaden feststellen können. Bei 4 der 14 kulturell positiven Fälle hatte jeweils eine der angelegten 2 Kulturen versagt. Ein weiterer Nachteil bestand in dem meistens sehr spärlichen Trichomonadenwachstum in den Kulturen. In 5 Kulturen war bei der Überprüfung nach 2 Tagen nur ein Flagellat in einem ganzen angefertigten Präparat (Deckglas 18 x 18 mm) zu finden. 3 dieser Kulturen stamm-

- 87 -

ten von Bullen, deren Infektion bereits ermittelt war, so dass ich die Kulturen vorsingenommen untersuchte und dann nach entsprechender Mühe die Trichomonaden auch nachwies. Ohne dieses Vorwissen und bei geringerer Sorgfalt wäre mir der eine oder andere Fall vielleicht entgangen. In 14 weiteren Kulturen war das Trichomonadenwachstum mässig und eine Vermehrung nicht oder nur in geringem Umfang festzustellen. Damit stand der Zeitaufwand für die Untersuchung einer Kulturprobe dem für die mikroskopische Prüfung einer Spülprobe nicht nach. Nur in 5 Kulturen war in mässigem Ausmass aber doch deutlich Vermehrung zu erkennen. In keiner dieser Kulturen steigerte sich die Wachstumsdichte der Trichomonaden nach dem 2. Tag der Bebrütung. Keine der Kulturen war durch bakterielle Trübung ausgefallen, gleichwohl wurden bei diesbezüglicher Prüfung (Ausstrich auf Agarplatte) in jeder Kultur noch Begleitkeime (Coli, Verunreiniger) festgestellt. Vom 4. Bebrütungstag ab begann allmählich bakterielle Trübung und übler Geruch in den Kulturen einzusetzen. Alle Versagerfälle lagen bei Kulturen, bei denen vom Zusatz des Aureomycin zum Nährboden bis zur Bebrütung 12 Stunden überschritten waren. Dies legte den Verdacht nahe, dass hier das Aureomycin bei beginnender Bebrütung bereits inaktiviert war.

Versuchsreihe 3g: Vergleich der Aureomycin- und Penicillinwirkung in aus Bullenspülproben gezüchteten Trichomonadenkulturen.

Um die Überlegenheit des Aureomycin gegenüber dem Penicillin als Keimhemmungszusatz noch weiter zu belegen, verimpfte ich gleichzeitig die Zentrifugate von 5 als infiziert ermittelten Tieren des Versuchs 3f auf je 2 Schleißheimer Nährböden, deren einer (Kultur Nr.1) mit 800 i.E., der andere (Kultur Nr.2) mit 1000 i.E. Penicillin G Natriumsalz versetzt worden war. Die Bedingungen lagen insofern zu Gunsten des Penicillin, als dieses erst kurz vor der Beimpfung am Untersuchungsort den Nährböden zugesetzt wurde, während das Aureomycin bereits im Labor zugegeben worden war. Der Versuch lief parallel mit Versuch 3 f. Als Vergleichskontrolle dienten die Aureomycinkulturen dieses Versuches. Die Penicillinkulturen wurden analog dem in Versuch 3 f geschilderten Verfahren behandelt und nach 2 - 5tägiger Bebrütung untersucht.

- 88 -

Tabelle 13

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

Ifd. Nr. aus Versuch 3f	Name der Bullen, d. Bes. u. Standort	Kultur Nr.	Ergebnis der Aureo- mycinkultur gem. Tabelle am 2.Tag	Untersuchungsergebnis der Penicillinkulturen nach			
				2.Tag	3.Tag	4.Tag	5.Tag
1	M. in K.	1	+	-	-	-	-
		2	-	-	-	-	-
4	R. in G.	1	++	-	-	-	-
		2	+	(+)	-	-	-
6	H. in B.	1	(+)	-	-	-	-
		2	+	-	-	-	-
8	L. in L.	1	+	-	-	-	-
		2	+	-	-	-	-
9	P. in L.	1	(+)	-	-	-	-
		2	(+)	-	-	-	-

Besprechung der Ergebnisse:

Bei 5 als infiziert ermittelten Bullen wurden in 10 Aureo-
mycinkulturen Trichomonaden nachgewiesen. In den gleichzeitig und vergleichend ange-
legten 10 Penicillinkulturen waren nur in einer Trichomonaden nachweisbar.
Das Wachstum war bei der Kontrolle am 3.Tag spärlich (1 Trichomade im gan-
zen Präparat) und bereits am 4.Tag erloschen, während eine aus dem Zentrifu-
gat dieses Bullen angelegte Aureo-
mycinkultur deutliche Vermehrung aufwies.

Das Aureo-
mycin scheint demnach als Keimhemmungszusatz in Tricho-
monadenkulturen dem Penicillin überlegen zu sein.

- 89 -

Versuch 3h: Untersuchung der Inaktivierungszeiten des Aureomycin in Serumbouillonnährböden.

Der Versuch 3f hatte den Verdacht nahegelegt, dass die 8 Versagerfälle aus der Inaktivierung des Aureomycin infolge zu langen Zeitintervalls vom Zusatz zum Nährboden bis zur Beimpfung resultierten. Um diese Möglichkeit näher zu untersuchen, stellte ich folgenden Versuch an:

Zur Untersuchung von 3 mir bereits als positiv bekannten Bullen legte ich Kulturen so bereit, dass bis zum Zeitpunkt ihrer Bebrütung seit dem Aureomycinzusatz jeweils 10, 12, 14, 16, 18, 20 und 22 Stunden vergangen waren. Die Versuchsreihe liess sich leider auf keine grössere Zahl von Tieren ausdehnen, da ich bei den Versuchstieren bereits vorher die positive Diagnose wissen musste und nach Art des Versuches die Bullen in örtlicher Nähe stehen mussten, um die Zeitintervalle einhalten zu können.

Bei der Entnahme und Vorbereitung der Spülprobe vom Bullen wurde sie in Versuch 1 verfahren. Dann wurde jede Kultur der Versuchsreihe mit 2 Tropfen des Zentrifugats beimpft und im Übrigen wie im Versuch 3f verfahren. Die Aureomycin-Dosis war wieder 200 Gamma je ccm Nährboden. Die Kulturen wurden nach 2- und 3-tägiger Bebrütung auf Trichomonadenwachstum geprüft.

Die Ergebnisse waren:

Tabelle 14

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

Ifd. Nr.	Name d. Sullen u. Standort	Untersuchungs- ergebnis nach	Zeitintervall vom Aureomycin- zusatz bis Bebrütung in Std.						Bemerkung	
			10	12	14	16	18	20 22		
1	L.1 in Sch.	2.Tag	+	(+)	(+)	+	-	-	-	Rezidiv
		3.Tag	+	(+)	-	-	-	-	-	
2	L.2 in Sch.	2.Tag	+	(+)	(+)	-	-	-	-	Rezidiv
		3.Tag	(+)	-	(+)	-	-	-	-	
3	L. in M.	2.Tag	+	-	(+)	-	-	-	-	
		3.Tag	+	-	-	-	-	-	-	

- 90 -

Besprechung der Ergebnisse:

Bei der aus den Spülproben von 3 infizierten Bullen angelegten Versuchreihe waren alle 3 Kulturen, die das Aureomycin bereits 18 Stunden und länger enthielten, negativ, d.h. also Versager. Bei 16 Stunden Intervall versagten 2 der Kulturen, bei 12 Stunden 1, während bei 10 und 14 Stunden alle 3 Kulturen positiv waren. Es ist nun widersprechend, wenn im Falle Nr.3 bereits nach einem Intervall von 12 Stunden die Kultur versagte, jedoch bei einem solchen von 14 Stunden noch anzeigte. Möglicherweise ist es durch die doch sehr verschiedene Einsaat von Begleitkeimen bei der Beimpfung des Nährbodens zu erklären. Jedenfalls scheint das Ergebnis die aus dem Versuch 3f gefolgerte Annahme zu rechtfertigen, dass die Versagerfälle von Trichomonadenkulturen mit Aureomycinzusatz auf die rasche Inaktivierung des Antibiotikums in Serumnährboden zurückzuführen sind. Die Bakterienhemmung scheint bei einem Zusatz von 200 Gamma Aureomycin/ dem Nährboden ab 12 Stunden nachzulassen, ab 18 Stunden völlig zu erliegen.

Folgerungen:

Die Abnahme der Vorhautspülproben und Beimpfung der Kulturen zu Versuch 3f erfolgte unter praxisähnlichen Bedingungen. Sicht man von der für den Praktiker etwas unständlichen Beimpfung der Nährböden unter sterilen Kautelen ab, so entsprachen bei den Bedingungen in Versuch 3f nur die Zeiten, die für die Anfahrt vom Labor zum Untersuchungsort und zurück aufgewandt wurden, nicht den alltäglichen Gegebenheiten. Sie waren sehr gering und mussten sich schon bei der Verbindung mehrerer Untersuchungen wesentlich verlängern, ebenso aber auch, wenn die Untersuchung etwa von einem praktizierenden Tierarzt vorgenommen wurde und zum Transport der Kulturen der Postversand herangezogen werden musste. Die Versuche 3f und 3h zeigten aber, dass gerade dieses Zeitintervall für die Aureomycinkwirkung ausschlaggebend war und 10 - 14 Stunden vom Zusatz des Aureomycin bis zum Beginn der Bebrütung nicht überschritten werden durften.

Zusammenfassung der Versuchsergebnisse mit Aureomycin (Versuchsreihe 3):

1. Das Aureomycin erwies sich bei Vergleich der Ergebnisse der Versuche 1 und 3, sowie im Vergleichsversuch 3g als Keimhemmungszusatz zu Trichomonadenkulturen dem Penicillin überlegen.
2. Das Aureomycin wirkt auf die Begleitflora in Trichomonadenkulturen aus Bullenspülproben teils bakterizid, teils bakteriostatisch.
3. Die oberste, Trichomonaden nicht schädigende Dosis betrug 200 Gamma pro dem Nährboden.

- 91 -

4. Das Aureomycin setzte in Trichomonadenkulturen, selbst in verträglicher Konzentration, die Vermehrungsintensität der Protozoen herab.
5. Bei wiederholter Aureomycinpassage nahm die schädigende (wachstumshemmende) Wirkung des Antibiotikums zu.
6. Es gelang unter Verwendung von Aureomycin von 22 infizierten Bullen 14 (= 63,6%) kulturell zu diagnostizieren. Bei einem Drittel (36,3%) der diagnostizierten Fälle hatte die mikroskopische Untersuchung allein, bei einem Drittel die kulturelle Methode allein die Infektion nachzuweisen vermocht.
7. Die gemachten Erfahrungen führten zu dem Schluss, dass die aus der Literatur bekannte rasche Inaktivierung des Aureomycin bei Anwesenheit von Serum die Versagerfälle verursachte. Nach den Ergebnissen der Versuche 3f und 3h beginnt die Inaktivierung des Aureomycineinflusses ca. 12 Stunden nach dessen Zusatz zum Nährboden.
8. Für die kulturelle Diagnose der Trichomonadeninfektion des Bullen in der tierärztlichen Praxis scheint das Aureomycin als Keimhemmungszusatz zu flüssigen (Serumbouillon-) Nährböden daher nicht geeignet.

Versuchsreihe 4: Konservierung von Spülproben.

Da sich das Aureomycin unter den oben beschriebenen einschränkenden Bedingungen grundsätzlich als Keimhemmungszusatz zu Trichomonadenkulturen aus Vorhautspülproben als geeignet erwiesen hatte, untersuchte ich die Möglichkeiten, Spülproben so in das Labor zu verbringen, dass sie zur Verimpfung auf Nährböden noch geeignet waren. Von den Sterilitätstierärzten des RGD. waren während der Wintermonate (1950/51) das öfteren Spülproben von Bullen abgenommen worden, die bisweilen erst nach einigen Stunden zentrifugiert und unter dem Deckglas mikroskopisch untersucht wurden. Dabei wurden oft positive Befunde erhoben. Falls die Möglichkeit bestand, die Spülproben in zur Verimpfung brauchbarem Zustand in das Labor zu verbringen, war die Unzulänglichkeit des Aureomycin, die in seiner raschen Inaktivierung bestand, umgangen.

Versuchsreihe 4a: Überprüfung der Haltbarkeit von Bullenspülproben für die Diagnosedstellung unter verschiedenen Temperaturen.

Es war also zu prüfen, wie lange eine vom Bullen abgenommene Spülprobe mit Sicherheit für die Verimpfung auf Nährböden brauchbar bleibt.

- 92 -

Ich verwendete für diesen Versuch Spülproben von 11 verschiedenen, als infiziert ermittelten Bullen. Sie waren von den Sterilitätsärzten des RGD nach der bei Versuch 1 beschriebenen Technik vom Tier abgenommen worden und kamen nach spätestens 3 Stunden im Labor an. Hier teilte ich die Spülproben in 3 Teile, wovon ein Teil in den Brutschrank (+ 37 Grad C) gestellt, der zweite im Labor bei Zimmertemperatur (+ 10 Grad C) abgestellt und der dritte in den Kühlschrank (+ 4 Grad) verbracht wurde. Jeweils nach 12, 18, 24, 48 und 72 Stunden (Brut-Kühlschrank-Zimmertemperatur) zentrifugierte ich 10 ccm jeder Spülprobe und verimpfte sie auf 2 Schleierhainer Nährböden mit Aureomycinzusatz von 200 Gamma/ccm Nährboden. Die Kulturen wurden mit flüssigem Paraffin übersichtet und in den Brutschrank gestellt. Nach 2 und 3 Tagen wurden Bodensatzproben entnommen und mikroskopisch untersucht. Je einen Tropfen des Zentrifugats untersuchte ich auch gleich vor der Beimpfung unter dem Mikroskop.

Die Ergebnisse waren:

Zuicherklärung wie Tabelle 7.

Tabelle 15

Ifd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Aufenthalt im K = Kälbschrank Z = Zimmer B = Brutschrank	V o r i m p f t n a c h												
			12 Stunden			18 Stunden			24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden
			Ergebnis mikrook.bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	Ergebnis mikrook.bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	Ergebnis mikrook.bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	Ergebnis mikrook.bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	Ergebnis mikrook.bei Verimpfung
1	S. Nr. 6	K Z B	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	S. Nr. VI	K Z B	+	++	++	+	+	(+)	-	+	(+)	-	-	-	-
3	H. Nr. (88)	K Z B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
4	J. in R.	K Z B	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5	M. in R.	K Z B	-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6	Z. in I.	K Z B	+	(+)	-	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)
7	W.1 in N.	K Z B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
8	W.2 in N.	K Z B	(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-

- 92a -

Tabelle 15

V e r i m p f t n a c h														
12 Stunden			18 Stunden			24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
mikrosk. bei Verimpfung	Ergebnis		mikrosk. bei Verimpfung	Ergebnis		mikrosk. bei Verimpfung	Ergebnis		mikrosk. bei Verimpfung	Ergebnis		mikrosk. bei Verimpfung	Ergebnis	
	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.		Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.		Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.		Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.		Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.
+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	(+)	(+)
+	+	-	(+)	+	(+)	+	+	+	+	+	+	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	++	++	+	+	(+)	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-
(+)	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+)	+	(+)	(+)	(+)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	+	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
+	(+)	-	+	+	(+)	+	(+)	(+)	+	(+)	+	(+)	-	-
(+)	+	-	(+)	+	-	+	(+)	-	-	-	-	-	-	-
(+)	(+)	(+)	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
(+)	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Table 15
(Fortg.)

Ifd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Aufenthalt im K = Kihlachrank Z = Zimmer B = Brutschrank	V o r i m p f t n a c h														
			12 Stunden			18 Stunden			24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
			Ergebnis			Ergebnis			Ergebnis			Ergebnis			Ergebnis		
			mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.
9	J. in N.	K	+	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-		
		Z	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
10	J. in Sch.	K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		Z	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
		B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
11	A. in Sch.	K	+	++	+	(+)	+	+	(+)	(+)	+	(+)	-	-			
		Z	(+)	+	+	-	(+)	+	(+)	-	-	-	-	-	-		
		B	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

- 92b -

Tabelle 15
(Forts.)

a. d. l. u. s. o. r. t.	Aufenthalt in K = Kühllochrank Z = Ziesor B = Urutschrank	V o r i m p f t n a c h														
		12 Stunden			18 Stunden			24 Stunden			48 Stunden			72 Stunden		
		Ergebnis			Ergebnis			Ergebnis			Ergebnis			Ergebnis		
		mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.	mikrosk. bei Verimpfung	Kultur nach 2 Tag.	Kultur nach 3 Tag.
N.	K	+	-	-	-	-	-	-	(+)	-	-	-	-	-	-	
	Z	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
Sch.	K	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	Z	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
	B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
sch.	K	+	++	+	(+)	+	+	+	(+)	(+)	+	(+)	-	-		
	Z	(+)	+	+	-	(+)	+	-	(+)	-	-	-	-	-		
	B	(+)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		

- 93 -

Besprechung der Ergebnisse:

Sämtliche Spülproben hatten ursprünglich so viele Trichomonaden enthalten, dass diese am Untersuchungsort im Zentrifugat mit dem Mikroskop leicht gefunden worden waren. (Aus sämtlichen Spülproben waren an Untersuchungsort Aureomycinkulturen angesetzt worden, die nach 2tägiger Bebrütung alle positiv waren.) Die Proben waren bei Ankunft im Labor im Höchstfall 3 Stunden alt, wobei sie mässigen Aussentemperaturen ausgesetzt waren (März/April 1951). Nach den Ergebnissen der Tabelle 15 waren von den insgesamt 11 (trichomonadenpositiven) Spülproben noch positiv diagnostizierbar:

Tabelle 16

Bei Verweildauer von	Bei 4 Grad C		Bei 18 Grad C		Bei 37 Grad C	
	Mikrosk.	Kultur	Mikrosk.	Kultur	Mikrosk.	Kultur
12 Stunden	7	5	5	5	3	2
18 Stunden	6	4	3	4	2	1
24 Stunden	4	4	3	2	0	0
48 Stunden	3	2	0	0	0	0
72 Stunden	2	1	0	0	0	0

Nach dem Ergebnis des vorstehenden Versuches war die mikroskopische Nachweismethode im Zentrifugat in 12 Fällen der kulturellen überlegen, während in 4 Fällen der Kulturbefund positiv war, nachdem ich zur Zeit der Beimpfung im Zentrifugat mikroskopisch keine Trichomonaden mehr fand.

Vergleicht man dieses Ergebnis, bei dem die mikroskopische Methode das Kulturverfahren im Verhältnis 3 : 1 an Genauigkeit übertrifft, mit dem Ergebnis des Versuches 3 f (Tabelle 12), bei welchem einschliesslich der vermutlich aus der Inaktivierung des Aureomycins resultierenden verminderter mikroskopische und kulturelle Methode sich an Genauigkeit gleichkamen, so ist zu schliessen, dass ein Zeitintervall zwischen Abnahme der Spülprobe und deren Verimpfung das Kulturergebnis ungünstig beeinflusst. Dabei scheint die Spülprobe für die kulturelle Methode schneller unbrauchbar zu werden als für die mikroskopische Nativuntersuchung. (Belastung nicht mehr sehr lebensfähiger Trichomonaden durch das Aureomycin, Vermehrungsfähigkeit geht vor der Beweglichkeit verloren.)

- 94 -

Was den Temperatureinfluss anbelangt, so war ein solcher von 4 Grad C am günstigsten und verschlechterte die Genauigkeit der Diagnose über 18 Grad zu 37 Grad zunehmend.

	Nach einer Zeitdauer von 12 Stunden waren bei 4 Grad noch 8 (= 72,7%) der 11 Proben positiv diagnostizierbar (davon 4 mikroskopisch und kulturell, 3 nur mikroskopisch und 1 nur kulturell), bei 18 Grad nur noch 6 (= 54,5%) (davon 4 mikroskopisch und kulturell, 1 nur mikroskopisch, 1 nur kulturell), bei 37 Grad noch 3 (= 27,2%) (davon 2 mikroskopisch und kulturell, 1 nur mikroskopisch). Bereits nach einer Zeitdauer von 18 Stunden waren von den Proben bei 4 Grad nur noch 6 (= 54,5%)
	" 18 " " " 4 (= 36,3%)
	" 37 " " " 2 (= 18,1%) positiv diagnostizierbar,
nach 24 Stunden	" 4 " " 5 (= 45,4%)
	" 18 " " 3 (= 27,2%)
	" 37 " keine mehr,
nach 48 Stunden	" 4 " noch 3 (= 27,2%)
	bei 18 Grad und 37 " keine mehr,
nach 72 Stunden	bei 4 " noch 2 (= 18,1%)
	bei 18 " und 37 " ebenfalls keine mehr.

Die Diagnostizierbarkeit von Spülproben und insbesondere ihre Brauchbarkeit zur Verimpfung auf Nährböden schwankt also in weiten Grenzen, was vor allem auf den sehr verschiedenen Reinheitsgrad (Verunreinigung durch Kot, Vorhautkatarrhe) zurückzuführen sein dürfte.

Allein unter den günstigsten Bedingungen (d.h. 12 Stunden bei 4 Grad C) waren nur 72,7% der untersuchten Proben noch richtig zu diagnostizieren, speziell mit der Kulturmethode allein nur noch 45,5%.

Ich muss daraus den Schluss ziehen, dass die physiologische Kochsalzlösung - in dem vorstehenden Versuch als Spülflüssigkeit benutzt - als Suspensionsmittel der Trichomonaden für einen kürzeren oder längeren Transport in ein Untersuchungslaboratorium ungeeignet ist.

Das Versuchsergebnis stimmt mit den an der Bayer.Ländesanstalt für Tierseuchenbekämpfung gemachten Erfahrungen überein, nach denen nur in seltensten Fällen aus eingesandten Spülproben der tierärztlichen Praxis Trichomonaden diagnostiziert wurden konnten. Mein Ergebnis widerspricht den bisherigen Beobachtungen über die Tonazität von Trichomonaden, nach denen diese weit widerstandsfähiger wären. Es spricht für eine besonders grosse Hinfälligkeit der Protozoen in vom Bullen abgenommenem Material.

- 95 -

Versuchsreihe 4b: Versuch zur Verbesserung der Haltbarkeit von Spülproben;
Präparierung der Spülproben mit keimhemmenden Zusätzen.

Es blieb nun zu versuchen, die Brauchbarkeit der Spülproben zur Verimpfung auf Nährböden durch keimhemmende Zusätze zu verlängern. Den Gedanken hat erstmalig SCHNEIDER (25) aufgegriffen. Er verwendete 50 000 i.E. Penicillin pro 100 ccm Spülflüssigkeit. Die Ergebnisse des Versuches 4a hatten gezeigt, dass Spülproben bei 37 und 18 Grad weit schneller für die Verimpfung unbrauchbar wurden als bei 4 Grad. Dies war auf eine bei hohen Temperaturen hervorwachende bakterielle Begleitflora mutmaßlich zurückzuführen und insofern bei frühzeitiger Keimhemmung eine günstige Wirkung zu erwarten. Zu fürchten war aber möglicherweise eine Wachstumsdämpfung der Trichomonaden bei mehrfacher Passage von Antibiotika, da ja bei späterer Verimpfung der Spülprobe die Trichomonaden erneut einen Einfluss von Antibiotika ausgesetzt wurden. Allerdings war mir dieser Vorgang nur vom Aureomycin her bekannt und konnte bei Verwendung anderer Mittel fehlen. Mit einer wirksamen Keimhemmung waren jedoch in der Spülflüssigkeit noch nicht alle mutmaßlichen Noxen ausgeschaltet, selbst unter der Annahme, dass die physiologische Kochsalzlösung ein für Trichomonaden völlig neutrales Medium darstellt. Da ich inzwischen selbst eine grosse Zahl von Bullenspülproben abgenommen hatte, konnte ich folgende Erfahrung machen:

- a) Ein Teil der Bullen setzte bei der Abnahme vorhergehenden Reiz reflektorisch Harn ab. Selbst wenn die Bullen dann von selbst den Harnabsatz einstellten, blieb ein Teil des Harnes im Praeputialsack und vermischte sich bei der Abnahme der Spülproben mit demselben.
- b) Ein Teil der Bullen schiebt beim Harnabsatz den Penis fast bis zur Praeputialöffnung vor, wobei die Muskulatur des Praeputialsackes kontrahiert wird, sodass diese einen starken Tonus aufweist. Die Bullen setzen den Harn in einem dünnen Strahl ab. Bei ihnen wird wenig Harn im Vorhautsack retiniert. Ein anderer Teil der Bullen lässt beim Harnabsatz den Penis völlig in Ruhelage und verändert auch nicht den Zustand der Muskeln des Praeputialsackes. Bei diesen Tieren wird der Harn zunächst in den Vorhautsack abgesetzt, aus dem er träge, plätschernd ausfliesst. Bei ihnen wird viel Harn retiniert.
- c) Ein (sehr kleiner) Teil der Bullen wird bei der Abnahme der Spülprobe reflektorisch zum Harnabsatz gereizt. Die Spülprobe ist dann stark mit Harn versetzt.

-96-

Aus diesen Beobachtungen ist zu entnehmen, dass in Bullenspülproben die Trichomonaden neben dem Einfluss von Bakterien auch mitunter dem des Harns ausgesetzt sind. Bei einer Verimpfung der Spülprobe am Untersuchungsort konnte dieses Moment vernachlässigt werden, da beim Zentrifugieren der Harn vom Bodensatz (und den Trichomonaden) getrennt wird und nur der Bodensatz (mit höchstens geringen Harnteilen) in den Nährboden gelangt.

Für die Beurteilung der Haltbarkeit von Spülproben war es aber von Wichtigkeit. AEBLI (8) hat beobachtet, dass in nicht sterilem Harn Trichomonaden bereits nach 30 Minuten zugrunde gingen. Zu der beabsichtigten Versuchsserie verwendete ich die Spülproben von 13 Bullen, die bei mikroskopischer Prüfung der Spülprobe am Untersuchungsort als infiziert ermittelt worden waren. Ebenso war eine sofort angelegte Aureomycinkultur bei allen positiv ausgefallen. Die Spülproben eines jeden Bullen zentrifugierte ich darauf am Untersuchungsort sofort, goss die überstehende Flüssigkeit ab und schwemmte das Zentrifugat mit steriler physiologischer Kochsalzlösung erneut auf. Bei eventuellem Harnabsatz konnte darauf Urin nur noch in Spuren vorhanden sein. Für den beabsichtigten Versuch führte ich für jeden Bullen 12 steril verschlossene Zentrifugenröhrchen mit (paraffinierter Kork), von denen 3 je 5000 i.E. Penicillin (gewichtsanteilmässig bestimmt), 3 je 1 mg Streptomycin, 3 je 1 mg Aureomycin und 3 keinen Zusatz enthielten. Die zentrifugierte und wieder aufgeschwammte Spülprobe wurde nun in Mengen zu je 10 ccm auf die 12 Röhrchen verteilt, sodass die Spülproben selbst die darin in Substanz enthaltenen Antibiotika lösten. Die gefüllten Zentrifugenröhrchen wurden wieder verschlossen. Der Penicillinanteil der so versetzten Spülproben entsprach der von SCHNEIDER (85) angegebenen Konzentration.

Die Konzentration des Streptomycin und des Aureomycin in den betreffenden Röhrchen war 1 : 10 000. Auf die Temperatur wurde diesmal keine Rücksicht genommen. Sie hielt sich auf dem höchstens 5stündigen Transport in mässiger Höhe (Tages Temperatur März/April 1951), während nach Ankunft im Labor die Spülproben bei Zimmertemperatur (18 Grad) abgestellt wurden. Nach 18, 48 und 72 Stunden (einschliesslich Transportzeit) wurde eine mit Penicillin, eine mit Streptomycin und eine mit Aureomycin versetzte Spülprobe und eine solche ohne Zusätze zentrifugiert, der Bodensatz unter dem Mikroskop auf Trichomonaden geprüft und gleichzeitig auf Nährböden mit einem Aureomycin-zusatz von 200 Gamma je ccm Nährboden verimpft. Die Kulturen wurden bebrütet und nach 2 und 3 Tagen auf Trichomonaden untersucht.

Die Ergebnisse waren:

- 97 -

Tabelle 17

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

Ird. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Zusatz	Vari mp f t n a c h					
			18 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
			a	b	a	b	a	b
1	H. in B.	Pa.	+	(+)	+	(+)	+	-
		Str.	+	(+)	+	(+)	+	-
		Au.	+	(+)	+	-	-	-
		ohne	+	(+)	-	-	-	-
2	7896 in J.	Pa.	+	(+)	+	-	-	-
		Str.	+	+	-	-	-	-
		Au.	+	-	+	-	+	-
		ohne	+	-	-	-	-	-
3	7038 in J.	Pa.	-	-	-	-	-	-
		Str.	+	-	+	-	+	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
4	H. in J.	Pa.	-	-	-	-	-	-
		Str.	-	-	-	-	-	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
5	P. in J.	Pa.	+	-	+	-	-	-
		Str.	+	(+)	-	-	-	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
6	H.1 in J.	Pa.	+	-	+	(+)	-	-
		Str.	+	-	+	-	+	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
7	H.2 in J.	Pa.	-	-	-	-	-	-
		Str.	+	-	+	-	+	-
		Au.	+	-	+	-	+	-
		ohne	-	-	-	-	-	-

- 98 -

Tabelle 17 (Forts.)

lfd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Zusatz	Verimpft nach					
			18 Stunden		48 Stunden		72 Stunden	
			a	b	a	b	a	b
8	O. in I.	Pe.	+	+	-	-	-	-
		Str.	+	+	+	+	+	(+)
		Au.	+	(+)	+	-	+	-
		ohne	+	(+)	+	-	-	-
9	M. in I.	Pe.	-	-	-	-	-	-
		Str.	+	-	+	-	+	-
		Au.	+	-	+	-	+	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
10	T. in I.	Pe.	-	-	-	-	-	-
		Str.	-	-	-	-	-	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
11	W. in N.	Pe.	-	-	-	-	-	-
		Str.	-	(+)	-	-	-	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
12	J. in Sch.	Pe.	+	+	+	(+)	+	-
		Str.	+	+	+	+	+	(+)
		Au.	+	(+)	+	-	+	-
		ohne	-	-	-	-	-	-
13	J.2 in Sch.	Pe.	+	+	-	-	-	-
		Str.	+	-	+	-	+	-
		Au.	-	-	-	-	-	-
		ohne	+	(+)	-	-	-	-

Zeichenerklärung: a = mikroskop.Trichomonadenbefund der Spülprobe bei der Verimpfung
 b = Kulturbefund nach 48 Stunden
 Pe = Penicillinzusatz zur Spülprobe
 Str = Streptomycinzusatz " "
 Au = Aureomycinzusatz " "
 ohne = ohne Zusatz

- 99 -

* unter der Rubrik a (mikroskopischer Befund) bedeutet Nachweis von Trichomonaden im Zentrifugat der Spülprobe ohne Rücksicht auf ihre Zahl (Dichte).

Besprechung der Ergebnisse:

Nachdem die Trichomonaden in Spülproben sofort nach deren Abnahme unter der keimhemmenden Wirkung von Penicillin, Streptomycin und Aureomycin gehalten worden waren, ergab sich, dass mit Streptomycin die besten Ergebnisse erzielt worden waren. Von den 13 ursprünglich mikroskopisch und kulturell diagnostizierbaren Spülproben waren bei Streptomycinzusatz nach 18 Stunden mikroskopisch noch 10 (= 77%), kulturell noch 6 (= 46%) diagnostizierbar. In einem Fall war die Kulturprobe positiv, obwohl bei Verimpfung des Zentrifugats in dieses mit dem Mikroskop keine Trichomonaden mehr gefunden worden waren.

Nach 48 Stunden konnten noch 8 Proben (= 61,5%) mikroskopisch und noch 3 kulturell (= 23%) richtig diagnostiziert werden. Nach 72 Stunden waren es mikroskopisch noch 7 Proben (= 53,8%), kulturell noch 2 (= 15,3%).

Bei Konservierung der Spülproben mit Penicillin waren nach 18 Stunden mikroskopisch noch 7 (= 53,8%), kulturell noch 5 (= 38,4%), nach 48 Stunden mikroskopisch noch 4 (= 30,7%), kulturell noch 3 (= 23%), nach 72 Stunden mikroskopisch noch 2 (= 15,3%), kulturell keine der Proben richtig diagnostizierbar.

Bei Konservierung mit Aureomycin waren von den Proben nach 18 Stunden noch mikroskopisch 6 (= 46%), kulturell noch 3 (= 23%), nach 48 Stunden noch mikroskopisch 6 (= 46%), kulturell keine mehr, nach 72 Stunden noch mikroskopisch 5 (= 30,4%), kulturell keine mehr positiv diagnostizierbar.

Die Vergleichsreihe von Spülproben ohne jeden Konservierungszusatz ergab nach 18 Stunden mikroskopisch 4 (= 30,7%), kulturell noch 3 (= 23%) positive Befunde. Nach 48 Stunden waren mikroskopisch noch in 1 Spülprobe (= 7,7%), kulturell nirgends mehr Trichomonaden nachzuweisen. Nach 72 Stunden waren mikroskopisch und kulturell alle Proben negativ. Dieses Ergebnis der Versuchsreihe entspricht auch ungefähr dem des Versuches 4a, bei welchem von 11 unter Zimmertemperatur gehaltenen Spülproben nach 18 Stunden noch 3 (= 27,2%) und kulturell noch 4 (= 36,3%) positiv befunden wurden. Es hatte sich nur gering zu Ungunsten des kulturellen Befundes (36,3% : 23%) verschlechtert. Die Ergebnisse zeigten, dass ein sofortiger keimhemmender Zusatz die Spülproben günstig beeinflusst und in vielen Fällen die Trichomonaden vor dem Untergang schützte, sodass aus den so konservierten Spülproben noch nach geraumer Zeit mikroskopisch positive Befunde erhoben werden konnten.

- 100 -

Die (besten) Ergebnisse der mit Streptomycin versetzten Spülproben verhielten sich zu den nicht vorbehandelten Spülproben nach

18 Stunden wie	10 : 4	(mikroskopischer Befund)
	oder	6 : 3 (kultureller Befund)
48 " wie	8 : 1	(mikroskopischer Befund)
	oder	3 : 0 (kultureller Befund)
72 " wie	7 : 0	(mikroskopischer Befund)
	oder	2 : 0 (kultureller Befund).

Demgegenüber fielen die anderen erprobten Antibiotika (Penicillin und Aureomycin) in ihrer Wirkung entscheidend zurück. Die Befunde ergaben ferner, dass die Verwendbarkeit der mit Streptomycin versetzten Spülproben weit weniger schnell absank als die der unvorbehandelten.

Freilich hatten von den 13 mit Streptomycin vorbehandelten Spülproben schon nach 18 Stunden nur 10 (= 77%) die Genauigkeit der am Untersuchungsort vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung eines Nativpräparates oder des Befundes einer dort beimpften Kultur (= 100%) erreicht.

Nur mit der Kulturmethode waren bei Verimpfung nach 18 Stunden nur noch 6 (= 46%) zu diagnostizieren.

Auffallend war, dass bei allen antibiotischen Zusätzen der mikroskopische Nachweis der Protozoen im Gegensatz zum Kulturversuch bedeutend häufiger und länger gelang. Besonders deutlich war dies beim Aureomycinzusatz festzustellen, wo sich das mikroskopische Ergebnis von 18 - 72 Stunden kaum verschlechterte (6:6:5), während das Kulturergebnis weit zurückblieb und auch schnell absank. (3:0:0). Es fiel auch auf, dass bei der mikroskopischen Prüfung des Zentrifugates vor der Beimpfung bereits nach 18 Stunden und bei allen benutzten Antibiotika die Flagellaten morphologische Eigenarten aufwiesen. Sie waren etwas runder als die beim Bullen gewöhnlich vorgefundenen Formen, sehr beweglich, doch häufig wie konglomeriert zusammenklebend. Diese Konglomerate kreisten zum Teil durch die intensive Bewegung der Trichomonaden im Gesichtsfeld. Manchmal war die Konglomeration nicht so stark, doch waren dann oft die Geißeln der Flagellaten verkettet. Einige Male fand ich die Trichomonaden ebenso mit Erythrozyten konglomeriert. Auch hier war dann die Bewegung heftig, aber mehr im Kreis drehend als lokomotorisch. Wenn auch anzunehmen ist, dass es sich hier um Folgen der Einwirkung der Antibiotika handelt, so kann daraus zunächst weiter kein Schluss gezogen werden. Bedenkt man aber, dass es auch AEBLI (B) gelang, Trichomonaden nach verschiedenen Belastungen wieder be-

- 101 -

wegungsfähig zu sehen, und ihm dann doch die Weiterzucht misslang, und berücksichtigt man die mässigen Kulturbefunde aus den vorbehandelten Spülproben der vorstehenden Versuchsreihe vergleichend mit den weit besseren mikroskopischen Untersuchungsergebnissen, so stützt das den Verdacht, daß durch die antibiotischen Zusätze an der Protozoenzelle Einflüsse geltend wurden, die deren Vermehrungsfunktion zum Teil irreversibel hemmten, ohne die Zelle zu töten oder an der Bewegung zu hindern.

Zusammenfassung:

Da nach 18 Stunden bei (dem am brauchbarsten errechnenden) Streptomycinzusatz nur noch 77% der Spülproben zur Diagnose geeignet waren, kann eine solche Vorbehandlung von Spülproben zur Haltbarmachung zwecks späterer Diagnose nicht genügen. Zur Verwendung für den Kulturversuch waren nach 18 Stunden nur noch 46% der Spülproben geeignet, sodass in dieser Beziehung eine Vorbehandlung mit Streptomycin noch weniger brauchbar erscheint. Aus den Versuchsergebnissen war zunächst nicht zu ersehen, woraus die Versagerprozentage resultierten. Sie waren bei den 48 und 72 Stunden alten Spülproben möglicherweise auf Überalterung der Trichomonaden zurückzuführen, was bei 18 Stunden jedoch unwahrscheinlich erschien. Ein ungünstiger Harnseinfluss war durch die Versuchsanordnung ausgeschlossen. Von sonstigen Noxen, soweit solche bis jetzt für Trichomonaden bekannt sind, war denkbar, dass die Streptomycindosis in den Spülproben entweder zu hoch war, sodass toxische Einflüsse die Protozoenzelle schädigten und so die Befunde verschlechterten. Dafür sprachen die schlechten kulturellen Ergebnisse, denen zufolge die schon in der Spülprobe durch das Streptomycin vorbelasteten Trichomonaden schliesslich dem Aureomycineinfluss in der Kultur erlegen sein konnten.

Ebenso konnte die Dosis aber auch zu gering gewesen sein, sodass die Trichomonaden durch ungenügende Keimhemmung von den Begleitbakterien geschädigt worden waren. Dafür sprach einerseits die Tatsache, dass beim Ausstreichen von Proben des Zentrifugats auf Agarplatten immer noch (und bei allen Antibiotika) Bakterienwachstum in spärlichem Ausmass festgestellt wurde. Andererseits hätte jedoch ein schädigendes Keimwachstum die mikroskopischen Resultate in gleichem Umfang verschlechtern müssen, wie die kulturellen. Nach allem, was diesbezüglich bisher bekannt ist und auch nach meinen eigenen Beobachtungen unterliegen nämlich die Trichomonaden bei ungenügender gemelter Bakterienflora rasch und völlig. Eine Teilerschädigung z.B. nur hinsichtlich der Vermehrungsfähigkeit in Kulturen ist noch nicht beobachtet worden.

- 102 -

Versuchsreihe 4a: Versuch der Konservierung von Bullenspülproben durch verschiedene Streptomycinkonzentrationen.

Um über diese Möglichkeiten Klarheit zu erlangen, wurden die Spülproben von 5 nachweislich infizierten Bullen genau wie beim vorigen Versuch gewonnen und vorbehandelt. Nun führte ich für jede Spülprobe 6 Zentrifugenröhrchen mit, von denen je eines 1 mg, 2 mg, 5 mg und 10 mg Streptomycin steril verkorkt (Paraffinüberzug) enthielt, 3 waren leer und steril verkorkt. Sofort nach Abnahme wurde die jeweilige Spülprobe zentrifugiert und mikroskopisch untersucht (eukl. pos.), sowie eine Aureomycinkultur angelegt (4 der 5 positiv). Der Rest der Spülprobe wurde zu je 10 ccm auf die 6 Gläschen verteilt, sodass diese zunächst Spülproben mit Konzentrationen von 1:10000, 1:5000, 1:2000 enthielten. Den Spülproben in den leeren Zentrifugenröhrchen wurde nun eine Streptomycin-aufschwemmung hinzugegeben, sodass die eine Spülprobe 500 Gamma (= 1:20000), die andere 100 Gamma (= 1:100000) Streptomycin enthielt. Dabei wurde 1 mg Streptomycin mit 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt, wovon dem einen Röhrchen 0,5 ccm, dem anderen 1 ccm zugesetzt wurden. Ein Auswägen so kleiner Mengen Trockensubstanz war mir nicht möglich. Es wurde Streptomycinsulfat verwendet. In je einem Gläschen blieb die Spülprobe als Kontrolle unvorbehandelt. Dann wurden die Spülproben 18 Stunden unter Zimmertemperatur (18 Grad) gehalten, danach zentrifugiert und mikroskopisch untersucht sowie auf je 2 Aureomycinkulturen verimpft, die nach 48 Stunden untersucht wurden.

Die Ergebnisse waren folgende:

- 103 -

Tabelle 18

Zeichenerklärung wie Tabelle 17.

Ifd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Untersuchungsergebnis an	Untersuchungsergebnis nach 18 Stunden (18 Grad) und Streptomycinzusatz von													
			1:1000	1:2000	1:5000	1:10000	1:20000	1:100000	ohne							
			a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
1	W. in N.	+	+	+	-	+	(+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2	B. in St.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	B. in T.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
4	N. in T.	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
5	H. in I.	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6	F. in I.	+	+	+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-

Besprechung der Ergebnisse:

Die beste Haltbarkeit der Spülproben für den mikroskopischen Trichomonadennachweis im Nativpräparat nach 18 Stunden (bei 18 Grad C) war mit Streptomycinkonzentrationen von 1:5000 und 1:10000 erzielt worden. Bei beiden Konzentrationen waren noch 4 Spülproben (= 66,6%) positiv. Sowohl bei höheren (1:2000, 1:1000) wie auch bei geringeren Konzentrationen (1:20000, 1:100000) sanken die Ergebnisse rasch ab, aber auch bei einer Konzentration von 1:1000 lag das mikroskopische Ergebnis nicht unter 50% der ursprünglich positiven Fälle, während bei einer solchen von 1:100000 die positiven Ergebnisse nicht höher lagen als die einer unvorbehandelten Spülprobe.

Hinsichtlich der kulturellen Verwertbarkeit zeigte sich eine Konzentration von 1:20000 am verträglichsten. Hier waren noch 4 Spülproben (= 66,6%) auf Kultur überzählbar, davon 1, deren Zentrifugat bei der Überimpfung unter dem Mikroskop keine Trichomonaden erkennen liess. Bei einer Konzentration von 1:100000 sank die Verwertbarkeit rasch auf 33,3% (2 positive Spülproben) ab und war nicht günstiger als bei einer nicht vorbehandelten (Kontroll-) Spülprobe. Im Gegensatz zu den mikroskopischen sank die Zuverlässigkeit der kulturellen Ergebnisse bei höheren Streptomycinmengen bedeutend rascher ab und zwar auf 50% bei 1:10000 (mikroskopisch 66,6%),

- 104 -

33,3% bei 1:5000 (mikroskopisch 66,6%), 16,6% bei 1:2000 (mikroskopisch 50%). Bei einer Konzentration von 1:1000 gelang es mir in keinem der 6 Fälle, die Trichomonaden aus den Spülproben in Kulturen zum Wachstum zu bringen.

Die Tatsache, dass die Zuverlässigkeit der Kulturergebnisse von Konzentrationen ab 1:1000 aufwärts rascher abfällt als die Brauchbarkeit zur mikroskopischen Diagnose, lässt darauf schließen, dass hier eine Vergiftung der Trichomonaden durch das Streptomycin in den Spülproben beginnt, wodurch sie dem des Aureomycin in den Kulturen nicht mehr gewachsen sind.

Dass bei Konzentrationen unter 1:20000 die Ergebnisse nicht besser ausfielen als die der unvorbehandelten Kontrolle, lässt darauf schließen, dass bei diesen Verdünnungen der Streptomycinzusatz wirkungslos wird.

Zusammenfassung:

Freilich bleibt zu bedenken, dass die Verunreinigung von Spülproben bei der Abnahme schon grobsinnlich in weiten Grenzen schwankt und so auch die vorstehenden Ergebnisse nicht ohne weiteres verallgemeinert werden können und diese deshalb nur beschränkt Schlüsse zulassen.

Nach den Ergebnissen der Versuchsreihe 4 kann jedoch gesagt werden, dass das Streptomycin als Konservierungszusatz für Trichomonadenspülproben am geeignetsten ist. Die günstigste Konzentration lag bei 1:20000 und 1:10000 (1:20000 für Kulturmethode, 1:10000 für mikroskopische Diagnose). Morphologische und Beweglichkeitsveränderungen lassen darauf schließen, dass, wie Penicillin und Aureomycin, auch das Streptomycin, selbst in geringen Dosen, die Trichomonaden beeinflusst.

Bei keinem der angestellten Versuche konnte eine Konservierung erreicht werden, durch welche die Spülproben auch nur nach 18 Stunden bei 18 Grad C die ursprüngliche diagnostische Zuverlässigkeit behalten hätten. Die günstigsten Ergebnisse lagen bei 77% für die mikroskopische Auswertbarkeit und 50% für die Kulturmethode.

Sie blieben in allen Versuchen hinter der Zuverlässigkeit einer sofort nach Entnahme der Spülprobe beimpften Aureomycinkultur (Versuch 4b 100%, Versuch 4c 83%) zurück.

Demnach scheint in einem für Trichomonaden nährstofflosen, sonst aber neutralen Medium das Streptomycin keine Bedingungen schaffen zu können, welche einen Nachweis der Protozoen noch nach 18 Stunden und später mit Sicherheit aus diesem Medium ermöglichen. Eine Möglichkeit, durch einen Zusatz von Penicillin, Streptomycin oder Aureomycin Spülproben von Bullen für einen Transportweg zum Labor sicher haltbar zu machen, ohne dass

- 105 -

die Verwertbarkeit des Materials beeinträchtigt würde, wurde nicht gefunden.

Versuchsreihe 5: Versuche mit einer Kombination von Penicillin mit Streptomycin zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen.

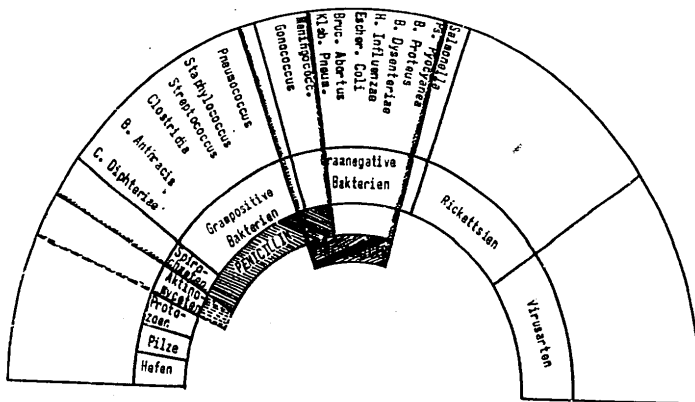
Nachdem es mir nicht gelungen war, eine Konservierung von Spülproben zum Zwecke einer späteren zuverlässigen Diagnostizierung zu finden, suchte ich eine andere Möglichkeit der Keimhemmung in den Kulturen zu ermitteln, welche die Nachteile des Aureomycin (Dämpfung des Trichomonadenwachstums, rasche Inaktivierung) nicht besitzt. Bereits bei den Versuchen der Reihe 4 war mir aufgefallen, dass das Streptomycin unter den erprobten antibiotischen Substanzen von den Trichomonaden am besten vertragen wurde.

Ich wollte daher eine Mischung von Penicillin und Streptomycin als Keimhemmungszusatz erproben, da das bisher bekannte Wirkungsspektrum der beiden Antibiotika zusammen das des Aureomycin sehr nahe kommt.

Nach den Feststellungen von JÄRETZ (53) besteht die Wirkung einer Kombination von Penicillin und Streptomycin nicht in einem einfachen additiven Effekt der beiden Mittel, sondern in einer echten Potenzierung (Synergismus).

Tabelle 19
(Nach PARK, DAVIS, CO.)

Wirkungsspektrum des Penicillin und Streptomycin



- 101 -

- 107 -

JAWETZ fand die Kombination gegen Enterokokken in Populationen wirksam, die weder von Penicillin noch von Streptomycin bei getrennter Anwendung und selbst hohen Konzentrationen gehemmt worden waren. Nach seinen Ergebnissen war dabei bereits mit 6 i.E. Penicillin pro ccm Nährlösung die optimale Zone erreicht und höhere Penicillindosen verbesserten das Ergebnis nicht mehr (= Zonenphänomen). Beim Streptomycin waren Konzentrationen von 25 - 100 Gamma pro ccm Nährlösung am wirksamsten. Die Penicillin-Streptomycin-Kombination bewirkte innerhalb 3 - 5 Tagen eine Abtötung der Enterokokken in der Nährlösung, die nach Probeentnahme, auch bei Zugabe einer entsprechenden Menge von Penicillinase, nicht mehr wuchsen. HOLLAND (49) bestätigte die Beobachtung von JAWETZ und fand die Penicillin-Streptomycin-Kombination grundsätzlich bei Mischinfektionen grampositiver und gramnegativer Erreger wirksam. Nach seinen Beobachtungen entspricht die Potenzierung durch die Kombination etwa der 10-fachen Penicillinwirkung (innerhalb des Penicillinspektrums). Desgleichen fand HUNTER (51) eine solche Kombination (10 i.E. Penicillin + 30 Gamma Streptomycin) gegen massive Einsaat von Streptococ. liq. in Kulturen äusserst schnell und sicher wirksam, wo weder mit Aureomycin noch mit Penicillin allein Hemmung oder Abtötung erreicht worden war. GÄTTUNG (36) testete die Wachstumshemmung verschiedener Erreger durch Penicillin-Streptomycin-Kombination und verglich sie mit der durch Streptomycin und Penicillin allein erzielten Hemmung (Filterpapierstreifen-Test nach VINCENT). Er fand bei der Kombination potenzierte Wirkung gegen Pneumokokken (I und II), Streptococcus haemolyticus und Staphylococcus aureus, sonst meist nur additive Wirkung. Bei Bact. coli fand er keine Streptomycineinwirkung, sodass hier kein synergistischer Hemmungseinfluss zu erwarten war. Doch ist auch Streptomycin allein nach HEILMAYER und WALTER (43) gegen Bact. coli gut wirksam. Nach WAKSMAN (97) ist die wirksame Hemmungskonzentration für Bact. coli höchstens 3,75 Gamma pro ccm Nährlösung, für Bact. subtilis 1 Gamma pro ccm, für Bact. proteus vulgaris höchstens 3 Gamma pro ccm, für Bact. pyocyaneus 25 Gamma pro ccm. Doch ist nach VOGEL (94) die Hemmung von der Höhe der Keimeinsaat abhängig.

In keinem Fall fand GÄTTUNG einen Antagonismus zwischen Penicillin und Streptomycin. Hinsichtlich des Wirkungsmechanismus scheint nach den Beobachtungen von GROS und MAHEROELF (39) das Penicillin an dem Mono-nucleotidstoffwechsel der Bakterienzelle anzugreifen, während LINZ (60) beim Streptomycin nach 4 Stunden eine maximale Fixation an den Bakterienleib beobachtete, wodurch eine irreversible Unterbindung der Zellteilung ausgelöst wurde (Mitosegift). Erst bei einem Anteil von 0,1 - 0,5% fixierten Streptomycin trat nach 4stündiger Latenzzeit vollständiger bakteriostatischer Effekt ein. Nach VOGEL (94) ist die Streptomycineinwirkung von der

- 108 -

Einsatzmenge der Bakterien abhängig. Sie wird durch Zuckerarten und Vitamin C, Sipsitol und Cystein gehemmt. Auch eine physikalische Hemmung durch Verdünnung des Streptomycin vom Ort seiner Adsorption soll vorkommen, doch ist hierüber nichts Näheres bekannt. pH-Optimum liegt bei 8,0 und nimmt bei saurem Milieu ab. Die Penicillineinwirkung wird durch Schwermetalle (Cu, Zn, Cd) und stark saures und stark alkalisches Milieu ungünstig beeinflusst. pH-Optimum liegt zwischen 4,5 - 7,0.

Hinsichtlich der Inaktivierung ist bekannt, dass das heute im Handel befindliche Penicillin-G-Natriumsalz in gelstem Zustand mindestens 3 Tage bei Normaltemperatur vollwirksam bleibt. (Nach: "Penicillinpräparate, Hoechst" und ihre therapeutische Anwendung, Schriftenreihe Arzneimittel "Hoechst", Bd.1), während Streptomycinlösungen (Streptomycinsulfat) bei Zimmertemperatur mindestens 1 Woche ohne nennenswerten Wirkungsverlust aufbewahrt werden können (nach dem Einlageprospekt der Firma Bayer, Leverkusen).

Bezüglich des Kombinationsverhältnisses (Penicillin : Streptomycin) schwanken die Angaben der Literatur. JAWETZ (53) verwendete bei seinen Versuchen eine Mischung von 6 Gamma Penicillin und 25 Gamma Streptomycin (= 1:4), HUNTER (51) eine solche von 10 i.E. Penicillin und 300 Gamma Streptomycin (= 1:3). Ein von der Firma Park, Davis & Co in den USA herausgebrachtes Kombinationspräparat "Penicillin-S-R" (soluble repository) enthält pro ccm 300 000 i.E. Procainpenicillin, 100 000 i.E. Penicillin-G-Natriumsalz und 1 mg Dihydrostreptomycinsulfat (4:10). (Nach: "Antibiotische Kombinationspräparate", Drug Trade News, vol.25.20 (1950). Ein ähnliches deutsches Mittel stellt das "Supracillin (400 000 i.E. Procainpenicillin : 100 000 i.E. Penicillin-G-Natriumsalz : 500 000 i.E. Dihydrostreptomycin) dar.

Da diese Kombinationsverhältnisse in der Hauptsache nach dem therapeutischen Effekt gewählt waren, gaben sie zunächst nur einen Anhalt für meine Versuche.

Für die Auswahl eines Kombinationsverhältnisses für meine Versuche ging ich von folgenden Überlegungen aus:

- 1.) Das Procainpenicillin ist an Novocain gebundenes Penicillin. Da Trichomonaden gegen das Novocain empfindlich sind, kam das Procainpenicillin für meine Versuche nicht in Frage.
- 2.) Nach den Feststellungen von GATTUNG (36) kommt bei einer Verwendung von Penicillin-Streptomycin-Kombination gegen das Bact.coli eine potenzierte, synergistische Wirkung nicht zustande. Die Hemmung des Bact.coli wird dabei allein durch den Streptomycineinfluss bewirkt. Nach den Ergebnissen des Versuchs 2 gehörte aber der überwiegende Teil der in Bullenaspülproben vorkommenden Begleitkeime entweder zur Coligruppe, oder es stand dieser

- 109 -

zumindest sehr nahe. Ich beschloss daher, für meine Versuche ein Kombinationsverhältnis 1 (Penicillin) : 4 (Streptomycin) zu wählen, um bei größtmöglichem Streptomycinanteil auf eine verhältnismässig geringe Gesamtdosis an Antibiotika zu kommen.

3.) Das Penicillin wird nicht in Gewichtseinheiten, sondern in Wirkungseinheiten, sogenannten i.E. dosiert, da in verschiedenen Fabrikationsgängen die Wirksamkeit bei gleichen Gewichten etwas schwankt. Im allgemeinen entspricht 1 mg Penicillin ungefähr 1200 - 1400 i.E.

Für meine Versuche beschloss ich die geringen Wirksamkeitsschwankungen der verschiedenen Penicillinfabrikate zu vernachlässigen und in Gewichtseinheiten zu dosieren. Das Streptomycin wird in Gewichtseinheiten dosiert. Nach VOGEL (94) entspricht die Einheit genau 1 Gamma der reinen Base, so dass 1 mg genau 1000 Einheiten entspricht. Als erstes suchte ich die Verträglichkeitsgrenze einer Penicillin-Streptomycin-Kombination des Verhältnisses 1:4 für Trichomonaden an Reinkulturen zu ermitteln.

Versuchsreihe 5a: Züchtung einer Trichomonadenreinkultur aus einer Bullenspülprobe.

Da die in Versuch 3a verwendete Reinkultur verloren gegangen und mir derzeit eine Reinzucht aus Sekreten weiblicher Tiere nicht möglich war, beschloss ich, eine solche aus einer Spülprobe eines infizierten Bullen zu gewinnen. Ich nahm die Aureomycinkulturen, die aus den Spülproben von 2 verschiedenen Bullen angegangen waren (L. in Sch. 1.Rezidiv, R. in Z. 1.Rezidiv) und untersuchte sie auf Begleitkeime (Ausatzich des Bodensatzes auf Agarplatte). Die reinste der 2 Kulturen (L. in Sch. 2.Rezidiv) verimpfte ich nun über 3 Streptomycinpassagen (300 Gamma pro ccm Nährboden) und schliesslich noch über eine Aureomycinpassage (200 Gamma pro ccm Nährboden). Für die erste Aureomycinpassage legte ich von der Ausgangskultur 3 Subkulturen an, von denen ich die 2 mit dem stärksten Trichomonadenwachstum nach 3 Tagen auf die 2.Streptomycinpassage weiterverimpfte, wobei von jeder der 2 Kulturen der 1.Streptomycinpassage 3 Nährböden der 2.Passage beimpft wurden. Ich war dabei bestrebt, die Verimpfungsproben knapp über den kompakten Bodensatz der Mutterkultur zu entnehmen, da ich beobachtet hatte, dass hier, dem mikroskopischen Eindruck nach, die Trichomonaden am reinsten zu finden waren. In der 2.Streptomycinpassage gingen mir von den 6 Kulturen 3 verloren. Sie zeigten nach 2, 3 und 4 Tagen kein Trichomonadenwachstum mehr. Die Flagellaten dürften hier dem wiederholten Einfluss der grossen Mengen von Antibiotika erlegen sein. Die verbliebenen 3 Kulturen, deren

- 110 -

Trichomonadendichte bereits deutlich herabgesetzt war, verimpfte ich auf je 3 Subkulturen der 3. Streptomycinpassage am 4. Tage weiter. Von den 9 Kulturen dieser Passage blieb bereits bei 5 das Trichomonadenwachstum nach 2, 3 und 4 Tagen aus, bei den restlichen 4 war die Dichte weiter zurückgegangen. Eine bakteriologische Prüfung (Ausstrich einer Bodensatzprobe auf Agar-Drigalski- und Phenolrotplatte) zeigte, dass noch Verunreinigungskolme und Bact. alkaligenes, zwar in geringer Menge, aber doch in sämtlichen 4 Kulturen enthalten waren. Ich verimpfte daraufhin die 4 Kulturen der 3. Streptomycinpassage auf je 3 Nährböden mit 200 Gamma Aureomycin pro com Nährboden weiter. Von den 12 Subkulturen dieser Passage zeigten nach 2, 3, 4 und 5 Tagen 8 kein Trichomonadenwachstum mehr. 4 Subkulturen zeigten noch ganz geringes Wachstum.

Die bakteriologische Prüfung durch Ausstrich einer Bodensatzprobe ergab bei 2 Kulturen der Aureomycinpassage noch geringes Bakterienwachstum (Verunreinigungskolme), 2 Kulturen waren rein. Daraufhin wurden zur Provokation etwa noch vorhandenen Bakterienwachstums je eine Bodensatzprobe in Traubenzuckerbouillon angereichert und erneut auf Agarplatten ausgestrichen. Der Plattenbefund verlief wieder negativ.

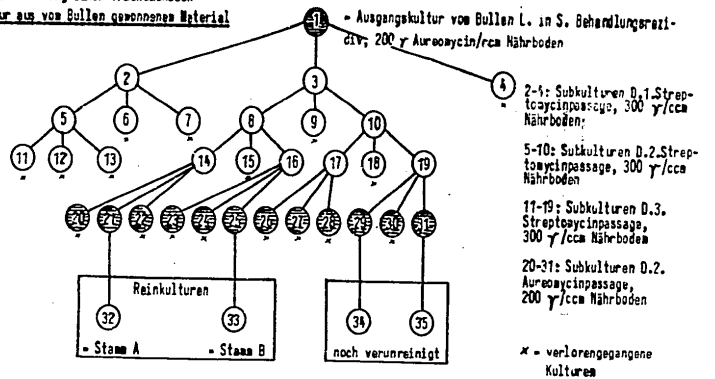
Die beiden Reinkulturen wurden nun als Stamm A und B auf Schleißheimer Trichomonaden-Nährböden ohne jeden Zusatz weitergezüchtet, wobei alle 3 Tage auf neue Nährböden überimpft wurde. Das Trichomonadenwachstum war bis zur 3. Passage (ohne Zusatz) noch gedämpft, nahm jedoch in steigendem Maße zu und stellte sich von der 3. Passage ab auf die mir von den Reinkulturen aus Versuch 3 bekannte maximale Dichte ein.

Nach jeweils 3 Tagen hatten die Kulturen den Höhepunkt des Wachstums erreicht und wurden überzüchtet, da sie vom 4. Tag ab rasch verfielen. Insgesamt wurden die Reinkulturen (beide Stämme) über 18 Passagen ohne jeden keimhemmenden Zusatz fortgezüchtet. Dann gab ich die Weiterzüchtung auf.

Das nachstehende Schema kann natürlich nur als Anhalt genommen und nicht verallgemeinert werden. Es zeigt, dass über alle Passagen nur schließlich in 4 Kulturen die Trichomonaden dem toxischen Einfluss der Antibiotika nicht erlagen. Dass in der gleichen Passagenreihe mehrfach Kulturen eingingen und andere erhalten blieben, führe ich auf die Beimpfung zurück (je 1 Tropfen aus dem Überstand des Bodensatzes der Mutterkultur auf die Subkulturen), die natürlich hinsichtlich der Dichte schwankte; auch mögen die Trichomonaden in den verschiedenen Vegetationsphasen (z.B. Teilungsphase) gegen die volle Wirkung der Antibiotika ungleich empfindlich sein.

Labelle 20

Schema der Züchtung einer Trichomonaden-
reinkultur aus vom Bullen gewonnenem Material



Bei dem Reinzuchtversuch ging ich von vornherein nicht nach einem bestimmten Schema vor, sondern von dem Gedanken aus, die Flagellaten unter höchstmögliche Dosen von Antibiotika zu setzen, sodass sie gerade noch am Leben blieben und diesen Prozess so lange fortzusetzen, bis eben alle Begleitbakterien vernichtet waren. Im Wechsel verwendete ich dabei das als wirksam erkannte Aureomycin und Streptomycin. Die Ausgangskultur war insofern für den Versuch besonders geeignet, als sie von Anfang besonders keimarm war und erfahrungsgemäß die Kultivierung der Trichomonaden aus den Spülproben dieses Bullen besonders gut gelang. So ist mir bei einem späteren Versuch die reine Isolierung von Trichomonaden aus einer stärker verunreinigten Spülprobe eines anderen Bullen nicht völlig gelungen.

Als Erfahrung kann vielleicht gesagt werden, dass es darauf ankommt, die Trichomonaden in kurz aufeinander folgenden Passagen unter hohen Dosen von Antibiotika zu halten, wobei es aber fraglich bleibt, ob alle Begleitbakterien abgetötet sind, bevor die Trichomonaden der toxischen Nebenwirkung der keimhemmenden Stoffe erlegen sind.

Versuchsreihe 5b: Untersuchung der Verträglichkeit einer Kombination von Penicillin mit Streptomycin (1:4) auf Trichomonaden in Kulturen.

Um die Verträglichkeit einer Penicillin-Streptomycin-Kombination des Verhältnisses 1:4 für Trichomonaden in Kulturen zu untersuchen, verwendete ich die ohne Keimhemmungszusätze gezüchtete 5. Passage der aus dem Versuch 5a erhaltenen Reinkulturen. Diese Passage zeigte bei beiden Stämmen optimales Wachstum und unter dem Mikroskop keinerlei entartete Formen, sodass anzunehmen war, dass die Trichomonaden nicht mehr unter dem Einfluss der Antibiotika standen. Von jedem Stamm wurden jeweils 18 Nährböden beimpft, von denen immer je dreien

25 i.E. Penicillin	+ 100 Gamma Streptomycin	(= Rubrik a der Tab.21)
40 " "	+ 160 " "	(= " b " " ")
60 " "	+ 240 " "	(= " c " " ")
80 " "	+ 320 " "	(= " d " " ")
100 " "	+ 400 " "	(= " e " " ")
120 " "	+ 480 " "	(= " f " " ")

pro cem Nährboden zugesetzt waren. Um genaue Dosierungen zu erreichen, wurden die Antibiotika in Lösungen zugesetzt. Beimpft wurde jeweils mit 1 Tropfen Bodensatz der 5. Passage der Reinzucht, die Versuchskulturen sofort danach mit flüssigem Paraffin überschichtet und in den Brutschrank verbracht. Nach 2, 3, 4 und 5 Tagen wurden die Ergebnisse abgelesen. Sie waren:

- 113 -

Tabelle 21

Ausgangs- kultur	Versuchs- kultur	Trichomonadenwachstum in Kulturen unter Einfluss einer Penicillin-Streptomycin-Kombination 1:4					
		a	b	c	d	e	f
Reinkultur	1	+++2	+++2	+++3	+++4	+++3	(+)4
Stamm A	2	+++2	+++2	+++3	+++3	+++5	-
5. Passage	3	+++2	+++3	+++2	+++3	+++3	-
Reinkultur	4	+++3	+++2	+++3	+++5	+++3	-
Stamm B	5	+++2	+++3	+++4	+++4	+++5	+++4
5. Passage	6	+++2	+++3	+++3	+++4	+++4	+++3

Zeichenerklärung: + = 1 Trichomade je Gesichtsfeld Objekt, 6, Ok. 4
 ++ = 5-10 " " " " " "
 +++ = dichtestes Wachstum, ca. 100 Trichomonaden/Ges.feld

2 = Wachstumsoptimum nach 2 Tagen
 3 = " " " 3 "
 4 = " " " 4 "
 5 = " " " 5 "

Besprechung der Ergebnisse:

Bei einem Zusatz von 80 i.E. Penicillin und 320 Gamma Streptomycin pro cem Nährboden zeigten Reinkulturen von Trichomonaden keine Verminderung der Wachstumsintensität, doch trat das Optimum der Kulturdichte etwas später, d.h. erst am 4. oder 5. Tag ein, während es bei geringeren Dosen schon am 2. oder 3. Tag erreicht war. Von einem Zusatz von 100 i.E. Penicillin und 400 Gamma Streptomycin je cem Nährboden ab trat Verminderung der Wachstumsdichte allmählich und zunehmend ein.

Bei Verwendung einer Penicillin-Streptomycinkombination im Verhältnis 1:4 zur Hemmung der Begleitflora in Trichomonadenkulturen lag die Verträglichkeitsgrenze bei 80 i.E. Penicillin (G-Natriumsalz) und 320 Gamma Streptomycin (Sulfat) pro cem Nährboden.

- 114 -

Versuchsreihe 5a: Untersuchung der Brauchbarkeit einer Kombination von Penicillin mit Streptomycin als Keimhemmungszusatz zu diagnostischen Trichomonadenkulturen.

Im folgenden sollte die Brauchbarkeit der Penicillin-Streptomycin-Kombination zur Keimhemmung bei der kulturellen Diagnose infizierter Bullen untersucht werden. Ich beschloss die oberste aus Versuch 5b ermittelte verträgliche Dosis zu verwenden. Um eine möglichst einfache Arbeitstechnik zu gebrauchen und einem unnötigen Verschleiß von Antibiotika zu begegnen, setzte ich nun das Streptomycin in Substanz zu (da die Reste nicht gebrauchter Lösungen oft hätten weggeschüttet werden müssen). Ein Kulturröhrchen enthielt jeweils 3 ccm Schleihheimer Trichomonadennährboden. Daraus errechnete sich ein Zusatz pro Nährboden von 240 i.E. Penicillin und 960 Gamma Streptomycin. Da die für mich kleinste abwägbar Menge 1 mg betrug, erhöhte ich den Zusatz geringfügig auf 250 i.E. Penicillin und 1000 Gamma Streptomycin pro 3 ccm Nährboden.

Die Keimhemmungsfähigkeit dieser Kombination an Bakterienstämmen zu erproben, musste unnötig erscheinen, da bereits die Versuche mit Aureomycin ergeben hatten, dass eine grosse Gruppe der Begleitbakterien nur bakterio-statisch beeinflusst wurde, aber dieser Effekt trotzdem für ein Trichomonadenwachstum genügte. Eine nicht erfolgte Abtötung von Bakterien durch die Kombination bei einem entsprechenden Versuch hätte also nichts gegen deren Verwendbarkeit zur kulturellen Trichomonadendiagnose ausgesagt. Beweisend konnte also nur eine möglichst grosse Reihe von Kulturversuchen aus Spülproben infizierter Bullen sein.

Die Ergebnisse meiner Kulturversuche mit Aureomycin hatten ergeben, dass trotz einer Reihe von Versagerfällen eine ebenso grosse Anzahl von Bullen nur durch das Kulturverfahren als infiziert ermittelt werden konnte. Die damalige Leiter der Abteilung für Unfruchtbarkeitsbekämpfung des RGD. (Prof. Dr. Abelein) beschloss daher, bei allen Untersuchungen von Bullen auf Trichomonadeninfektion, die dem RGD. überstellt wurden, neben der mikroskopischen Prüfung den Kulturversuch vergleichend anstellen zu lassen. Die in der folgenden Aufstellung enthaltenen Bullen wurden von den Sterilitäts-tierärzten des RGD., Stelle Schleihheim (Dr. Hessel und Dr. Seyerl), zum kleineren Teil auch von mir, am Standort der Tiere untersucht. Nach der wie in Versuch 1 beschriebenen Abnahme der Spülprobe wurde diese von Hand zentrifugiert und 1 Tropfen des Bodensatzes mikroskopisch auf Trichomonaden untersucht. Ohne Rücksicht auf dieses Ergebnis wurden jeweils 1 - 2 weitere Tropfen des Zentrifugats auf einen mitgeführten Schleihheimer Nährboden verimpft.

- 115 -

Die Nährböden vorsetzte ich jeweils vor der Abfahrt der untersuchenden Tierärzte im Labor mit 250 i.E. Penicillin und 1 mg Streptomycin, worauf sie mit Gummistopfen steril verschlossen wurden. Nach Wiedereintreffen im Labor wurden die inzwischen beimpften Nährböden mit flüssigem Paraffin überschichtet, in den Brutschrank verbracht, und nach 2, 3 und 4 Tagen abgelesen. Besonders wurde noch die vom Zusatz der Antibiotika bis zur Einlage in den Brutschrank verstrichene Zeit registriert. Um ein Urteil über die Leistungsfähigkeit der Penicillin-Streptomycinkombination zu finden, wurde zunächst von jedem Bullen eine Aureomycinkultur (200 Gamma/Cocm Nährboden) und eine Penicillin-Streptomycinkultur angelegt.

Die Ergebnisse waren:

Tabelle 22

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

lfd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund a. Nativprobe	Kulturbefund bei Zusatz v. Penicillin Streptomycin	Aureomycin	Zeitintervall in Stunden	Bemerkungen
1	3063 in Z.	+	++	-	96	
2	H. in Z.	+	++	-	96	
3	R. in Z.	+	+	-	96	
4	R.2 in Z.	+	+	-	96	
5	N. in B.	+	++	-	96	
6	P. in B.	+	+	-	96	
7	O. in B.	+	+	(+)	96	
8	B. in B.	+	(+)	-	96	
9	M.1 in B.	-	-	-	26	Bei 2. Unters. Kultur +
10	K.1 in B.	+	-	-	26	" "
11	K.2 in B.	+	-	-	26	" "
12	D. in B.	+	-	-	26	" "

- 116 -

Tabelle 22 (Forts.)

lfd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund d. Nativprobe	Kulturbefund bei Zusatz v. Penicillin Streptomycin	Aurocomycin	Zeitintervall in Stunden	Bemerkungen
13	H. in B.	-	-	-	26	Bei 2. Unt. Kultur +
14	M.2 in B.	+	-	-	26	" " "
15	G. in H.	-	-	-	18	
16	V. in J.	-	-	-	26	
17	H. in U.	-	-	-	25	
18	B. in F.	-	+	+	14	
19	R. in R.	+	(+)	-	48	
20	H. in R.	-	+	+	48	
21	283 in R.	-	-	-	48	
22	1 in B.	-	-	-	18	
23	2 in B.	-	-	-	18	
24	3 in B.	-	-	-	18	
25	4 in B.	-	-	-	18	
26	5 in B.	-	+	-	18	
27	6 in B.	-	-	-	18	
28	M. in E.	-	(+)	-	28	
29	G. in E.	-	(+)	-	28	
30	P. in E.	+	+	(+)	28	
31	G. in E.	+	+	+	28	
32	D.1 in S.	-	-	-	28	
33	D.2 in S.	-	-	-	28	

- 117 -

Tabelle 22 (Forts.)

ifd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund d. Nativprobe	Kulturbefund bei Zusatz v. Penicillin Streptomycin	Au-omycin	Zeitintervall in Stunden	Bemerkungen
34	M. in G.	-	-	-	19	
35	G. in L.	+	+	(+)	16	
36	B. in Z.	-	-	-	27	
37	G. in Z.	-	-	-	27	
38	W.2 in N.	-	+	+	14	
39	W.1 in N.	+	+		32	
40	R. in L.	+	-		32	Sagrotan
41	B. in L.	-	-		32	
42	W.2 in L.	-	-		32	
43	N. in B.	-	-		18	
44	N.1 in B.	-	-		18	
45	N.2 in B.	-	-		18	
46	P. in L.	+	-		96	Versager
47	K. in L.	-	-		29	
48	P. in Sch.	+	-		34	
49	H. in Sch.	+	++		34	
50	T. in Sch.	+	++		34	
51	W. in Sch.	+	+		34	
52	T. in L.	+	+		34	
53	P. in L.	+	+		34	
54	P.2 in L.	+	+		34	
55	Sch. in D.	+	+		34	

- 118 -

Tabelle 22 (Forts.)

1fd. Nr.	Nenns d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund d. Nativprobe	Kulturbefund bei Zusatz v. Penicillin Streptomycin	Aureomycin	Zeitintervall in Stunden	Bemerkungen
56	S. in L.	+	-		34	
57	L. in I.	-	-		17	
58	O. in I.	+	+		17	
59	M. in I.	+	-		17	
60	B. in T.	+	++		30	
61	Ü. in T.	+	+		30	
62	Soh. in T.	-	+		30	
63	R. in O.	Einsend.	+		73	
64	M. in D.	+	++		42	
65	H. in F.	-	-		42	
66	H. in K.	-	-		40	
67	V. in M.	-	-		40	
68	K. in H.	-	-		35	
69	J. in H.	-	-		35	
70	P. in O.	-	-		35	
71	A. in I.	+	+		35	
72	W. in H.	-	+		14	
73	M. in J.	-	-		45	
74	K. in Soh.	-	-		45	
75	M. in H.	-	-		45	
76	P. in W.	+	-		31	
77	W. in W.	+	-		31	

- 119 -

Tabelle 22 (Forts.)

lfd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund d. Nativprobe	Kulturbefund bei Zusatz von Penicillin Streptomycin	Aureomycin	Zeitintervall in Stunden	Bemerkungen
78	P. in W.	-	-	-	31	
79	P. in W.	-	-	-	31	
80	P. in G.	+	-	-	31	
81	R. in G.	+	-	-	31	
82	T. in G.	+	-	-	31	
83	V. in L.	-	-	-	28	
84	W. in L.	-	-	-	28	
85	Z. in L.	-	-	-	28	
86	L. in L.	-	-	-	28	

Besprechung des Ergebnisses:

In der Versuchsreihe wurden insgesamt 86 der Infektion verdächtige Bullen untersucht.

Die Vergleichsreihe von Penicillin-Streptomycinkultur und Aureomycinkultur wurde nur bis zum 30. Bullen durchgeführt. Die Ergebnisse sprachen bis dahin klar zu Gunsten der Penicillin-Streptomycinkombination, sodass ich dann vergleichende Aureomycinkulturen nicht mehr ansetzte. Innerhalb der Vergleichsreihe wurde von den 38 untersuchten Bullen bei 22 eine Trichomonadeninfektion nachgewiesen. In 18 Fällen konnte die Infektion mit der Penicillin-Streptomycinkultur nachgewiesen (bzw. die mikroskopische Diagnose des Nativpräparates bestätigt) werden, während es mit der Aureomycinkultur nur in 7 Fällen gelang. Dabei waren die Zeitabstände vom Zusatz des Antibiotikums bis zur Bebrütung durchwegs sehr hoch. Die Aureomycinkulturen gelangen immer, wenn diese Zeiten noch relativ niedrig waren. Immerhin diagnostizierte die Aureomycinkultur unter den gegebenen Umständen nur 30,9% der Fälle, die in der Penicillin-Streptomycinkultur positiv befunden wurden.

- 120 -

Eine Kombination von 250 i.E. Penicillin mit 1 mg Streptomycin pro 3 ccm Nährboden scheint demnach einer Aureomycindosis von 200 Gamme/ccm Nährboden zur Keimhemmung in Trichomonadenkulturen aus Bullenspülproben überlegen zu sein.

Die Vergleichsreihe der mikroskopischen und kulturellen Befunde (Penicillin-Streptomycinkultur) erstreckte sich über 86 der Infektion verdächtige Bullen. Bei 50 dieser Tiere (= 58,1%) wurde bei der Untersuchung die Infektion dann nachgewiesen. In 26 Fällen war der mikroskopische Befund der Nativprobe und das Kulturergebnis gleichermaßen positiv (ebenso in 35 negativen Befundfällen). In 8 Fällen waren in dem Nativpräparat mikroskopisch keine Trichomonaden nachgewiesen worden, während dies im Kulturversuch hinterher gelang. In 15 Fällen gelang aus Nativproben, welche mikroskopisch als positiv diagnostiziert worden waren, der kulturelle Nachweis der Trichomonaden nicht (Versager).

Demnach waren von den infizierten Bullen 66% mit dem Kulturverfahren diagnostizierbar, durch sofortige mikroskopische Untersuchung einer Nativprobe aber 82%. Umgekehrt betrugen die Fehlerprocente bei der Kulturmethode 32%, bei der mikroskopischen 19%.

Somit war also die sofortige mikroskopische Untersuchung eines Nativpräparates dem Kulturverfahren hinsichtlich diagnostischer Genauigkeit überlegen. Immerhin waren von 86 verdächtigen Bullen 8 nur durch Kulturverfahren ermittelt worden, die ohne dasselbe der Diagnose entgangen wären und weiter angesteckt hätten. Ausserdem hatte das Kulturverfahren eine grosse Belastungsfähigkeit gezeigt: Selbst bei 96stündigem Zeitintervall vom Zusatz der Antibiotika bis zur Bebrütung gelang der Nachweis von Trichomonaden in den Kulturen. Die Kulturen lfd.Nr. 1-8 (Tab.20) waren beimpft 3 Tage bei Zimmertemperatur abgestellt worden und danach erst zur Bebrütung gelangt. Sie ergaben positiven Befund.

Bei der lfd.Nr.26 und 27 waren dem untersuchenden Tierarzt die vorbereiteten Kulturen ausgegangen, sodass er aus den Zentrifugaten von 2 Bullen 1 Nährboden beimpfte. Die mikroskopische Prüfung beider Zentrifugate war negativ verlaufen. Der doppelt beimpfte Nährboden wies Trichomonaden auf. Eine daraufhin nochmals angestellte Untersuchung bestätigte bei einem der beiden Bullen die vorliegende Infektion.

Bei der gezeigten Belastungsfähigkeit mussten die Kulturen auch versandfähig sein, da sie bis zum Eintreffen im Labor kaum günstigeren Bedingungen ausgesetzt waren als solche bei Postversand bestanden. Um dies zu beweisen, bat ich einen praktizierenden Tierarzt (Dr. R. in G.), der das

- 121 -

öfteren Spülproben eines verdächtigen Bullen an die Bayer-Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung eingesandt hatte, in welchen nie Trichomonaden gefunden worden waren, aus dem Zentrifugat einer Spülprobe dieses Bullen eine ihm überlassene Kultur zu beimpfen und an die Bayer-Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung zu senden. Die Postversandzeit dieser Kultur (Tabelle 22 Nr.63) betrug etwas über 24 Stunden, die Antibiotika waren der Kultur bei Beginn der Bebrütung 73 Stunden zugesetzt. Der Befund der Kultur war positiv. Ich konnte aus Mangel an Möglichkeiten den Versuch leider nicht wiederholen. In seiner Einzelheit ist er natürlich noch nicht beweiskräftig.

Da in Versuch Nr.3f bei Anwendung von Aureomycinkulturen Kulturbefund und mikroskopischer Befund noch die gleichen Fehlerprozentage (beide 36,3%) aufgewiesen hatten, so hat sich in der vorstehenden Versuchsreihe - allerdings bei bedeutend höheren Zeitabständen vom Zusatz der Antibiotika bis zur Bebrütung der Kulturen - die Genauigkeit der kulturellen Methode gegenüber der mikroskopischen verschlechtert. Um hier ein genaues Urteil zu bekommen, war es notwendig, jeden kulturellen Versagerfall genau zu untersuchen, um etwa vermeidbare Fehler, die nicht in der Kulturmethode selbst lagen, zu finden und auszuschalten.

Als mögliche Gründe des Versagens von Kulturen wurden gefunden: lfd. Nr.10, 11, 12, 14 (Tabelle 22): Die Bullen K.1, K.2, D. und M. in B. ergaben am Untersuchungsort bei mikroskopischer Prüfung positiven Befund. Die aus den gleichen Zentrifugaten beimpften Kulturen wiesen nach Bebrütung kein Trichomonadenwachstum, jedoch bakterielle Trübung auf. Bei dem mehr als 12stündigen Transport waren die Kulturröhrchen mit Gummistopfen verschlossen in nasse Zellwatte verpackt gewesen. Die Kapillarkraft hatte dabei Feuchtigkeit aus der Zellwatte zwischen Gummistopfen und Glaswand des Kulturröhrchens angesogen, sodass die Flüssigkeit der Zellwatte mit dem Nährboden kommunizierte. Es ist anzunehmen, dass diese langanhaltende Verunreinigung durch die unsterile Feuchtigkeit der Zellwatte die Schuld an dem fehlerhaften Kulturergebnis trägt, da sämtliche so verpackten Kulturen Fehlergebnisse erbracht hatten. Ich hatte nach 14 Tagen nochmals Gelegenheit, von den genannten Bullen Spülproben abzunehmen und aus deren Zentrifugat Kulturen anzulegen. Sie fielen, bei Vermeidung der für das Versagen verdächtigen Umstände, sämtlich analog dem mikroskopischen Befund positiv aus. Bei dieser Gelegenheit wurden auch die Bullen M.2 (lfd.Nr.9, Tabelle 22) und H. (lfd.Nr.13, Tabelle 22) nochmals untersucht. Sie waren das erste Mal gesund befunden worden, mussten aber, da sie im versuchten Deckring gedeckt hatten, verdüchtig bleiben. Auch bei der 2.Untersuchung wurden bei

- 122 -

der mikroskopischen Prüfung der Spülproben keine Trichomonaden gefunden. Die aus den Zentrifugaten beimpften Kulturen zeigten nun aber ein positives Ergebnis. Hier war also bei dieser 2. Untersuchung die Kulturmethode der mikroskopischen Überlegen.

Lfd.Nr.40, Tabelle 22: In der Spülprobe des Bullen R. in L., der aus einem versuchten Deckring stammte, wurde im Nativpräparat unter dem Mikroskop eine einzige, nur noch schwach bewegliche Trichomonade gefunden. Die aus dem gleichen Zentrifugat beimpfte Kultur blieb negativ, allerdings ohne sich bakteriell zu trüben. Als vor der Abnahme der Spülprobe die Praeputialöffnung des Bullen mit Wasser und Seife gereinigt worden war, war das benutzte Wasser mit Sagrotan (1:100) versetzt worden. Trotz Abrocknens der Vorhautöffnung mögen noch Reste der Sagrotanlösung auf die Eichel-schleimhaut und so in die Spülprobe gelangt sein, als der Bulle vor der Probenentnahme hinter einer Kuh zur Erektion gereizt wurde. Auch berührte ich mit der Hand, die noch feucht von Sagrotanlösung war, die Penisschleimhaut des Bullen, als ich diesen beim Aufsprung von Decken abhielt.

Es besteht die Möglichkeit, dass dadurch etwas Sagrotan in die Spülprobe gelangt ist und die sehr empfindlichen Flagellaten geschädigt hat. Dafür spricht auch das Auffinden einer kaum noch bewegungsfähigen Trichomonade, während ich sonst in frischen Bullenspülproben durchwegs nur schlanke und äusserst lebhaft Protozoen vorfand. Eine zweite Überprüfende Untersuchung konnte ich bei diesem Bullen nicht mehr vornehmen.

Lfd.Nr.46, Tabelle 22: Der Bulle P. in L. wurde von einem Sterilitäts-tierarzt des RGD. untersucht; der mikroskopische Befund war positiv, das Kulturwachstum von Trichomonaden blieb aus. Der verwendete Nährboden war im Labor mit der Penicillin-Streptomycinkombination versehen worden und dann vor der Beimpfung noch 48 Stunden bei Zimmertemperatur gelagert worden. Von der Beimpfung bis zum Beginn der Eibrütung vergingen weitere 48 Stunden. Möglicherweise war nach dieser Zeit die Wirkung der antibiotischen Substanzen im Nährboden erschöpft, wenn dies auch im Gegensatz zu den Kulturen lfd.Nr. 1-8 (Tabelle 22) steht, die bei positivem Ergebnis den gleichen Belastungen ausgesetzt waren.

Lfd.Nr.48,56,59,76,78,80,81 und 82, Tabelle 22: Die negativen Kulturen dieser als infiziert ermittelten Bullen wiesen alle bakterielle Trübung auf, sodass hier scheinbar die Keimhemmung der Antibiotika nicht ausgereicht hatte. Auffallend war, dass diese Versagerfälle mit der heissen Jahreszeit zunehmen. Stellt man die in Tabelle 22 aufgezeichneten Untersuchungen monatweise zusammen, so ergibt sich folgendes Bild:

- 123 -

Nr. 1-37 entfällt auf Monat April (1951)
positive Fälle 21, davon mikroskopisch und kulturell ermittelt 12,
nur kulturell ermittelt 5,
nur mikroskopisch ermittelt 4.

Diese kulturellen Versager waren aber durch die vorbeschriebene falsche Behandlung der Kulturen (Verpackung in feuchter Zellwatte) zu erklären und wiederholten sich bei einer 2. Untersuchung nicht. Lässt man die Ergebnisse dieser 2. Untersuchung gelten, so verbessert sich das Ergebnis auf:

positive Fälle 23, davon mikroskopisch und kulturell ermittelt 16,
nur kulturell ermittelt 7,
nur mikroskopisch ermittelt 0.

Dies würde innerhalb der 37 untersuchten Fälle des Monats April kein kulturelles Fehlergebnis, dagegen 6 solche bei der mikroskopischen Untersuchung bedeuten.

Nr. 38-51 entfällt auf Monat Mai (1951)
positive Fälle 8, davon mikroskopisch und kulturell ermittelt 4,
nur kulturell ermittelt 1,
nur mikroskopisch ermittelt 3.

Eines dieser 3 Fehlergebnisse des Kulturverfahrens dürfte auf fehlerhafte Abnahmetechnik der Spülprobe (Sagrotawirkung) zurückzuführen sein. Damit bleiben 2 Fehlergebnisse möglicherweise zu Lasten der Kulturmethode selbst.

Nr. 52-72 entfällt auf Monat Juni (1951)
positive Fälle 15, davon mikroskopisch und kulturell ermittelt 10,
nur kulturell ermittelt 2,
nur mikroskopisch ermittelt 2,
1 positiver Fall wurde durch Einsendung

einer beimpften Kultur diagnostiziert, der mikroskopische Befund wurde dabei nicht erhoben. 2 Fehlergebnisse bleiben zu Lasten der Kulturmethode.

Nr. 73-86 entfällt auf Monat Juli (1951)
positive Fälle 6, davon mikroskopisch und kulturell ermittelt 0,
nur kulturell ermittelt 0,
nur mikroskopisch ermittelt 6.

Dieses Ergebnis erstreckt sich nur über eine kleine Anzahl von Fällen und ist daher hinsichtlich des Kulturbefundes besonders ungünstig. Immerhin hat der kulturelle Nachweis bei 13 Untersuchungen Gagal versagt, ohne dass dafür fehlerhafte Nebenumstände gefunden werden konnten.

Monatsweise aufgezeichnet ergibt sich für die Fehlergebnisse der Kulturmethode folgendes Bild:

- 124 -

April:	0
Mai:	2
Juni:	2
Juli:	6

Meinen Verdacht, dass die Häufung der Fehlergebnisse aus den Umständen der heisseren Jahreszeit resultierte, stützte ich auf folgende Beobachtungen: Veränderung der Nährböden: Die Nährböden wurden meist zu 50 - 100 Stück in der Nährbodenküche der Bayer-Landesanstalt zubereitet, auf pH = 7,5 eingestellt, sterilisiert und mit 10% inaktiviertem Rindserum versetzt. Um sie auf etwaigen Keimgehalt zu prüfen, kamen sie darauf 24 Stunden in den Brutschrank. Im Winter hatte sich dabei, nie eine Trübung durch Keimwachstum ergeben. In der wärmeren Jahreszeit mussten dagegen deshalb öfters Nährböden ausgeschieden werden. In 2 Serien trat zwar keine Trübung der Serumbouillon ein, doch bemerkte ich nach Tagen eine sehr feine, kaum sichtbare Schlammbildung am Grunde des Nährbodens im Kulturröhrchen. Ich sog diesen Schlamm mit der sterilen Pipette auf, strich ihn auf den Objektträger aus und färbte nach Gram.

Unter dem Mikroskop konnte ich feine, sehr lange, gramnegative Stäbchen feststellen, die jedoch auf Agar nicht zu züchten waren. (Auf Kulturen dieser Nährbodenserie wurden die Fehlergebnisse lfd.Nr. 46, 48 und 56, Tabelle 22, erhoben.) Auf dieser Nährbodenserie ging eine Reinkultur in der 3. Passage ein. Ich ging deshalb dazu über, jede frische Nährbodenserie mit einer Reinkultur zu erproben. Es zeigte sich dabei, dass das Wachstum der Trichomonadenkulturen auf den verschiedenen Serien in Grenzen schwankte. Es war teilweise sehr gut, teilweise nur mässig, auch wenn an den Nährböden selbst grob sinnlich nichts auszusetzen war. Auf der Suche nach Fehlern im Nährboden fand ich bei einer Serie (Juli 1951), dass nach 14 Tagen der ursprünglich auf 7,5 eingestellte pH-Wert nachträglich etwas ins Alkalische umgeschlagen hatte (festgestellt mit Indikatorpapier Bayer Nr.8). Ein Teil der kulturellen Fehlergebnisse in Versuch 5c dürfte auf diese Störungen der Nährböden zurückzuführen sein.

Versuchsreihe 5d: Verhältnis des Trichomonadenwachstums in Kulturen zur Virimpfungs-dosis.

Ein Teil der Kulturen in Versuch 5c hatte sich bei negativem Trichomonadenbefund bakteriell getrübt. Hier war als Fehlerquelle ein Versagen der Keimhemmung zu vermuten. Nach VOGEL (24) hängt das Keimhemmungsvormögen der Antibiotika in Nährböden von der Einsatzmenge der Bakterien ab. Um diesen

- 125 -

Faktor hinsichtlich der von mir benutzten Penicillin-Streptomycin-Kombination zu klären, stellte ich (parallel mit Versuch 5c) folgenden Versuch an:

Aus den Zentrifugaten der Spülproben von 6 Bullen aus Versuch 5c, welche sich mikroskopisch als trichomonadenpositiv erwiesen hatten, wurden jeweils 5 (mit Penicillin und Streptomycin versetzte) Nährböden beimpft. Die Beimpfung geschah so, dass jeweils dem 1. Nährboden 1 Tropfen, dem zweiten 2 Tropfen, dem dritten 4 Tropfen, dem vierten 6 Tropfen des Zentrifugats zugesetzt wurden. Für den 5. Nährboden wurde eine eigene Spülprobe (des gleichen Bullen) aus zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und nun der Nährboden über das Zentrifugandepot geschichtet, so dass hier der Nährboden das ganze Zentrifugat aus ca. 8 cm Spülprobe enthielt. Darauf wurden die Kulturröhrchen und das Zentrifugenglas der 5. Probe steril mit Gummistopfen verschlossen, transportiert, im Labor mit flüssigem Paraffin überschichtet, bebrütet und nach 3 Tagen abgelesen. Die Ergebnisse waren:

Tabelle 23

Zeichenerklärung für Trichomonadenwachstum wie Tabelle 7.

Ifd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Ifd. Nr. d. Tab. 22	Kultur				
			1	2	3	4	5
1	M. in Z.	2	++	+	+	+	-
2	R. in Z.	3	+	+	-x	-x	-x
3	R. in Z.	4	+	+	+	-x	-x
4	N. in B.	5	++	++	+	(+)	(+)
5	P. in B.	6	+	+	(+)x	(+)x	-x
6	O. in B.	7	+	(+)	(+)x	(+)x	-x

Zeichenerklärung: Kultur 1 = beimpft mit 1 Tropfen Zentrifugat

" 2 = " " 2 " "

" 3 = " " 4 " "

" 4 = " " 6 " "

" 5 = Nährboden auf Zentrifugat geschichtet

x = Trübung des Nährbodens.

Beaprechnung des Ergebnisses:

Kulturdichte und Zuverlässigkeit des Ergebnisses nahmen mit zunehmender Beimpfungsdosis ab. Sicht man von der Kulturdichte (die auch aus anderen Gründen schwanken mag) ab, so waren die Ergebnisse bei der Beimpfung mit 1 und 2 Tropfen gleich gut, bei 4 Tropfen nur in einem Fall ungünstiger. Bei 6 Tropfen Beimpfungsdosis war der Unterschied schon merklich.

Wenn der Nährboden über das Zentrifugat geschichtet wurde, waren 5 der 6 Kulturen negativ, die Nährböden gleichzeitig bakteriell getrübt. In 1 Kultur wurde am 3. Tag 1 Trichomonade gefunden, am 4. Tag schon war das Ergebnis negativ, auch trübte sich von da ab allmählich der Nährboden.

Die Form und Bewegung der aufgefundenen Trichomonaden war bei den höheren Verimpfungsdosen zunehmend verändert. Die Flagellaten waren meist rundlich, teilweise vergrößert, träg, teilweise nicht mehr lokomotorisch beweglich. Die einzige in Kultur 5 der lfd.Nr. 4 aufgefundene Trichomonade war rund, gross und bewegte nur noch die undulierende Membran.

Von lfd.Nr. 3 und 4 wurden aus jeder Kultur nach 3 Tagen Bodensatzproben entnommen und auf Agarplatte ausgestrichen. Aus allen Proben gingen Kolonien (nicht näher differenzierter) Verunreiniger an. Dabei war der Plattenbefund:

Tabelle 24

lfd.Nr. Tab.23	Name d.Bullen u.Standort	Agarplattenbefund an Verunreinigungskeimen in Kultur				
		Nr.1	2	3	4	5
3	R. in Z.	+	+	+++	+++	+++
4	N. in B.	(+)	++	++	++	+++

Zeichenerklärung: (+) = einzelne (nicht mehr als 5) Kol. auf der Platte
 + = ca. 1/4 der Platte mit Kol. besetzt
 ++ = ca. 1/2 " " " " "
 +++ = ca. 3/4 " " " " "

Das Ergebnis zeigte, dass mit der Verimpfungsdichte auch die Zahl der Keime wuchs, welche den keimhemmenden Zusatz passierten. Demnach muss eine möglichst geringe Verimpfungsdosis für ein zuverlässiges Kulturergebnis am günstigsten erweisen. Sämtliche Kulturen der Tabelle 23 wurden dann nur noch mit 1 Tropfen Zentrifugat beimpft. Wenn sich trotzdem dabei mindestens

- 127 -

10 Fälle ergaben, bei denen der Grund des Versagens in der Kulturmethode selbst zu suchen war, so legt das den Schluss nahe, dass hier die Keimeinsaat selbst bei Verimpfung eines Tropfens für die zugesetzten Antibiotika zu hoch war.

Ich habe nun beobachtet, dass sich Serumbouillonährböden (ohne Messungszusätze), die mit Verunreinigungskeimen infiziert wurden, bei warmen Tagestemperaturen (25-30 Grad) zunehmend eintrüben, d.h. also dass sich darin auch ohne Brutschrankwärme diese Keime vermehren.

Demgegenüber aber istiert der Vermehrungsprozess der Trichomonaden nach den Beobachtungen WITTES (104) unter 37 Grad C sehr rasch. Ich habe nun immer wieder gesehen, dass selbst in (unreinen) Trichomonadenkulturen, die zunächst sehr gutes Wachstum zeigten, nach Tagen (im Durchschnitt 4-8 Tage) mehr und mehr die Bakterienflora aufblühte und die Trichomonaden verdrängte. Da eine Anzahl Keime ja nicht abgetötet, sondern nur mehr oder weniger bakteriostatisch gehemmt werden, wuchern diese, sobald die Antibiotika inaktiviert sind, eben hervor. Demnach ginge in den Kulturen eine Art Wettlauf zwischen Trichomonaden- und Bakterienwachstum vor sich, der sich nach einiger Zeit (nach Inaktivierung der Antibiotika nämlich) immer zu Gunsten der Bakterien entscheidet, was letztlich gleichgültig ist, wenn bis dahin die Trichomonaden nachgewiesen werden konnten.

Unter günstigen Umständen unterdrücken die Antibiotika das Bakterienwachstum, während sich die Trichomonaden vermehren können. Betrachtet man nun die sich mit der warmen Jahreszeit verschlechternden Ergebnisse meiner Kulturbefunde und geht man von der Tatsache aus, dass sich gewisse Verunreinigungskeime auch bei Temperaturen von 25-30 Grad vermehren, so ergibt sich im Vergleich Winter zu Sommer folgende Situation:

Winter

Bei tiefen Tagestemperaturen sind in beimpften Kulturen weder Trichomonaden noch Begleitkeime vermehrungsfähig. Antibiotika bleiben bei kühlen Temperaturen lange aktiv.

Erst bei Verbringen in den Brutschrank herrscht für Begleitkeime und Trichomonaden Vermehrungstemperatur, dabei sind die geschonten Antibiotika noch voll wirksam.

Sommer

Bei warmen Tagestemperaturen können sich Begleitkeime schon vermehren, nicht aber Trichomonaden. Die Antibiotika inaktivieren sich rascher.

Bei Verbringen in den Brutschrank erst beginnt für Trichomonaden Vermehrungstemperatur, während eine solche für Begleitkeime seit der Beimpfung (die Transportzeit über) bestand. Bei Beginn der Gebrütung der Trichomonaden können die Antibiotika schon durch die Sommerwärme an Wirkung eingebüßt haben.

Diese Umstände, verbunden mit der im Sommer öfter beobachteten Störung der Nährböden, könnten die zunehmende Zahl von Versagerfällen der Kulturmethode in Versuch 5c erklären.

Folgerungen:

Um diesen Versagerfällen zu begegnen, müsste entweder die Dosis der Antibiotika vergrössert werden, um den bakterio-statischen Effekt zu erhöhen, oder die Verimpfungsdosis gesenkt werden, um die Keimemsaat zu verringern. Möglicherweise könnten auch die Ergebnisse verbessert werden, wenn die Kulturen sofort nach Beimpfung in den Brutschrank kämen, um den Trichomonaden frühzeitig die Voraussetzungen zur Vermehrung zu schaffen.

Was die Erhöhung der antibiotischen Zusätze anbelangt, so ist die Dosis mit der Verträglichkeit für Trichomonaden begrenzt. Nach meinen Versuchen wurde eine höhere Dosis als die in Versuch 5c benutzte von den Protozoen nicht ohne Schaden vertragen.

Eine geringere Verimpfungsdosis (1 Tropfen) muss dagegen die Genauigkeit der Kulturergebnisse in Frage stellen. Es gibt Bullen, die oft aussergewöhnlich wenig Trichomonaden im Praeputialsack beherbergen, sodass selbst in einem Tropfen des Zentrifugats der Spülprobe (d.i. ungefähr die unter dem Deckglas untersuchbare Menge) 1 oder gar keine Trichomnade gefunden wird. Wünschenswert wäre grundsätzlich eine möglichst grosse Beimpfungsdosis. Diese unter einen Tropfen zu senken, muss in Fällen spärlichen Befalls das Ergebnis ungenau machen.

Was schliesslich die Abkürzung der Zeit zwischen Beimpfung und Bebrütung anbelangt, so hängt diese von der Entfernung des Patienten vom Labor ab und ist über ein gewisses Maß nicht herabzudrücken. Mit einer hohen, diesbezüglichen Belastbarkeit der Kulturmethode steht und fällt deren Brauchbarkeit für die Praxis.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass nach den Ergebnissen der Versuche 5c und 5d die Kulturmethode unter Praxisbedingungen in 9 Fällen (= 17,3% d. positiven Fälle) aus den Spülproben von Bullen die Trichomonadeninfektion nachwies, wo eine mikroskopische Untersuchung am Standort des Patienten versagt hatte, während in mindestens 10 Fällen (= 19,2% d. positiven Fälle) die Kulturmethode versagt hatte, obwohl bei mikroskopischer Prüfung der Spülprobe Trichomonaden gefunden worden waren. Die Versagerquoten von mikroskopischer und kultureller Methode hielten sich beinahe die Waage (19,2% : 17,3%). Demnach ist die Kulturmethode in der beschriebenen Form zu ungenau, um die sofortige mikroskopische

- 129 -

Prüfung der Spülprobe am Standort des Bullen ganz zu ersetzen. Sie vermag jedoch häufig bei mikroskopischer Prüfung latent gubliobene Infektionsfälle aufzuklären, sodass auf sie als Ergänzung dieser Untersuchungsmethode nicht verzichtet werden sollte.

Die Ursache des bisherigen Versagens der Kulturmethode kann möglicherweise darin gesucht werden, dass

- 1.) der Mittelsache Nährboden (Serumbouillon + inakt. Rinderserum) bezüglich Herstellung und Keimwachstum sehr empfindlich und seine Handhabung in der Praxis schwierig ist,
- 2.) dass die Zuverlässigkeit des Kulturergebnisses von Temperatur und Zeitumständen abhängt, die nur unter hohem Aufwand günstiger gestaltet werden könnten (z.B. Botentransport und gekühlte Kulturen oder fahrbarer Brutschrank),
- 3.) dass sie von der Beimpfungsdosis und der für manche Belastungen noch nicht ausreichenden Konzentration von Antibiotika abhängt, wobei Veränderungen dieser Verhältnisse das Kulturergebnis gefährden würden.

Versuchsreihe 6: Versuche zur Steigerung der Wachstumsintensität von Trichomonas gonitalis bovis in Kulturen.

Parallel mit der Versuchsreihe 5 suchte ich Stoffe zu finden, welche die Vermehrung der Trichomonaden aktivieren sollten. Dazu bewogen sich zwei Gründe:

- 1.) In einer Anzahl von Kulturen (alle mit (+) bezeichneten Fälle der Tabelle 22) war das Trichomonadenwachstum so schwach, dass oft nur eine Trichomonade in einem ganzen, aus dem Kulturbodensatz gefertigten Präparat zu finden war. Darüber hinaus war auch in anderen Kulturen das Wachstum kümmerlich und oft kaum Vermehrung festzustellen. Der Zeitaufwand war in diesen Fällen dann ebenso hoch wie bei Musterrung der nativen Spülprobe und oft wäre mir bei weniger eifrigem Suchen eine positive Kultur entgangen. Der Vorteil der Anreicherung der Trichomonaden durch Vermehrung und ein damit erleichtertes Auffinden war nicht gegeben.
- 2.) wollte ich die Möglichkeit prüfen, ob durch Aktivierung des Wachstums in Versagerefällen nicht doch noch Trichomonaden zum Nachweis gebracht werden konnten.

- 130 -

Versuchsreihe 6a: Versuch der Wachstumssteigerung von Trichomonaden
in Kulturen durch Vitamin T-Goetsch.

Für den 1. Versuch, die Wachstumsintensität der Trichomonaden in den Kulturen zu steigern, verwendete ich das Vitamin T-Goetsch.*) Nach einer persönlichen Mitteilung aus der 1. Universitäts-Frauenklinik München (Dr. Naumann) war dort bei Behandlungsversuchen von Trichomonadenkoipitiden mit Vitamin-T-Lösungen ein starkes Aufblühen der Infektionen beobachtet worden. Nach GOETSCH (37) wurde bei Protozoen und Protophyten (Paramecium, Colpoda, Euglena, Chlorella) Wachstumssteigerung beobachtet. Allerdings wird nach den Versuchen von LOHDING (61) auch das Bakterienwachstum, insbesondere das von Staph. aureus, Bact. pyocyaneus und Bact. subtilis, angeregt. Unter dem Einfluss von Vitamin T wuchsen dann anspruchsvolle Keime auf einfachen Nährböden (z.B. Gonokokken auf Agar). Das Vitamin T ist ein Stoff, dessen Wirkung nach GOETSCH (113) in "einer kompressorartigen Aufzählung der Lebensvorgänge" besteht. Die Aufklärung des Vitamin-T-Komplexes ist noch in Gange, doch wurden darin bis heute B₁₂-Aktivität, Desoxyriboside, Citrovorum-Faktor (folinic acid), Laktobacillus bulgaricus-Faktor (Pantothen säureverbindung) und Folsäure gefunden. Die Wirkung wird als die von Cofermenten, welche in den Stoffwechsel der Nukleinsäuren eingreifen, erklärt. Hinsichtlich der anzuwendenden Dosis war bekannt, dass schon bei minimalen Konzentrationen (1:10000 der volle Effekt eintreten soll.

Zunächst suchte ich die für Trichomonaden verträgliche Dosis des T-Vitamins an einer Reinkultur zu ermitteln und gleichzeitig den Wachstumseffekt zu beobachten.

Ich versetzte dazu je 4 Schleiöhalmers Nährböden mit Reineextrakt T-Vitamin in Konzentrationen von 1:10000, 1:5000, 1:1000, 1:500, 1:250 und beimpfte sie mit je einem Tropfen Bodensatz aus einer Reinkultur

*) Das Präparat wurde mir entgegenkommenderweise von der Herstellerfirma "Pharmazell" - Raubling unentgeltlich überlassen.

- 131 -

(Stamm 3 Passage 14), dazu gleichzeitig 5 Kontrollröhrchen ohne Zusatz von Vitamin T. Die Kulturen kamen 48 Stunden in den Brutschrank und wurden dann mikroskopisch untersucht. Da mir keine Zählkammer zur Verfügung stand, suchte ich zunächst die Trichomonaden nach Abtötung mit Osmiumsäure im Gesichtsfeld zu zählen. Auch hier waren die Ergebnisse sehr unterschiedlich, je nachdem, aus welcher Stelle des Bodensatzes die Probe mit der Kapillare entnommen war. So musste ich mich auf den Eindruck des Gesichtsfeldes verlassen. Hier schienen mir die T-Vitaminkulturen bis zu einer Konzentration von 1:1000 dichter zu sein als die Kontrollkulturen. Ab 1:500 und darüber war das Wachstum nur mäßig. Auch die in gut gewachsenen Kulturen bemerkbare Trübung des unteren Teiles des Nährbodens stieg bei den T-Vitaminkulturen (bei 1:1000) höher hinauf.

Freilich sind diese nur subjektiven Befunde nicht sehr beweiskräftig.

Ich erprobte nun die Vitamin-T-Wirkung bei der Anzucht diagnostischer Kulturen aus Bullenapfelpöbeln bei einer Konzentration von 1:5000 Vitamin-T-Reinextrakt. Dabei wurden als Anzuchtmaterial die Spülproben von 5 Bullen aus Tabelle 22 verwendet. Als Kontrolle dienten die Kulturen des Versuchs 5c. Die Vitamin-T-Kulturen wurden gleichfalls mit 250 i.E. Penicillin und 1000 Gamma Streptomycin/3 cca versetzt und sonst wie die Kontrollkulturen (Versuch 5c) behandelt. Nach der Bebrütung waren die Ergebnisse folgende:

- 132 -

Tabelle 25

Zuichenerklärung wie Tabelle 7
 x = bakterielle Trübung.

lfd. Nr.	Name des Bullen u. Standort	lfd.Nr. d.Tab.22	Kulturbefund	
			Kontrolle Tabelle 22	T-Vitamin
1	T. in L.	52	+	-x
2	P. in L.	53	+	++
3	P. in L.	54	+	(+)x
4	Sch. in D.	55	+	-x
5	S. in D.	56	-x	-x
6	O. in I.	58	+	(+)x
7	U. in I.	59	-	-x
8	B. in T.	60	++	+
9	O. in T.	61	+	++
10	S. in D.	64	+	+x

Besprechung der Ergebnisse:

Der Versuch erstreckte sich über 10 Fälle, in denen durch mikroskopische Untersuchung der Spülproben Trichomonaden nachgewiesen worden waren. In 8 der Fälle wurden die Trichomonaden auch in Penicillin-Streptomycinkulturen nachgewiesen, welche als Kontrolle dienten. Mit den mit Vitamin T versetzten Nährböden gelang die Diagnose nur in 6 Fällen. 7 der Vitamin-T-Kulturen (darunter 3 positive) zeigten bakterielle Trübung, während eine solche in den Kontrollen nur einmal auftrat. In den positiven und getrübbten Kulturen war das Trichomonadenwachstum spärlich, die Flagellaten morphologisch verändert (rund, träge, beweglich). In 2 Fällen war das Trichomonadenwachstum in den Vitamin-T-Kulturen dichter als in den Kontrollen, in 1 Fall war es aber in der Kontrolle dichter als in der Vitamin-T-Kultur. Erfahrungsgemäss differiert das Wachstum in einzelnen Kulturen häufig in gewissen Grenzen (möglicherweise durch die Keimzusatzgrösse). Die Wachstums-

- 133 -

unterschiede überschritten in keinem der 2 Fälle dieses beobachtete Maß, sodass ein augenfälliger Wachstumseffekt nicht zu beobachten war. Dagegen fiel die bei den Vitamin-T-Kulturen vermehrt zu beobachtende bakterielle Eintrübung der Nährböden und die gegenüber der Kontrolle erhöhten Fehlergebnisse (2:10 der Kontrolle gegenüber 4:10 der Vitamin-T-Kulturen) auf. Der aus den Ergebnissen mit Reinkulturen erhoffte Wachstumseffekt für Trichomonaden blieb aus. Es bleibt die Frage offen, ob die versagende Wirkung des Vitamin T daraus resultierte, dass Trichomonaden und Bakterien gleichermaßen aktiviert werden, wobei aber letztere dadurch dann die Bakteriozidose der Antibiotika überwinden und den Trichomonaden gefährlich werden können, oder ob das Vitamin T (wie es von der Herstellerfirma angenommen wird) die Antibiotika inaktiviert und ihre Wirkung in den Kulturen paralyisiert. Nach den ungünstigen Ergebnissen habe ich die Versuche nicht weiter fortgesetzt.

Versuchsreihe 6b: Versuch der Wachstumssteigerung von Trichomonaden in Kulturen durch Zucker.

RIEDMÜLLER (82) hat das Wachstum von Trichomonadkulturen unter Zusatz von Zucker untersucht und dabei günstige Einflüsse auf die Wachstumsdichte beobachtet. Die besten Ergebnisse erzielte er mit einem Zusatz von 1% Glukose, Galaktose und Laktose (in Reihenfolge der Wirksamkeit). Bei Zusatz von Glukose war das Wachstum in den Kulturen im Durchschnitt 2,67 mal stärker als ohne Zucker, bei Laktose im Durchschnitt 2,45 mal. Die Vergleichszahlen der Kulturzichte wurden durch Auszählen mit der Zählkammer ermittelt. Allerdings sank der (ursprünglich auf pH = 7,4 eingestellte) pH-Wert des Nährbodens bei Zuckerzusatz beträchtlich, so bei Glukose auf pH = 4,85, bei Galaktose auf pH = 4,90, bei Laktose auf pH = 5,06, während er in zuckerlosen Kontrollkulturen zwischen pH = 7,4 und 6,2 schwankte.

AEBLI (8) hat bei seinen Versuchen beobachtet, dass in Mischkulturen von Trichomonaden mit *Streptococcus faec.* bei Glukosezusatz (1%) der ursprünglich auf 7,4 eingestellte pH-Wert durch Säurebildung der Streptokokken auf pH = 5,2 - 4,6 herabgedrückt wurde, während er in Nährböden ohne Glukose nur auf pH = 7,2 absank, praktisch also keine Säuerung eintrat. In einem beobachteten Fall trat allerdings durch *Streptococcus faecium* auch ohne Glukosegehalt Säuerung bis zu pH = 5,7 ein. Durch *Bacterium coli* trat in zuckerlosen Nährböden eine Verschiebung ins Alkalische ein, in glukosehaltigen dagegen eine solche ins Saure (bis zu pH = 5,2). Demnach ist zwar durch die Versuche RIEDMÜLLERs die Wachstumssteigerung durch Zuckerzusatz zu den Nährböden erwiesen. Unter dem Gesichtspunkt aber, dass Trichomonaden in

diagnostischen Kulturen aus Bullenspülproben durch die Antibiotika nicht völlig von den Begleitkeimen isoliert werden können, blieb zu befürchten, dass zu den in diesen Kulturen unausschitzbaren Belastungen (hauptsächlich Einfluss der Antibiotika, Transportbelastung, ungenügend unterdrückte Begleitkeime) eine weitere Noxe durch Verschiebung des pH-Wertes infolge des Zuckerzusatzes hinzugefügt wurde.

Um den Einfluss von Glukose und Laktose auf das Wachstum von Trichomonaden aus Bullenspülproben zu beobachten, beimpfte ich aus dem Material (Zentrifugat einer Spülprobe) von 24 Bullen je einen Schleim-Nährboden, welcher 1% Glukose bzw. Laktose, als Kaliumhemmungszusatz jeweils 250 Gamma Penicillin und 1 mg Streptomycin enthielt. Als Kontrolle dienten, soweit der Versuch mit Versuch Nr. 5c parallel angelegt wurde, die (zuckerlosen) Kulturen dieser Reihe. Einige der Versuchskulturen legte ich anlässlich eigener Untersuchungen an, da verschiedene Bullen der Versuchsreihe 5c zur Behandlung kamen und ich dabei nochmals Spülproben zu Versuchen abnehmen konnte. Diese Versuchskulturen sind in der folgenden Tabelle als "2. Untersuchung" vermerkt. Für sie wurden dann eigene (zuckerlose) Kontrollkulturen angelegt.

Die Ergebnisse waren:

Tabelle 26

Zeichenerklärung wie Tabelle 7.

x = Wachstum von Blaato- oder Hyphomyceten.

1fd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Kulturergebnis bei Zusatz von		Kulturergebnis der Kontrolle	Mikrosk. Befund	Bemerkung
		1% Glukose	1% Laktose			
1	R. in R.	+++	+	(+)	+	
2	H. in R.	++ x	++ x	+	-	
3	B. in Z.	-	-	-	-	
4	P. in Sch.	-	-	-	+	
5	H. in Sch.	+++	++ x	++	+	
6	T. in Sch.	+++ x	+++ x	++	+	
7	W. in Sch.	++ x	++	+	+	

- 134 -

diagnostischen Kulturen aus Bullenspülproben durch die Antibiotika nicht völlig von den Begleitkeimen isoliert werden können, blieb zu befürchten, dass zu den in diesen Kulturen unausschaltbaren Belastungen (hauptsächlich Einfluss der Antibiotika, Transportbelastung, ungenügend unterdrückte Begleitkeime) eine weitere Noxe durch Verschiebung des pH-Wertes infolge des Zuckerzusatzes hinzugefügt wurde.

Um den Einfluss von Glukose und Laktose auf das Wachstum von Trichomonaden aus Bullenspülproben zu beobachten, beimpfte ich aus dem Material (Zentrifugat einer Spülprobe) von 24 Bullen je einen Schlesheimer Nährboden, welcher 1% Glukose bzw. Laktose, als Keimnahrungszusatz jeweils 250 Gamma Penicillin und 1 mg Streptomycin enthielt. Als Kontrolle dienten, soweit der Versuch mit Versuch Nr. 5c parallel angelegt wurde, die (zuckerlosen) Kulturen dieser Reihe. Einige der Versuchskulturen legte ich anlässlich eigener Untersuchungen an, da verschiedene Bullen der Versuchreihe 5c zur Behandlung kamen und ich dabei nochmals Spülproben zu Versuchen abnehmen konnte. Diese Versuchskulturen sind in der folgenden Tabelle als "2. Untersuchung" vermerkt. Für sie wurden dann eigene (zuckerlose) Kontrollkulturen angelegt.

Die Ergebnisse waren:

Tabelle 26

Zeichnerklärung wie Tabelle 7.

x = Wachstum von Blasto- oder Hyphomyceten.

lfd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Kulturergebnis bei Zusatz von		Kulturergebnis der Kontrolle	Mikrook. Befund	Bemerkung
		1% Glukose	1% Laktose			
1	R. in R.	+++	+	(+)	+	
2	H. in R.	++ x	++ x	+	-	
3	B. in Z.	-	-	-	-	
4	P. in Sch.	-	-	-	+	
5	H. in Sch.	+++	++ x	++	+	
6	T. in Sch.	+++ x	+++ x	++	+	
7	H. in Sch.	++ x	++	+	+	

- 135 -

Tabelle 26 (Forts.)

Ifd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Kulturergebnis bei Zusatz v.		Kulturergebnis der Kontrolle	Mikrosk. Befund	Bemerkung
		1% Glukose	1% Laktose			
8	T. in L.	+++ x	++	++	+	2. Unters.
9	P. in L.	+++	+	+	+	"
10	P. in L.	-	-	(+)	+	"
11	Sch. in D.	++ x	+	+	+	
12	S. in D.	- x	-	-	+	
13	K. in H.	- x	-	-	-	
14	J. in H.	-	-	-	-	
15	H. in Z.	+++ x	++ x	+	+	2. Unters.
16	R. in Z.	+++	+++	+	+	"
17	M. in B.	+ x	+ x	+	-	"
18	K. in B.	- x	-	(+)	+	"
19	K. in B.	+++ x	+++ x	++	+	"
20	D. in B.	++ x	(+)	+	+	"
21	H. in B.	++ x	+	(+)	-	"
22	B. in T.	++	++	+	+	"
23	W. in H.	+++ x	+	+	-	
24	H. in J.	- x	-	-	-	

Besprechung der Ergebnisse:

Von den 24 Bullen der Versuchsruihe wurden 20 als trichomonadeninfiziert ermittelt. Sie sind allein für das Ergebnis massgebend. In 2 Fällen (= 10%) waren trotz positiven mikroskopischen Befundes der Spülprobe weder in den Versuchskulturen, noch in der Kontrolle Trichomonaden nachweisbar (Versagen des Kulturverfahrens). In weiteren 2 Fällen (= 10%) war das Er-

- 136 -

gebnis der (zuckerlosen) Kontrolle positiv, während bei Zusatz von Glukose wie Laktose in ~~den~~ Nährböden keine Trichomonaden gefunden wurden (Versager zuckerhaltiger Nährböden). In beiden Fällen waren allerdings bereits die Kontrollkulturen sehr schwach positiv (keine Vermehrung). In 16 Fällen waren Versuchskulturen und Kontrolle gleichermaßen positiv, wobei in den zuckerhaltigen Kulturen die Wachstumsdichte die in den Kontrollen deutlich übertraf. Bei Zusatz von Glukose sah ich in mehreren Fällen noch stärkere Vermehrung als bei solchem von Laktose. Da ich die Wachstumsdichte mangels einer Zählkammer im Gesichtsfeld auszählte und diese Methode viele Fehlerquellen in sich birgt, sind die zum Teil geringgradigen Wachstumsunterschiede nicht streng objektiv.

Die grössere Wachstumsdichte in den zuckerhaltigen Kulturen erleichterte mir die Diagnostizierung gegenüber den Kontrollen erheblich.

Der pH-Wert schwankte (gemessen mit Indikatorpapier Bayer) in den zuckerhaltigen Kulturen zwischen 7,2 und 8,0. In den beiden Versagerfällen (Nr. 10 und 18) lag er bei 8,2. In den (zuckerlosen) Kontrollen lag der pH-Wert zwischen 7,0 und 7,6. Im Gegensatz zu AEBLI fand ich also eine geringere Verschiebung des pH-Wertes (wohl infolge der Pufferung der Schleimheimer Nährböden) und auffallenderweise bei Zuckerzusatz eine vermehrte Alkalisierung des Milieus.

Durch den Zuckerzusatz trat in den Kulturen Wachstum verschiedener Blasto- und Hyphomyceten auf, die sich meist als feinvorstalter Schleier über dem Bodensatz in der Kultur ausbreiteten. (In mässigem Umfang hatte ich dies auch schon in zuckerlosen Nährböden beobachtet.) In glukosehaltigen Nährböden trat solches Wachstum in 15 Fällen (= 62,5%), in laktosehaltigen in 7 Fällen (= 29,1%) auf. Eine Störung des Trichomonadenwachstums durch die Blasto- und Hyphomyceten (bei bis zu 4-tägiger Bobrütung) war in keinem Fall zu beobachten. Bei der meist guten Wachstumsdichte war die Diagnostizierung der Kulturen durch die Blasto- oder Hyphomyceten kaum erschwert.

Zusammenfassung:

In der Versuchsreihe (mit 20 infizierten Bullen) konnte die Genauigkeit der kulturellen Diagnosemethode durch Zusatz von Glukose oder Laktose zu Schleimheimer Nährböden nicht gesteigert werden. In keinem Fall übertraf das Versuchsergebnis das der (zuckerlosen) Kontrolle.

Im Gegenteil schienen zuckerlose Nährböden eine grössere diagnostische Zuverlässigkeit zu verbürgen, da in 2 Fällen bei positiver Kontrolle in den zuckerhaltigen Nährböden das Trichomonadenwachstum ausblieb (Unge-

- 137 -

keitsfaktor = 100% gegenüber zuckerloser Kontrolle).

In sämtlichen positiven zuckerhaltigen Kulturen war die Wachstumsdichte gegenüber der Kontrolle erhöht, sodass erstere bedeutend leichter zu diagnostizieren waren. Es eröffnet sich hier die Frage, ob bei systemmässiger Anwendung der Kulturmethode und grösserem Materialanfall die durch die erhöhte Wachstumsdichte bedingte Erleichterung der Diagnostik die etwas geringere Genauigkeit ausgleicht.

Es bleibt jedoch die Frage offen, ob bei umfangreichem Material auch Blasto- oder Hyphomyceten auftreten, welche das Trichomonadenwachstum schädigen und so das Ergebnis zuckerhaltiger Kulturen ungünstig beeinflussen.

Versuchsreihe 7: Züchtungsversuche von Trichomonaden auf dem Abelein'schen Nährboden.

Bei allen meinen bisherigen Versuchen hatte ich als Nährboden Serumbouillon verwendet. Auch in der besten der angestellten diagnostischen Versuchsreihen war ich bei Praxisbedingungen nicht unter einen Versageranteil von 19,2% (Keimhemmung durch Penicillin-Streptomycinkombination, Versuch 5c) gekommen. Auf diese Genauigkeit scheint das Kulturverfahren beschränkt zu sein, zumal nach den Ergebnissen des Versuches 5d die Fehlergebnisse zum Teil aus der kaum zu kontrollierenden Keimeinsatzgrösse resultieren.

In einer letzten Versuchsreihe untersuchte ich nun, diesmal im Laboratorium von Prof. Abelein, ob die von ABLEIN entwickelten Trockennährböden (Aktivnährböden) gegenüber dem Serumbouillonährboden eine grössere diagnostische Zuverlässigkeit gewähren. Im Gegensatz zum Serumbouillonährboden, der aus dem Zentrifugat einer Spülprobe beimpft wird, ist der ABLEIN'sche Nährboden in Form eines Pulvers in ein Kulturröhrchen abgefüllt und wird einfach mit der Spülprobe durch Füllen des Röhrchens und Umschütteln zur beimpften Kultur aufgelöst. Im Gegensatz zu den für Serumbouillonährböden üblichen dünnen Glasröhrchen sind die für den ABLEIN'schen Nährboden verwendeten kurz und breit, wie die für die Blutuntersuchung auf Brucellose gebräuchlichen. Auf eine geringe Luftkontaktfläche wird hier also kein Wert gelegt. Ebenso wird die fertige Kultur nicht mehr mit flüssigem Paraffin überschichtet. Das ABLEIN'sche Nährbodenröhrchen nimmt (je nach Füllhöhe) 5 bis 7 ccm Spülprobe auf. Nach meinen Beobachtungen gewinnt man aus 10 ccm Spülprobe im Durchschnitt (von gesunden, nicht mit Praeputialkatarrhen behafteten Bullen) 8 - 10 Tropfen Zentrifugat. Ungerechnet wird also der ABLEIN'sche Nährboden bei der Aufschwemmung mit mindestens 4 - 7 Tropfen Zentrifugat beimpft, eine Vermischungsmenge, die nach meinen Ergebnissen in Versuch 5d das Kulturergebnis auf

- 138 -

Serumbouillonnährböden bereits schädlich beeinflusste. Beim dortigen Versuch arbeitete ich mit einer Spülprobengeamtmenge von ca. 50 ccm, von denen 10 ccm (= 1/5) auszentrifugiert wurden. Bei Verimpfung von 1 - 2 Tropfen (= 1/40 - 1/20 des Zentrifugats der Gesamtspülprobe) wurden die besten Ergebnisse gesehen, während bei Verimpfung von 4 Tropfen (= ca. 1/10 des Zentrifugats der Gesamtspülprobe) die Keimhemmungsfähigkeit des Nährbodens der Keimeinsaat oft nicht mehr gewachsen war. Als Ausgangsmaterial für den Trocken-nährboden werden nach den Anweisungen ABELEINs nur ca. 25 ccm Spülprobe gewonnen, bei Füllung des Nährbodenröhrchens mit 5 ccm wird also bereits 1/5 der ganzen Spülprobe auf Kultur überimpft. Der ABELEIN'sche Nährboden muss demnach also die 5-fache Verimpfungsdosis (und Keimeinsaat) vertragen, wie der Serumbouillonnährboden. Dies bedeutet, vorausgesetzt dass sein Keimhemmungsvermögen der dadurch bedingten Keimeinsaat gewachsen ist, eine größere Wahrscheinlichkeit positiver Kulturbefunde bei spärlichem Trichomonadenbefall.

Damit die für jeden Nährboden gesetzte Reinheitsgrenze des Verimpfungsmaterials im Praxisgebrauch nicht überschritten wird, normale ABELEIN (G) die Abnahmetechnik in wenigen, leicht fasslichen Handgriffen und entwickelte dazu eine Ballonspritze, die so gehandhabt werden kann, dass die zur Abnahme in den Vorhautsack eingeführte Kanüle erst nach der Beendigung der Spülung wieder entfernt wird.

Nach den Angaben von HESS (46) soll der zu untersuchende Bulle vor der Abnahme der Spülprobe hinter einer Kuh zur Erektion gerollt werden, um durch die Dahnung der Rutenschwellkörper die Penisgrübchen (= Vermehrungsnester der Trichomonaden) auszusprengen. Dabei beschmutzen heftige Bullen immer wieder die Eichel-schleimhaut am After oder Fell der Reizkuh, wodurch dann die Spülproben oft stark verunreinigt und zum Kulturversuch von vornherein ungeeignet waren. Ich entwickelte mir eine Schutzvorrichtung, welche die Rutenschleimhaut vor beschmutzender Berührung schützen sollte. Bei meinem ersten Modell ging ich von den Sprungschürzen, wie sie für den Schafbock gebräuchlich sind, aus. In diese, aus Igelitfolie gefertigte, in Lendenhöhe des Bullen befestigte Schürze war eine tütenförmige Ausstülpung eingesetzt, in die der Bulle beim Ausschachten bei einiger Hilfestellung leicht hineintraf. Bei praktischen Versuchen benutzten die Bullen die Schutzvorrichtung beim Aufsprung mit dem ausspritzenden Sekret der Anhangdrüsen. Gleichzeitig klebte sich häufig der durch das Uhertrippeln der Tiere aufgewühlte Bodestaub an die Schutzvorrichtung, sodass letztem Endes die Rute und damit dann die Spülprobe wieder verunreinigt wurde. Mein zweites Modell bestand aus einem tütenförmigen Sack, welcher an einem starren Draht ring befestigt war. Der Draht umschloß den Körper des Bullen an der Praeputialöffnung

- 139 -

ong (und ist mit Gummiröcken um die Lende des Bullen befestigt), sodass der Penis bei Erektion sofort in den Sack ausschachtet. Die Vorrichtung störte erfahrungsgemäss die Bullen nicht. Mit dieser abgeänderten Technik wurde ein gleichmässiger Reinheitsgrad der Spülproben erreicht.

Versuchsreihe 7a: Vergleichende diagnostische Kulturversuche mit Serumbouillon und ABLEIN'schem Nährboden.

In folgendem Versuch wurden die Spülproben von 37 Bullen parallel auf Serumbouillonnährböden (mit Penicillin-Streptomycinzusatz) und ABLEIN'sche Trockennährböden verimpft. Als Spülflüssigkeit diente physiologische Kochsalzlösung. Die Serumbouillonnährböden wurden mit 1 Tropfen des Spülprobenzentrifugats beimpft und vor Einlegen in den Brutschrank mit flüssigem Paraffin überschichtet. Die ABLEIN'schen Nährböden wurden jeweils mit der Spülprobe aufgeschwennt und verkorkt (ohne Paraffinüberschichtung in den Brutschrank gestellt).

Teilweise wurde der Versuch parallel zu Nr. 5c durchgeführt, wobei dann das Ergebnis der Serumbouillonkultur mit dem dort angegebenen identisch ist; dies ist in der folgenden Aufstellung (Tabelle 27) jeweils angegeben. Bei den anderen Tieren handelt es sich zwar ausschliesslich um solche aus der Versuchsreihe 5c, jedoch um eigene Untersuchungen, die anlässlich der Behandlung oder zweiter Besuche vorgenommen wurden.

Die Ergebnisse waren folgende:

Tabelle 27

Zeichenerklärung wie Tabelle 5.

lfd. Nr.	Name d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund	Kulturbefund auf		Bemerkung
			Abelein'schem Nährboden	Serum-bouillon	
1	T. in L.	-	+++	+	
2	P. in L.	-	++	+	
3	P. in L.	+	+	+	= Befund Vers. 5c
4	Sah. in D.	+	++	+	= " " "
5	S. in D.	-	+	(+)	

- 140 -

Tabelle 27 (Forts.)

Ifd. Nr.	Nemo d. Bullen u. Standort	Mikroskop. Befund	Kulturbefund auf		Bemerkung
			Abelain'schem Nährboden	Serum-bouillon	
6	L. in I.	-	-	-	= Befund Vers. 5c
7	O. in I.	+	+	+	" " " "
8	B. in T.	+	+++	++	" " " "
9	Ö. in T.	+	++	+	" " " "
10	H. in F.	-	-	-	" " " "
11	H. in M.	-	-	-	" " " "
12	W. in M.	-	-	-	" " " "
13	K. in H.	-	-	-	" " " "
14	J. in H.	-	-	-	" " " "
15	P. in O.	-	+++	+	" " " "
16	A. in I.	+	++	+	= Befund Vers. 5c
17	W. in H.	-	++	+	" " " "
18	K. in Sch.	-	-	-	= Befund Vers. 5c
19	M. in H.	-	-	-	" " " "
20	P. in W.	+	-	-	" " " "
21	W. in W.	+	++	+	" " " "
22	P. in W.	+	+++	-	" " " "
23	P. in W.	-	++	-	" " " "
24	P. in G.	+	+++	-	" " " "
25	R. in G.	+	+++	-	" " " "
26	T. in G.	+	++	-	" " " "
27	V. in L.	-	++	+	" " " "
28	W. in L.	-	+	-	= Befund Vers. 5c

- 141 -

Tabelle 27 (Forts.)

lfd. Nr.	Name u. Standort	1. Bullen Befund	Mikroskop. Befund	Kulturbefund auf		Bemerkung
				Abelein'schem Nährboden	Serumbouillon	
29	Z. in L.	-	-	+	-	= Befund Vers. 5c
30	L. in L.	-	-	-	-	" " "
31	Sch. in T.	-	-	++	+	" " "

Besprechung der Ergebnisse:

Von den 31 untersuchten Bullen waren 22 als infiziert zu ermitteln. Mit der mikroskopischen Methode wurden 12 Bullen (54,5% der positiven Tiere) nachgewiesen. Durch Kulturversuch auf Serumbouillonnährböden wurden 13 Bullen (= 59% der positiven Tiere) als positiv ermittelt, 7 davon waren bei mikroskopischer Untersuchung der Spülprobe nicht als infiziert nachgewiesen worden, dagegen hatte in 6 Fällen die Kulturmethode auf Serumbouillon versagt, nachdem die mikroskopische Prüfung der Spülprobe positiven Befund ergeben hatte. Mit dem ABELEIN'schen Nährboden konnte ein einziger positiver Fall nicht nachgewiesen werden (= 3,2% der positiven Fälle). Dagegen zeigten nicht nur alle auf Serumbouillon positiven Befunde ein ebensolches Ergebnis, sondern es wurden noch 3 Infektionsfälle aufgedeckt, die bei mikroskopischer Prüfung und durch Serumbouillonkultur nicht hatten nachgewiesen werden können. (Bei zusammen mit ABELEIN in der Folgezeit in der Praxis und in Zusammenarbeit mit praktizierenden Tierärzten vorgenommenen ausgedehnten Versuchen stieg die Versagerquote dieses Nährbodens in 141 positiven Fällen auf 5,6%). Demnach dürfte der ABELEIN'sche Nährboden, bei sachgemäßer Handhabung und einwandfreien Spülproben, sowohl der mikroskopischen Untersuchungsmethode wie auch dem Kulturverfahren mit Serumbouillonnährböden überlegen sein. Der Grund für das bessere Arbeiten dieses Nährbodens muss in der größeren Unempfindlichkeit gegenüber der Einsaat von Bakterien vermutet werden. Die vergleichende Versuchsreihe fiel nun allerdings in die heiße Jahreszeit, in welcher der Serumnährboden besonderen Störungen ausgesetzt gewesen sein dürfte, sodass im allgemeinen die Überlegenheit des ABELEIN'schen Nährbodens gegenüber Serumbouillon wohl geringer sein wird als im Vergleichsversuch. In seiner einfachen Handhabung dürfte er jedoch für den Praxisegebrauch besonders geeignet sein.

- 142 -

Versuchsreihe 7b: Kulturergebnisse bei geringem Trichomonadenbefall des Ausgangsmaterials.

Um die Genauigkeit und Zuverlässigkeit des Trockennährbodens noch weiter zu erproben, versapfte ich sämtliche 12 bereits mikroskopisch als positiv nachgewiesenen Spülproben aus Versuch 7a auf Trockennährboden (durch Aufschwemmen) und zwar so, dass ich je 10 ccm der Spülprobe (Gesamtspülprobe = 50 ccm, d.h. also 1/5) mit der Handzentrifuge 10 Minuten ausschleuderte und dann sofort mit der Überstehenden Flüssigkeit das Nährbodenröhrchen füllte. Das Zentrifugendepot kam also nicht in den Nährboden, in der Überstehenden Flüssigkeit konnten aber - bei der erfahrungsgemässen Anreicherung der Trichomonaden im Bodensatz durch das Zentrifugieren - nur noch ganz wenige Flagellaten vorhanden sein. In sämtlichen 12 so beimpften Kulturen wurden nach 48-stündiger Bebrütung Trichomonaden nachgewiesen und gute Vermehrung festgestellt.

Damach ist der Trockennährboden auch bei mässiger Trichomonadeneinsetzung zuverlässig. Andererseits beweist das Ergebnis, dass durch das Zentrifugieren (10 Minuten mit der Handzentrifuge) nicht alle Flagellaten in das sich bildende Depot isoliert werden können.

- 143 -

A b s c h l i e ß e n d e Z u s a m m e n f a s s u n g .

- 1.) Die Trichomonadeninfektion des Rindes muss als eine die Landwirtschaft ernstlich schädigende Seuche angesehen werden, gegen welche die staatlichen Bekämpfungsmaßnahmen bisher nur Teilerfolge erzielt haben. Als Hauptgrund für die geringen Erfolge muss die Schwierigkeit des Nachweises des Seuchenerregers angesehen werden.
- 2.) Die Kenntnisse der Biologie der Trichomonade genitalis bovis reichen heute noch nicht völlig aus, um den Mechanismus ihrer Pathogenität zu erklären. Auch hinsichtlich der Vermehrung und Tenazität gehen die Ansichten noch auseinander, doch sprechen alle Erfahrungen für eine geringe Widerstandsfähigkeit der Protozoen.
- 3.) Für ein sicheres Diagnoseverfahren kann auf den direkten Nachweis nicht verzichtet werden, da alle Diagnosemethoden über sekundäre Reaktionen zu ungenau erscheinen müssen.
- 4.) Der Erreger kann mit gleichbleibender Sicherheit innerhalb der verseuchten Herde nur am Bullen nachgewiesen werden.
- 5.) Auf dem Wege zur Verbesserung der am Bullen oft schwierigen Trichomonaden-diagnose erscheint ein brauchbares Kulturverfahren als die günstigste Methode, doch haben diesbezügliche aus der Literatur bekannte frühere Versuche nicht befriedigt. Nach den bisherigen Kenntnissen hängt die Sicherheit der Kulturmethode von Gelingen der Keimhemmung in Trichomonadenkulturen ab.
- 6.) In eigenen Versuchen wurde das Penicillin als Keimhemmungszusatz in Trichomonadenkulturen (1. von HESS veröffentlichtes Verfahren) aus Bullenepülproben unter Praxisverhältnissen als unbrauchbar befunden.
- 7.) Eine Überprüfung der bakteriellen Praeputialflora von Bullen ergab, dass die Mehrzahl der auffindbaren Keime zu den penicillinunempfindlichen gramnegativen Stäbchen gehörte. Überdies liessen die reichlich ermittelten Colistämme und Colivarianten eine Inaktivierung des Penicillin durch Penicillinasebildung vermuten.

- 144 -

- 8.) Mit Aureomycin angestellte Versuche ergaben eine Verträglichkeit des Antibiotikums bis zu einer Konzentration von 200 Gamma pro com Nährboden für Trichomonaden in Kulturen.
- 9.) Bei Passageversuchen mit Bakterien aus der Praeputialflora über aureomycinhaltige Nährböden wurde nur ein Teil der Bakterienstämme abgetötet, die restlichen aber sichtlich im Wachstum gehemmt.
- 10.) Bei diagnostischen Versuchen mit aureomycinhaltigen Kulturen versagte der Kulturbefund gegenüber dem mikroskopischen Untersuchungsergebnis in 36,2% der positiven Fälle, jedoch wurden ebensoviele Tiere nur durch das Kulturverfahren als infiziert ermittelt. Als Grund für die kulturellen Fehlergebnisse wird die rasche Inaktivierung des Aureomycin im Nährboden vermutet.
- 11.) Versuche der Haltbarmachung von Bullenspülproben durch sofortigen Zusatz von Penicillin, Streptomycin und Aureomycin konnten nicht befriedigen. Dabei wurden die Proben für die Kultivierung rascher unbrauchbar als für den mikroskopischen Nachweis.
- 12.) Durch mehrfache Passagen über aureomycin- und streptomycinhaltige Sorumbouillonährböden gelang es, aus einer Bullenspülprobe Trichomonadenreinkulturen zu züchten, die dann ohne keimhemmende Zusätze weitergezüchtet werden konnten.
- 13.) Bei diagnostischen Versuchen mit Penicillin und Streptomycin gleichzeitig enthaltenden Kulturen versagte der Kulturbefund gegenüber dem mikroskopischen Untersuchungsergebnis in 19,2% der positiven Fälle, während in 17,2% bei Versagen des mikroskopischen Befundes die Kultur eine Infektion nachwies. Als Gründe des Versagens des kulturellen Nachweises wird neben der besonders in der heißen Jahreszeit grossen Empfindlichkeit des Sorumbouillonährbodens die bei der Verimpfung sehr verschiedene Keimeinsatzgrösse vermutet. Das Gelingen des kulturellen Nachweises scheint nicht allein von der Wirkungsbreite des zur Keimhemmung verwendeten Antibiotikums, sondern auch von der Einsatzmenge der Keime abzuhängen.
- 14.) Versuche zur Wachstumssteigerung von Trichomonaden in Kulturen durch einen Zusatz von Vitamin T konnten nicht befriedigen.

- 145 -

- 15.) Versuche zur Wachstumssteigerung von Trichomonaden in Kulturen durch Zusatz von Glukose und Laktose erbrachten eine vergrößerte Wachstumsintensität der Trichomonaden, jedoch auch eine geringfügige Erhöhung der kulturellen Fehlergebnisse.
- 16.) Versuche mit dem ABELEIN'schen Nährboden ergaben, dass dieser eine höhere Einsaat von Begleitkeimen verträgt als der Serumbouillonnährboden und diesem diagnostisch überlegen war.
- 17.) Mit Hilfe des ABELEIN'schen Nährbodens gelang es nachzuweisen, dass beim Auszentrifugieren von Spülproben nicht alle Trichomonaden in das Zentrifugendepot isoliert werden, sondern immer solche in der überstehenden Flüssigkeit verbleiben.
- 18.) Bei keinem der diagnostischen Versuche wurde mittels Kulturmethode die Sicherheit des Ausschlusses erreicht. Es wurde jedoch gefunden, dass die Kultur in manchen Fällen die bei mikroskopischer Prüfung der Spülprobe latent gebliebene Trichomonadeninfektion aufzudecken vermag. Sie muss demnach als Ergänzung des mikroskopischen Befundes als unerlässlich erscheinen. Da das Gelingen des kulturellen Nachweises insbesondere von der Einsaatmenge der Begleitkeime abhängen dürfte, muss eine gewisse Reinheitsgrenze der Spülproben für das Kulturverfahren gefordert werden. Da Testmethoden für eine solche Reinheitsgrenze fehlen, bleibt der Kulturbefund nur im positiven Falle beweisend.

Page Denied

Next 10 Page(s) In Document Denied

STAT

k)



Zur Altersbestimmung der Larven von *Calliphora erythrocephala* und *Sarcophaga carnaria* und ihre Brauchbarkeit in forensischen Fällen

Sonja Fleischmann

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleissheim
Direktor: Professor Dr. Hugo Grau
Vorgelegt vom Institut für Nahrungsmittelkunde der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. H. Seidlmayr

Zur Altersbestimmung der Larven von *Calliphora erythrocephala*
und *Sarcophaga carnaria* und ihre Brauchbarkeit in forensischen
Fällen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Sonja Fleischmann

Tierärztin aus Nürnberg

München 1952

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. Dr. Joh. Brügge mann
Referent: Professor Dr. Hugo Gra u

Tag der Promotion: 19.12.1952

U N I - Druck, München 13, Amalienstr.85

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
A. Einleitung	1
B. Schrifttum	2
I. Allgemeine zoologische Vorbemerkungen	2
II. Veterinärmedizinische Vorbemerkungen	6
C. Eigene Untersuchungen	12
I. Versuchsplan	12
II. Versuchsanordnung	13
1. Züchtung der Larven von <i>Calliphora erythrocephala</i> und <i>Sarcophaga carnaria</i> bei Zimmertemperatur mit Tabellen 1 - 10	14
Versuchsergebnisse	25
2. Züchtung der Maden von <i>Calliphora erythrocephala</i> und <i>Sarcophaga carnaria</i> bei Kellertemperatur mit Tabellen 11 - 20	27
Versuchsergebnisse	38
3. Züchtung der Larven von <i>Calliphora erythrocephala</i> und <i>Sarcophaga carnaria</i> bei Kühlraumtemperatur mit Tabellen 21 a und b - 30 a und b	39
Versuchsergebnisse	60
D. Zusammenfassung	62
E. Literaturverzeichnis	64

- 1 -

A. Einleitung.

In der warmen Jahreszeit ist die Verunreinigung von Lebensmitteln tierischer Herkunft mit Dipteren, deren Eiern oder Larven auch bei besorgter Behandlung von Fleischwaren aller Art und deren Verarbeitungen nicht immer zu vermeiden. Unter Betonung der ekelerregenden Beschaffenheit derart verunreinigter Lebensmittel führen solche Fälle regelmässig zur Beanstandung. Sofern sie einen gerichtlichen Verfolg erfahren, kommt dem Zeitpunkt der Insektenbesiedelung und damit der Altersbestimmung der Fliegenmaden erhöhte Bedeutung zu. Für die Altersbestimmung der Fliegenmaden steht im allgemeinen nur die Ermittlung der Längen- und Dickenmaße zur Verfügung. Die im einschlägigen Schrifttum hierüber niedergelegten Angaben unterbreiten der Einheitlichkeit; sie weisen auf die Abhängigkeit der Madenentwicklung von den Umweltverhältnissen (Temperatur, Belichtung, Ernährung usw.) hin und betonen eine vorsichtige Würdigung bei forensischer Begutachtung.

Die Abteilung für gerichtliche Veterinärmedizin und tierärztliche Lebensmittelüberwachung an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleißheim hält deshalb eine Überprüfung der bisher im Schrifttum aufgeführten Untersuchungsergebnisse für angezeigt und erstrebt damit eine in forensischen Fällen brauchbare Beantwortung der Frage nach der Zuverlässigkeit der bisher erzielten Angaben zur Altersbestimmung von Fliegenmaden, speziell von jenen der *Calliphora erythrocephala* und der *Sarcophaga carnaria*.

- 2 -

B. S c h r i f t t u m .
-----Die Entwicklung der sarcophagen Dipteren und ihre Bedeutung
für die Lebensmittelüberwachung.I. Allgemeine zoologische Vorbemerkungen.

Die am häufigsten sarcoparasitisch angetroffenen Dipteren sind nach D e x l e r (2) *Lucilia sericata*, *Lucilia caesar*, *Calliphora erythrocephala*, *Calliphora vomitoria*, *Sarcophaga haemorrhoidalis* und *Sarcophaga carnaria*. Seltener werden *Pyrelia cadaverina*, *Piophilina casci* Linné und *Musca domestica* auf Fleisch beobachtet. Diese Fliegen suchen Fleisch und andere tierische Lebensmittel sowohl zur Nahrungsaufnahme als auch zur Ablage von Eiern oder Larven auf. Während *Piophilina casci* zur Eiablage meist fettes Material, wie Speck, geräuchertes Fleisch und Würste aufsucht, bevorzugen die anderen Arten unzubereitetes Fleisch, das oberflächlich Fäulnis aufweist. Sarcophaginae dagegen gehen auch gern auf faulende pflanzliche Substanzen und Kot.

Die Eier werden in Paketen oder auch einzeln in Spalten des Fleisches oder unter dieses gelegt.

Über die Zahl der Eier, die eine Fliege im Laufe ihres Lebens ablegt, und den Rhythmus der Eiablage stellte E n r i q u e s (3) 1915 mit *Calliphora erythrocephala* zahlreiche Versuche an. Er wies nach, dass bei dieser Fliege die Eiablage in folgenden Abständen erfolgt:

1.Tag ca. 24 Eier, 2.Tag ca. 20 Eier, 3.Tag ca. 30 Eier, 4.Tag ca. 73 Eier,
5.Tag ca. 50 Eier.

Sodann tritt eine Unterbrechung von 14 Tagen ein, nach welcher eine neue Serie mit täglichen Eiablagen beginnt:

1.Tag ca. 32 Eier, 2.Tag ca. 21 Eier, 3.Tag ca. 44 Eier, 4.Tag ca. 17 Eier,
5.Tag ca. 80 Eier, 6.Tag ca. 2 Eier.

Die dritte Serie, während welcher Unregelmäßigkeiten auftreten, läuft 4 Tage später an und dauert 21 Tage:

1.Tag ca. 18 Eier, 2.Tag ca. 54 Eier, 7.Tag ca. 57 Eier, 13.Tag ca. 13 Eier,
14.Tag ca. 17 Eier.

Nach weiteren 11 Tagen werden noch etwa 60 Eier abgelegt; dann stirbt die Fliege.

Nach W e b e r (13) ist der Tod der Fliegen durch Stoffwechselstörungen bedingt, d.h. er wird ausgelöst durch irreversible Vorgänge in den vorzüg-

- 3 -

lich an Stoffwechsel beteiligten Organen. In diesen Organen wurden im mikroskopischen Bild Degenerationserscheinungen festgestellt.

Zur Ermittlung der Zahl der Eier im Eierstock wurden von *Enriquez* (3) viele Fliegen zu verschiedenen Zeiten der Entwicklung untersucht. Nach der Zahl der abgelegten Eier während eines Zyklus kann man auch auf die Zahl der im Eierstock vorhandenen Eier schließen. Kurz nach Beendigung eines Zyklus fand man oft kein einziges entwickeltes Ei im Ovar. Im allgemeinen ist also der Eierstock nach einem Zyklus vollkommen entleert. Indessen hat eine Fliege, die einige Wochen lang Fleisch und Honig gefressen und die Eier noch nicht abgelegt hat, den Eierstock voll grosser, entwickelter Eier. Analog dazu hat eine Fliege, die einen Zyklus beendet hat und noch einige Tage lang gefüttert wurde, den Eierstock vollkommen entwickelt, wie eine Fliege, die noch nicht abgelegt hat. Also beginnt nach Beendigung eines Zyklus das Wachstum der Eier von neuem. Die Zahl der Eier während eines Zyklus entspricht der Zahl der Eischlüpfe. Im Laufe ihres Lebens legt eine *Calliphora erythrocephala* unter normalen Bedingungen im ganzen ca. 620 Eier ab.

Die Zeit von der Eiablage bis zum Auschlüpfen der Larven wird mit 12 - 24 - 27 Stunden angegeben (*Weissmann*, 14; *Weber*, 13; *Dexler*, 2; *Stroh*, 12; *Schönberg*, 10); dabei spielen die Reife der Eier sowie Temperatur und Feuchtigkeit eine Rolle. Das Ei muss nach der Ablage durch Absorption Wasser vom Nährboden aufnehmen. Wenn der Nährboden zu wenig Feuchtigkeit enthält, ist ein Schlüpfen nicht möglich. Der Schlüpfakt beginnt mit dem Öffnen der Eimembran durch die Mundhaken der Larve (*Speyer*, 11; *Wigglesworth*, 15). Im Gegensatz dazu schlüpfen die Larven bei *Sarcophaga carnaria* bereits im Uterus aus. Sarcophaginae sind also vivipar. Die Gesamtzahl der von einer Fliege abgelegten Larven wird von *Graessé* (5) mit 120 bis 200 angegeben. Dabei werden die jungen, kräftigen, sehr beweglichen Larven schubweise in Gruppen von 10 - 20 Stück geboren.

Die Larven der Calliphorinae leben nur sarcophag, während die der Sarcophaginae auch koprophag und parasitisch leben können (*Weber*, 13; *Lindner*, 6).

Die Muscidenlarven sind in 12 Segmente gegliedert, apod und acephal. Das Kopfende ist zugespitzt und weist einen mit zwei Krallen versehenen Haftapparat auf. Das Hinterende wird durch die Stigmenplatte gebildet, die zwei bis drei konvergierende Spalten trägt. Bei der Larve von *Sarcophaga* liegt die Stigmenplatte in der Tiefe des letzten Segments; sie ist

- 4 -

Umgeben von zahlreichen kurzen Wurzeln.

Nach dem Ausschlüpfen bzw. der Ablage der Larven suchen diese sofort das Nährmaterial auf und beginnen zu fressen.

Sie haben das Bestreben, sich in den Nährboden einzubohren oder unter diesen zu kriechen, da sie einer stärkeren Belichtung aus dem Wege gehen.

Da die Imagines nicht mehr weiterwachsen, muss die Larve als Fraß- und Wachstumsstadium sehr grosse Nahrungsmengen zu sich nehmen. Nach S p e y e r (11) soll eine Schmeissfliegenlarve in 24 Stunden ihr Anfangsgewicht um das 200fache vermehren können. Dabei genügt es, wenn als Nährstoff Eiweiss zur Verfügung steht, da im Körper der Schmeissfliegenlarven daraus Kohlehydrate und Fette gebildet werden können (W o b e r , 13).

Der Bedarf an Sauerstoff ist bei den Larven sehr gross. Nach Untersuchungen von O l t (9) sind von 400 Larven nach zwölfstündigem Luftabschluss 50% tot; die andere Hälfte hatte sich nach 2 1/2 Stunden wieder erholt. Ein 24stündiger Luftabschluss wird nur von wenigen Larven ertragen; die Mehrzahl stirbt an Sauerstoffmangel.

Um den Sauerstoffbedarf zu decken, suchen die etwa 15 - 20 cm tief eingebohrten Larven in kurzen Zeitabständen wieder den Weg zur Oberfläche, wo sie atmosphärische Luft in das Tracheensystem aufnehmen. Diese Wanderung vollzieht sich ununterbrochen und bewirkt eine Durchmischung der faulenden Massen mit Luft. Durch die an der Oberfläche der Maden haftenden Bakterien wird bei dieser Wanderung der Fäulnisprozess beschleunigt und durch die beim Fressen entwickelte Wärme gefördert. O l t (9) beobachtete an kalten Novembertagen zwischen massenhaft an Kadavern sitzenden Maden und der Umgebung Temperaturunterschiede bis zu 15 ° C.

Die optimale Temperatur für eine günstige Entwicklung der Muscidenlarven liegt zwischen 23 und 30 ° C. S p e y e r (11) gibt an, dass Temperaturschwankungen innerhalb der Behaglichkeitszone bei Calliphora die Entwicklung beschleunigen. Die durch höhere Temperatur erreichte Entwicklungsbeschleunigung ist dabei grösser als die durch niedrigere Temperaturen erreichte Verzögerung. Das Feuchtigkeitsoptimum liegt zwischen 45 und 80%, ist also verhältnismässig hoch.

Die Dauer der Larvenperiode beträgt nach W e i s m a n n (14) für Calliphora 14 Tage und für Sarcophaga 8 - 10 Tage.

Während dieser Zeit machen die Larven 3 - 4 Häutungen durch. Diese werden aber auf den schmierigen Nährböden, auf welchen die Larven leben, meist nicht beobachtet. Ungleiche Ernährung kann die Zahl der Häutungen wesentlich verbessern (W i g l e s w o r t h , 15). Der Hauptbestandteil der

- 5 -

Larvencuticula ist Chitin, das sie gegen äussere Einflüsse besonders widerstandsfähig macht. Äusserst resistent sind Fliegenlarven gegenüber Giften. F*eist* (4) stellte fest, dass Larven durch Strychnin in ihrer Entwicklung nicht geschädigt werden. Ebenso unempfindlich sind sie gegen Atropin, Celohicin und Morphin. Dagegen werden sie durch Cocain innerhalb von 3 Stunden und durch Novocain innerhalb von 9 Stunden getötet. Cyanalium (1%), Pikrinsäure (5%) und Resorcin töten die Maden nach 24 Stunden. Ohne Einwirkung bleiben Methylalkohol, Carboläure und Oxaläure. Wenn die Larven ausgewachsen sind, kriechen sie vom Nährmaterial weg und vergraben sich in Erde oder dergl., um sich dort zur Puppe umzuwandeln. Die Verpuppung wird durch eine starke Zusammenziehung des ganzen Larvenkörpers eingeleitet, die von einer Umstülpung des ersten Segmentes nach innen begleitet wird. Dann verhärtet die letzte Larvenhaut. Es entsteht die für cyclorrhaphe Dipteren typische Tönnchenpuppe (Pupparium). Die Puppe oder Nymphe ist ein Ruhestadium und stets zur Nahrungsaufnahme unfähig. Dagegen wird zur Weiterentwicklung Sauerstoff benötigt. Eine Puppe von *Calliphora vomitoria* benötigt z.B. während der Puppenruhe 6 ccm Sauerstoff, gleich bei welcher Temperatur (S*poeyer*, 11). Die Dauer der Puppenruhe ist von der Temperatur abhängig; sie wird für *Calliphora* von S*troh* (12) mit 17 - 18 Tagen angegeben. Bei zu hohen Temperaturen kann kein Schlüpfen erfolgen. S*poeyer* (11) stellte fest, dass aus Puppen von *Prophila caesi*, die bei 37° C gehalten wurden, keine Fliegen ausschlüpfen, während bei 33° C 100% und bei 36° C noch 50% der Puppen schlupffähig waren. Die harte Puppenhaut zeigt am Kopfende präformierte Linien, die eine leichte Abprengung des Deckels der Tönnchenpuppe gestatten. Das Aufbrechen der Puppe geschieht unter dem Druck der weichen, vorstülpbaren Stirnblase (Ptilinum). In gleicher Weise bahnt sich die ausgeschlüpfte Fliege mit dem Ptilinum den Weg durch die Erde. Die eben ausgeschlüpfte Imago kann sofort schnell laufen; die Flügel entfalten sich erst in einem Zeitraum von etwa einer Stunde. Die Farbe der Imago ist bei *Calliphora* zunächst noch grau und wird erst nach einigen Stunden stahlblau. Nach dieser Zeit ist auch die Flugfähigkeit erreicht. Vor dem ersten Flug wird aus dem Darm das grauweisse Mekonium entleert. Der ganze Fliegenkörper ist zunächst noch weich und nimmt erst nach einigen Tagen die normale Konsistenz an (W*eber*, 13). Die Zeit vom Schlüpfen bis zur Geschlechtsreife beträgt ca. 14 Tage.

- 6 -

II. Veterinärmedizinische Vorbemerkungen.

In veterinärmedizinischen Schrifttum finden sich bis 1913 nur spärliche Angaben über das Wachstum von Fliegenlarven auf Fleisch und anderen Lebensmitteln. Dadurch angeregt führte *Stroh* (12) eingehende Untersuchungen an *Calliphora vomitoria* aus und stellte Tabellen über die täglichen Längenzunahmen der Larven dieser Fliegenart auf, um Anhaltspunkte für die Beurteilung der Zeitdauer von Vermadungen auf Fleisch usw. zu besitzen.

In den Strohfähen Versuchen zeigten sich in allen Stadien der Entwicklung der Maden beträchtliche Verschiedenheiten, sowohl hinsichtlich der Grössenverhältnisse in den verschiedenen Züchtungsversuchen, als auch in der Entwicklung einzelner Individuen desselben Geleges. Nach mehrfachen Beobachtungen waren die Grössenunterschiede der Mutterfliegen ohne Einfluss auf die Schnelligkeit der Entwicklung der Nachkommenschaft. Weder die Endmaße der Larven, noch die Grösse der Puppen wurden dadurch beeinflusst.

Gründe für die beobachteten Differenzen in der Entwicklung der Larven sind nach *Stroh* hauptsächlich in der jeweiligen Höhe der Temperatur und der mehr oder weniger zuzugenden, d.h. leichter oder schwerer angreifbaren Nahrung zu suchen. Vermutungswiese spielt auch die Generationszahl des betreffenden Jahres eine nicht unbedeutende Rolle.

Auch die Zeitspanne von der Eiablage bis zum Ausschlüpfen der Larven wird von der Temperatur wesentlich beeinflusst. Wurde Fleisch mit kurz vorher abgelegten Schweisefliegeniern 24 Stunden lang in der Kühlhalle (bei 0,5 bis -3° C) aufbewahrt, so erfolgte nach *Stroh* das Auskriechen etwa 16 - 36 Stunden später als normal.

Verantwortlich für die Zeit bis zum Ausschlüpfen ist auch das mehr oder weniger lange Verweilen in den Geschlechtswegen.

Die Eier entwickeln sich nämlich bereits in den Geschlechtswegen weiter, weshalb es bei *Calliphora* bei einer Retention der Eier schon zur Ablage bereits ausgeschlüpfter Larven kommen kann. Bei den Versuchen über die post-embryonale Entwicklung wurde von *Stroh* Rind-, Pferde- und Kalbfleisch als Nährboden verwendet. Die Maden wurden täglich lebend gemessen.

Dabei ergaben sich bei einer Züchtung bei 17 - 19° C folgende Maße (in cm):

- 7 -

Frisch ausgekrochene Larven	0,17	lang, 0,04	dick
24 Stunden alte Larven	0,27-0,30	" 0,07	"
2mal 24 " " "	0,50-0,55	" 0,10	"
3mal 24 " " "	0,70-0,80	" 0,13-0,14	"
4mal 24 " " "	1,15-1,25	" 0,20-0,22	"
5mal 24 " " "	1,40-1,50	" 0,28	"
6mal 24 " " "	1,60-1,70	" 0,30-0,32	"
7mal 24 " " "	1,70	" 0,32-0,33	"

Mit dem 7. bis 8. Lebenstage war das Wachstum der Larven in der Regel beendet.

Bei hoher Sommertemperatur waren die Larven bereits 1 - 2 Tage früher ausgewachsen und zeigten folgende Ausmaße:

Boia Auskriechen	0,17	lang, 0,04	dick
24 Stunden alte Larven	0,35-0,40	" 0,08	"
2mal 24 " " "	0,65-0,70	" 0,13	"
3mal 24 " " "	1,10-1,20	" 0,20-0,22	"
4mal 24 " " "	1,50-1,60	" 0,28-0,30	"
5mal 24 " " "	1,80	" 0,33-0,34	"

Bei Temperaturen von 14 - 15° C dagegen waren nach Stroh zur vollkommenen Entwicklung 9 Tage nötig. Durchschnittlich am 9. Lebenstage wanderten die Larven vom Fleisch weg und verkrochen sich in der Erde. Nach Strohs Beobachtungen wurde bei den reifen Larven eine vermehrte Festigkeit der Haut festgestellt.

Die Larven nehmen in den letzten Tagen wenig oder keine Nahrung mehr auf; sie werden trüger in den Bewegungen und nehmen Puppenform an. In diesem Stadium reagieren sie nur noch auf kräftige kussere Reize. Häufigster Zeitpunkt der Verpuppung ist der 12. Tag nach dem Ausschlüpfen. Vom 9. bis zum 12. Tage bleiben die Maden als Larven in der Erde. Die Dauer der Puppenruhe selbst gibt S t r o h (12) mit 17 - 18 Tagen an.

Nachdem C h r é t i e n (1) schon 1916 in der französischen Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene auf die Bedeutung der grauen Fleischfliege und der blauen Schmeißfliege in lebensmittelhygienischer Hinsicht hingewiesen hatte, untersuchte D e x l e r (2) 1917 in Wien, angeregt durch den Erlass der Stadthalterei Steiermark vom 4. Juni 1915 (17) die fleischhygienische Bedeutung der sarcophagen Dipteren. Er nahm die Züchtungen im Brutschrank bei einer Temperatur von 29 - 30° C vor. Als Nährboden verwendete Dexler (2) Fleischatücker, die er in zur Hälfte mit Gartenerde gefüllte Gläser einlegte. Die Fliegen wurden in der Fleischatücker und deren

- 8 -

Umgebung gefangen. Dort war hauptsächlich anzutreffen *Lucilia caesar* und *Calliphora erythrocephala*. Die von *Stroh* (12) untersuchte *Calliphora vomitoria* konnte dort nicht auf Fleisch angetroffen werden; dagegen, wenn auch vereinzelt, *Sarcophaga haemorrhoidalis*, *Sarcophaga falculata* und *Musca domestica*.

Dexler (2) beobachtete, dass die sarcozootischen Dipteren vornehmlich frisches Fleisch, welches auf 17°C erwärmt ist, befallen. Die Eiablage fand vorzugsweise auf feuchten Nährböden statt, die nicht dem direkten Sonnenlicht ausgesetzt waren.

Das Ausschlüpfen der Larven wurde nach 24 Stunden beobachtet.

Dexler (2) vertritt berechtigterweise die Ansicht, dass eine Messung der Larven im lebenden Zustand nicht möglich ist. Er verwendete deshalb als Tötungsmittel Schwefelkohlenstoff, in dem die Larven - nach seiner Angabe - die natürliche Grösse beibehalten. Übereinstimmend mit *Stroh* (12) stellte *Dexler* (2) den hemmenden Einfluss kühler Temperaturen fest. Bei einem Versuch konnten Eier auf Kalbfleisch bei einer Temperatur von $8 - 9^{\circ}\text{C}$ nicht zum Schlüpfen gebracht werden. Die Larven schlüpfen erst bei einer Temperatur von 15°C aus. Unter 10°C konnte kein Schlüpfen beobachtet werden; die Eier gingen in allen Fällen zugrunde.

Bei unmittelbarer Einwirkung von Sonnenlicht und bei Eintrocknung des Nährbodens starben die Eier und Larven ebenfalls ab.

Die Größenzunahme der Larven bei $15 - 18^{\circ}\text{C}$ während 7 Tage betrug $0,30 - 0,95\text{ cm}$. Bei 7°C erreichten die ursprünglich $0,26\text{ cm}$ langen Larven nur eine Grösse von $0,32\text{ cm}$.

Bei einer Züchtung auf Schafffleisch aus Galizien zeigten die Larven am ersten Tage eine Länge von $0,32\text{ cm}$, am 2. Tage von $0,52\text{ cm}$, am 3. Tage von $0,70 - 0,80\text{ cm}$ und am 4. Tage von $1,14\text{ cm}$; am 5. Tage verpuppten sie sich.

Larven auf Schweinefleisch aus Serbien wuchsen am 1. Tage zu einer Länge von $0,20\text{ cm}$, am 2. Tage von $0,27\text{ cm}$, am 3. Tage von $0,52\text{ cm}$, am 4. Tage von $0,80\text{ cm}$ und am 5. Tage von $0,93\text{ cm}$ an. An diesem Tage gingen die ausgewachsenen Larven auch in den Boden.

Die angegebenen Zahlen vermögen der Forschung wenig dienlich zu sein, da die Angabe der Fliegenart fehlt. Möglicherweise beziehen sich die ersten Angaben auf *Calliphora*, die letzteren auf *Piophilidae casei*.

Bei einer *Sarcophaga haemorrhoidalis* wurden von *Dexler* (2) folgende Maße beobachtet: Am 1. Tag nach der Ablage hatten die Larven eine

- 9 -

Länge von 0,50 cm, am 2.Tag von 0,71 cm, am 3.Tag von 1,30 cm und gingen schon am 4.Tag mit einer Länge von 1,50 cm in den Boden.
 Aus D e x l e r s (2) Kontrollversuchen geht hervor, dass die Wachstumsverhältnisse der Fliegenlarven sehr variabel sind und von der herrschenden Temperatur abhängen. Bei Temperaturen unter 7° C sistierte das Wachstum; die Lebensfähigkeit der Larven blieb jedoch erhalten. Bei Temperaturen von 20 - 40° C war das Wachstum bereits am 3.Tag auf dem Höhepunkt angelangt. Die Verpuppung fand jedoch wie bei gewöhnlicher Temperatur am 5. - 6.Tag statt.

Die Larve von *Calliphora erythrocephala* ist nach D e x l e r ähnlich der von *Lucilia sericata*. Die Calliphoralarve ist weiss, kegelig und hat ein schief zugestütztes Aftersegment mit zwei schwarzbraunen Stigmen. Der vorne zweiteilige Kopf trägt zwei gleiche, gekrümmte Haken. Die fleischfressenden Maden sind mit dem Kopf tief ins Fleisch eingebohrt; das Aftersegment steht nach oben und aussen.

Nach D e x l e r (2) erreicht die Larve von *Calliphora erythrocephala* bei einer Temperatur von 20° C eine Länge von 1,20 cm, jene von *Sarcophaga haemorrhoidalis* dagegen eine Länge von 1,50 cm.

Die Sarcophagalarve wird von der Fliege spontan auf Fleisch abgelegt und kann auf diesem leicht gezogen werden. Die Verpuppung erfolgte nach 4 Tagen, und die Nymphenzeit betrug in den Dexlerschen Versuchen im Brutschrank zwei Wochen.

Nach Ansicht von Dexler gestattet die Anwesenheit von Dipterenlarven auf Lebensmitteln keinen Schluss auf das Vorhandensein von Fäulnis. Ein Rückschluss auf das Alter der Maden kann nur in sehr beschränkten Fällen gezogen werden, und eine Verwertung der Messergebnisse ist pro foro nicht zulässig.

Ein absolut zuverlässiges Mittel zur Verhinderung einer Invasion mit Dipterenlarven ist nicht bekannt. Ihrer Entwicklung jedoch kann durch sorgfältiges Verwahren der Schlachtgüter in dunklen und kühlen Räumen begegnet werden. Abwaschen oder Einlegen in Essig oder Kaliumpermanganatlösung tötet die Larven nicht.

M a n n e g o l d (7) hatte 1924 40 Kisten mit amerikanischem geräucherten Bauchspeck zu untersuchen und zu beurteilen. Der Speck zeigte sich stark mit Maden befallen. Die Maden waren bei der Untersuchung 6 - 8 mm lang und stellten sich als Larven von *Prophila casei* Linné heraus. Sie befanden sich in Nestern zu etwa 50 - 80 Stück und waren tief in das Muskelfleisch eingebohrt; letzteres hatten sie in eine schmierige, übelriechende Masse

- 10 -

verwahrt. In einer Reihe von Speckseiten befanden sich auch bereits Puppen. Daraufhin stellte M a n n e g o l d (7) Zuchtungsversuche an.

Nach einem Tage wurden Gelege mit 80 - 90 Eiern auf Speck beobachtet. Die Eier waren länglich oval, 0,63 mm lang und 0,14 mm dick. Die Länge der Maden betrug beim Ausschlüpfen 0,7 mm. Am 8. Tage waren sie mit 8,5 - 9 mm ausgewachsen und behielten diese Länge bis zum 14. Tage bei. Während des 9. - 14. Tages nahmen sie nur an Dicke zu (1,2 bis 1,3 mm). Vom 14. Tage an verpuppten sie sich. Käsefliegenlarven gedeihen, nach M a n n e g o l d (7), in reinem Fett - auch Seife - nur kümmerlich, während sie in gesalzenem und geküchertem Schweinefleisch und Speck sich gut entwickeln. Die eben genannten Stoffe, namentlich amerikanischer Speck, werden von den übrigen Fleischfliegenmaden gemieden. M a n n e g o l d (7) erzielte ähnliche Resultate wie S t r o h (12) und D o x l e r (2). Durch höhere Aussentemperatur (30° C und darüber) wurde die Entwicklung der Maden beschleunigt, so dass diese 1 - 2 Tage früher ausgewachsen waren. Durch kühlere Temperaturen wurde die Entwicklung verzögert.

Auch die Maden der Käsefliege zeigten eine erstaunliche Widerstandskraft gegenüber kasseren schädigenden Einflüssen. Die Larven waren gegen Desinfektionsmittel fast ebenso resistent wie Milzbrandsporen. 6 - 10 Tage alte Larven lebten in gesättigter Kochsalzlösung, in Borax-Borsäurelösung 4 - 5 Wochen, in reinem Formalin (30% Formaldehyd) 2 1/2 Tage und in Sublimatlösung 20 Stunden. Calliphoralarven dagegen wurden in konzentrierter Kochsalzlösung nach 5 Tagen, in Borax-Borsäurelösung nach 6 Stunden, in Sublimatlösung nach 5 Stunden und in 5%igem Karbolwasser nach 4 Stunden abgetötet.

M a n n e g o l d (7) macht die Beschaffenheit der kasseren Haut der Larven für diese aussergewöhnliche Resistenz verantwortlich.

In diesem Zusammenhang ist auch auf die Arbeit von W i n t e r m a n n (16) hinzuweisen, nach welcher durch Kochen auf offenem Feuer die Fliegenmaden ihre Gestalt nicht verlieren. Ebenso findet beim Sterilisieren von Konserven ein Zerfall nicht statt. Beimischen von Fliegenlarven zum Doseninhalt können deshalb grobsinnlich festgestellt werden. 1934 überprüfte S c h ö n b e r g (10) die Stroh'schen Untersuchungsergebnisse. Schönberg fand in Übereinstimmung mit Stroh (12) und D o x l e r (2), dass Licht, Temperatur und Beschaffenheit des Nährbodens von ausschlaggebender Bedeutung für das Wachstum der Fliegenlarven sind.

Bei seinen Versuchen zeigten Larven, die aus demselben Gelage stammten und unter verschiedenen Bedingungen gehalten wurden, Ungleichheit im Wachstum. Aus diesem Grunde warnt Schönberg (10) in seiner Arbeit vor einer schematischen Benutzung der Strohschen Angaben.

Schönberg züchtete *Calliphora vomitoria* und ermittelte für deren Larven, unter günstigen Bedingungen gehalten (Temperatur 23 - 25° C, Dunkelheit, oberflächlich faules Rindfleisch) folgende Größenwerte: Die Larven schlüpfen 12 - 24 Stunden nach der Eiablage je nach Temperatur und Reife der Eier aus.

Sie wurden lebend und gestreckt gemessen und wiesen folgende Ausmaße auf:

	24 Stunden nach der Eiablage	0,30 cm
2mal 24	" " " "	0,60 - 0,70 cm
3mal 24	" " " "	1,00 cm
4mal 24	" " " "	1,20 - 1,60 cm
5mal 24	" " " "	1,70 cm
6mal 24	" " " "	1,80 - 1,90 cm
7mal 24	" " " "	1,90 cm

in ausgewachsenem Zustand.

Die Larven wuchsen also unter diesen günstigen Bedingungen schneller als in der Tabelle von Stroh angegeben ist.

Schönberg (10) beobachtete, dass die Maden auf oberflächlich faulendem Material schneller wuchsen als auf völlig frischem. Bei Larven, die auf ganz frisches Fleisch gebracht worden waren, trat vorübergehend Wachstumsstillstand ein. Erst wenn die zahlreich auf den Maden vorhandenen Bakterien eine gewisse Einschmelzung des Nährbodens verursacht hatten, gingen Nahrungsaufnahme und Wachstum weiter. Bei Kühlschranktemperaturen um +5° C konnte keine Längenzunahme beobachtet werden.

Für die Beurteilung vermadeter Lebensmittel empfiehlt Schönberg (10), neben der Länge der Larven auch die Temperatur, die Lichtverhältnisse und die Eignung des betreffenden Lebensmittels als Nährstoff zu berücksichtigen und ausserdem noch die Veränderungen, die durch die Fliegenlarven verursacht wurden, zu würdigen.

- 12 -

C. Eigene Untersuchungen.

I. Versuchsplan.

In den Sommermonaten des Jahres 1952 wurden Züchtungsversuche mit *Calliphora erythrocephala* und mit *Sarcophaga carnaria* vorgenommen, um die Längen- und Dickenmaße dieser Fliegenarten bis zum Eintritt der Vorpuppung bestimmen zu können.

Zunächst wurden Züchtungen bei Zimmertemperatur (21 - 25° C) durchgeführt, wobei als Nährsubstrat

rohes Fleisch,
rohe Leber,
gekochtes Fleisch,
Rohwurst, oder
roter Seefisch (Kabeljau, Goldbarsch)

verwendet wurden.

Gleichzeitig wurden Vergleichsversuche angestellt, wobei die Züchtungen in den Kellerräumen der Landesanstalt bei Temperaturen zwischen 14 und 19° C vorgenommen wurden. Als Nährmedien wurden wiederum verwendet

rohes Fleisch,
rohe Leber,
gekochtes Fleisch,
Rohwurst oder
Seefischfleisch,

wie in den vorhergehenden Versuchen.

Da die Temperaturen in den Kellerräumen während des auffallend heißen Sommers dieses Jahres sich nicht wesentlich von den Zimmertemperaturen unterschieden, wurden die gleichen Versuche auch im Kühlraum angesetzt. Dabei kamen dieselben Nährmedien als Madenfutter zur Verwendung. Die Temperatur betrug dort 0 - 11° C. Sie schwankte innerhalb dieser weiten Grenzen, da der Kühlraum tagsüber häufig geöffnet werden musste und deshalb nur nachts tiefere Temperaturen erreicht wurden.

Gleiche Versuche im Brutschrank von 37° C mussten nach der Ei- bzw. Larvenablage in allen Fällen abgebrochen werden, da die Fliegen bei dieser Temperatur zwar frühzeitig Eier oder Larven ablegten, diese aber stets nach wenigen Stunden infolge der hohen Temperatur zugrunde gingen.

- 13 -

II. Versuchsordnung.

Die zu den Versuchen benötigten Fliegen (*Calliphora erythrocephala* und *Sarcophaga carnaria*) wurden im Freien oder auch in geschlossenen Räumen gefangen und in größeren Glasgefäßen mit luftdichtem Stoffverschluss mit den zu prüfenden Nährmedien gehalten. Zur Sicherstellung der Versuchsergebnisse wurden in allen Fällen die Züchtungsversuche bei Zimmertemperatur und Kollertemperatur in 3 Vergleichsversuchen, bei Kühlraumtemperatur in 2 Vergleichsversuchen mit demselben Nährmedium durchgeführt.

Die Ablage erfolgte meist nach einigen Stunden, entweder direkt auf die Fleischwolle oder auch an die Wand der Glasgefäße. Die Gelege wurden erst nach 24 Stunden nach der Ablage und weiterhin in 24stündigen Zeitabständen beobachtet. Bei dieser Gelegenheit wurden jeweils 5 - 10 Maden der Längen- und Dickenmessung mittels einer Schublehre unterzogen. Die Maße für die Dicke der Larven wurden in der Mitte des Larvenkörpers von oben abgenommen.

Da eine genaue Messung im lebenden Zustand wegen der besonders in fortgeschrittenem Alter sehr lebhaften Bewegungen der Maden nicht möglich ist, mussten diese abgetötet werden. Es ergab sich dabei, dass die Larven beider Fliegenarten sich in flüssigen Chemikalien wie Chloroform und Äther und auch in dem von Dexler empfohlenen Schwefelkohlenstoff stark zusammenzogen. Ein Zusammenziehen fand dagegen nicht statt, wenn die Larven in luftdicht schliessende Glasschalen gebracht wurden, in welchen Schwefel verbrannt wurde. Durch die Einwirkung des Schwefeldioxyds waren sie nach einigen Minuten bewegungslos und gestreckt. Diese Tötungsart wurde bei allen Versuchen verwendet. Die Larven wurden während ihrer Wachstumsperiode mehrmals mit ausreichenden Mengen von frischem Nährmaterial versorgt. Sobald sie ihre maximale Länge erreicht hatten und in ihren Bewegungen schwerfälliger wurden, wurden in die Gläser leicht angefeuchtete Sägespäne gegeben.

Ergänzend wird bemerkt, dass die Madenzuchtbehälter in allen Fällen vor Tageslichtbestrahlung geschützt wurden.

- 14 -

1. Züchtung der Larven von Calliphora erythrocephala und Sarcophaga carnaria bei Zimmertemperatur.

Verwendete Nährmedien: rohes Fleisch, rohe Leber, gekochtes Fleisch, Rohwurst und rohes Seefischfleisch.

Temperaturen: 21 - 25° C.

Versuchsordnung: wie unter II angegeben.

Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 1 mit 10 niedergelegt.

- 15 -

Tabelle 1
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Maden auf Fleisch bei Zimmertemperatur.

1. Versuch				Länge	Dicke	Temperatur
				cm	cm	Grad
	24	Stunden	nach der Eiablage	0,29-0,31	0,05	25,5
2mal	24	"	"	0,60-0,69	0,12-0,69	25
3mal	24	"	"	1,45-1,55	0,28-0,30	25
4mal	24	"	"	1,60-1,70	0,31	26
5mal	24	"	"	1,72-1,78	0,32	27
6mal	24	"	"	1,78-1,89	0,32	27,5
7mal	24	"	"	1,47-1,58	0,30	26
8mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		25
2. Versuch				Länge	Dicke	Temperatur
				cm	cm	Grad
	24	"	"	0,31-0,40	0,06	24
2mal	24	"	"	0,75-0,85	0,14-0,17	23
3mal	24	"	"	1,55-1,64	0,29-0,30	23
4mal	24	"	"	1,65-1,72	0,31	24
5mal	24	"	"	1,71-1,80	0,32	24
6mal	24	"	"	1,80-1,90	0,33	26
7mal	24	"	"	1,58-1,64	0,31	26,5
8mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		26,5
3. Versuch				Länge	Dicke	Temperatur
				cm	cm	Grad
	24	"	"	0,28-0,35	0,06	23
2mal	24	"	"	0,55-0,67	0,15	23
3mal	24	"	"	1,58-1,50	0,25-0,28	23
4mal	24	"	"	1,65-1,72	0,31	24
5mal	24	"	"	1,71-1,73	0,32	25
6mal	24	"	"	1,85-1,90	0,32-0,34	24
7mal	24	"	"	1,49-1,62	0,31	25
8mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		25

- 16 -

T a b e l l e 2
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf roher Leber bei Zimmertemperatur

				<u>Länge</u>	<u>Dicke</u>	<u>Temperatur</u>
				<u>mm</u>	<u>mm</u>	<u>°C</u>
<u>1. Versuch</u>						
	24	Stunden	nach der Eiablage	0,33-0,40	0,07	23
2mal	24	"	" " "	0,71-0,80	0,15	23
3mal	24	"	" " "	1,50-1,60	0,24	24
4mal	24	"	" " "	1,79-1,85	0,29-0,30	25
5mal	24	"	" " "	1,82-1,91	0,31	24
6mal	24	"	" " "	1,94-2,00	0,32-0,33	23
7mal	24	"	" " "	1,85-1,95	0,32	23
8mal	24	"	" " "	Beginn der Verpuppung		
<u>2. Versuch</u>						
	24	"	" " "	0,37-0,40	0,09	24
2mal	24	"	" " "	0,84-0,95	0,16	24
3mal	24	"	" " "	1,53-1,61	0,25	23
4mal	24	"	" " "	1,70-1,85	0,31-0,32	23
5mal	24	"	" " "	1,85-1,92	0,32	22
6mal	24	"	" " "	1,92-1,98	0,32-0,33	22
7mal	24	"	" " "	1,87-1,90	0,32	23
8mal	24	"	" " "	Beginn der Verpuppung		
<u>3. Versuch</u>						
	24	"	" " "	0,38-0,40	0,08	23
2mal	24	"	" " "	0,86-0,94	0,15	23
3mal	24	"	" " "	1,39-1,50	0,28-0,29	23
4mal	24	"	" " "	1,76-1,82	0,30-0,32	22
5mal	24	"	" " "	1,88-1,93	0,32-0,33	22
6mal	24	"	" " "	1,92-2,00	0,32-0,33	22
7mal	24	"	" " "	1,85-1,97	0,32	23
8mal	24	"	" " "	Beginn der Verpuppung		

- 17 -

T a b e l l e 3
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Maden auf gekochtem Fleisch bei Zimmertemperatur

					Länge	Dicke	Temperatur
					cm	cm	°C
<u>1. Versuch</u>							
	24	Stunden	nach	der Eiablage	0,15-0,18	0,04	25
2mal	24	"	"	"	0,38-0,40	0,06-0,08	24
3mal	24	"	"	"	0,76-0,88	0,15-0,18	23
4mal	24	"	"	"	1,40-1,55	0,25-0,28	23
5mal	24	"	"	"	1,70-1,80	0,30-0,31	23
6mal	24	"	"	"	1,90-1,95	0,31-0,32	22
7mal	24	"	"	"	1,80-1,90	0,31-0,32	22
8mal	24	"	"	"	1,80-1,85	0,32	23
9mal	24	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	22
<u>2. Versuch</u>							
	24	"	"	"	0,17-0,20	0,04	22
2mal	24	"	"	"	0,32-0,40	0,07	23
3mal	24	"	"	"	0,75-0,80	0,15-0,18	24
4mal	24	"	"	"	1,35-1,40	0,25-0,28	23
5mal	24	"	"	"	1,55-1,65	0,29-0,30	23
6mal	24	"	"	"	1,68-1,75	0,31	22
7mal	24	"	"	"	1,75-1,85	0,31-0,32	23
8mal	24	"	"	"	1,85-1,90	0,31	22
9mal	24	"	"	"	1,75-1,85	0,31	22
10mal	24	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	22
<u>3. Versuch</u>							
	24	"	"	"	0,15-0,20	0,05	20
2mal	24	"	"	"	0,35-0,42	0,08	19
3mal	24	"	"	"	0,70-0,75	0,14-0,16	18
4mal	24	"	"	"	1,25-1,32	0,24-0,25	17
5mal	24	"	"	"	1,45-1,55	0,27-0,29	16
6mal	24	"	"	"	1,65-1,75	0,30-0,31	18
7mal	24	"	"	"	1,75-1,80	0,31-0,32	19
8mal	24	"	"	"	1,80-1,85	0,32	20
9mal	24	"	"	"	1,65-1,75	0,31	19
10mal	24	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	19,5

- 18 -

T a b e l l e 4
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Maden auf Rohwurst bei Zimmertemperatur

				Länge	Dicke	Temperatur
				mm	mm	°C
<u>1. Versuch</u>						
	24	"	"	0,15	0,04	26
	2mal	"	"	0,35-0,44	0,03	25
	3mal	"	"	0,60-0,72	0,10-0,12	23,5
	4mal	"	"	1,15-1,20	0,18-0,20	23
	5mal	"	"	1,42-1,52	0,25-0,27	22,5
	6mal	"	"	1,57-1,63	0,30	22
	7mal	"	"	1,65-1,70	0,31	21
	8mal	"	"	1,55-1,64	0,31	20
	9mal	"	"	1,46-1,55	0,30-0,31	20
	10mal	"	"	Beginn der Verpuppung		20
<u>2. Versuch</u>						
	24	"	"	0,15-0,18	0,04	23
	2mal	"	"	0,38-0,45	0,08-0,10	23
	3mal	"	"	0,60-0,75	0,12-0,14	23
	4mal	"	"	1,18-1,22	0,21-0,23	24
	5mal	"	"	1,25-1,35	0,26-0,28	25
	6mal	"	"	1,48-1,60	0,29-0,30	24
	7mal	"	"	1,60-1,70	0,30-0,31	24
	8mal	"	"	1,70-1,75	0,31	24
	9mal	"	"	1,60-1,70	0,30	23
	10mal	"	"	Beginn der Verpuppung		23
<u>3. Versuch</u>						
	24	"	"	0,15-0,18	0,04-0,05	24
	2mal	"	"	0,32-0,40	0,07-0,08	23
	3mal	"	"	0,57-0,88	0,10-0,12	22,5
	4mal	"	"	0,98-1,15	0,19-0,21	22
	5mal	"	"	1,27-1,38	0,25-0,27	22
	6mal	"	"	1,45-1,59	0,28-0,30	22
	7mal	"	"	1,65-1,72	0,30	23
	8mal	"	"	1,75-1,80	0,31	23
	9mal	"	"	1,65-1,75	0,30-0,31	22
	10mal	"	"	Beginn der Verpuppung		22

- 19 -

Tabelle 5
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Maden auf rohem Seefisch bei Zimmertemperatur

				<u>Länge</u>	<u>Dicke</u>	<u>Temperatur</u>
				<u>cm</u>	<u>cm</u>	<u>°C</u>
<u>1. Versuch</u>						
24 Stunden nach der Eiablage				0,19-0,20	0,04	23
2mal	24	"	"	0,44-0,50	0,07-0,08	23
3mal	24	"	"	0,89-0,95	0,18-0,19	22
4mal	24	"	"	1,58-1,63	0,27-0,29	22
5mal	24	"	"	1,62-1,70	0,31	22
6mal	24	"	"	1,68-1,78	0,31-0,32	23
7mal	24	"	"	1,75-1,85	0,32	23
8mal	24	"	"	1,70-1,75	0,31-0,32	23
9mal	24	"	"	1,60-1,70	0,32	23
10mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		23
<u>2. Versuch</u>						
24				0,19-0,21	0,04	23
2mal	24	"	"	0,45-0,52	0,07-0,08	23
3mal	24	"	"	0,95-1,02	0,18-0,20	22
4mal	24	"	"	1,55-1,60	0,26-0,28	22
5mal	24	"	"	1,65-1,70	0,30-0,31	22
6mal	24	"	"	1,75-1,80	0,31-0,32	23
7mal	24	"	"	1,80-1,85	0,32	23
8mal	24	"	"	1,66-1,75	0,32	23
9mal	24	"	"	1,80-1,68	0,31-0,32	24
10mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		24
<u>3. Versuch</u>						
24				0,18-0,20	0,04	23
2mal	24	"	"	0,44-0,47	0,08	24
3mal	24	"	"	0,80-0,90	0,16-0,18	24
4mal	24	"	"	1,45-1,55	0,25-0,27	23
5mal	24	"	"	1,65-1,75	0,29-0,30	24
6mal	24	"	"	1,75-1,85	0,31	23
7mal	24	"	"	1,85-1,95	0,31-0,33	24
8mal	24	"	"	1,75-1,85	0,32-0,33	24
9mal	24	"	"	1,70-1,75	0,33	24
10mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		24

- 20 -

T a b e l l e 6
Sarcophaga carnaria
 Züchtung der Larven auf rohem Fleisch bei Zimmertemperatur

					Länge	Dicke	Temperatur
					cm	cm	°C
<u>1. Versuch</u>	Maden bei der Ablage				0,35-0,40	0,05	21
	24 Stunden nach	"	"	"	0,48-0,52	0,08	22
2mal	24 "	"	"	"	0,78-0,84	0,15-0,17	24
3mal	24 "	"	"	"	1,45-1,50	0,28-0,29	23
4mal	24 "	"	"	"	1,65-1,75	0,33-0,35	23
5mal	24 "	"	"	"	1,72-1,82	0,35-0,37	23
6mal	24 "	"	"	"	1,85-2,00	0,35-0,40	23
7mal	24 "	"	"	"	1,85-1,92	0,35-0,37	22
8mal	24 "	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	22
<u>2. Versuch</u>	Maden bei der Ablage				0,35-0,40	0,05	25
	24 Stunden nach	"	"	"	0,50-0,60	0,13	24
2mal	24 "	"	"	"	0,70-0,85	0,25	24
3mal	24 "	"	"	"	1,46-1,55	0,29-0,30	23
4mal	24 "	"	"	"	1,65-1,79	0,30-0,32	23
5mal	24 "	"	"	"	1,75-1,90	0,33-0,35	22
6mal	24 "	"	"	"	1,90-2,05	0,40	23
7mal	24 "	"	"	"	1,85-1,95	0,40	23
8mal	24 "	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	23
<u>3. Versuch</u>	Maden bei der Ablage				0,30-0,40	0,05	24
	24 Stunden nach	"	"	"	0,45-0,55	0,09-0,10	24
2mal	24 "	"	"	"	0,70-0,80	0,15-0,20	23
3mal	24 "	"	"	"	1,45-1,55	0,25-0,30	23
4mal	24 "	"	"	"	1,65-1,75	0,30-0,34	22
5mal	24 "	"	"	"	1,75-1,85	0,33-0,35	22
6mal	24 "	"	"	"	1,87-1,98	0,35-0,40	21
7mal	24 "	"	"	"	1,85-1,92	0,35-0,40	21
8mal	24 "	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	21

- 21 -

T a b e l l e 7
Sarcophaga carnaria
 Züchtung der Maden auf Leber bei Zimmertemperatur

		<u>Länge</u>	<u>Dicke</u>	<u>Temperatur</u>
		<u>cm</u>	<u>cm</u>	<u>°C</u>
<u>1. Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,30-0,35	0,05	23
	24 Stunden nach " "	0,43-0,50	0,09	23
2mal	" " " "	0,78-0,84	0,17-0,19	24
3mal	" " " "	1,45-1,52	0,28-0,29	25
4mal	" " " "	1,57-1,75	0,32-0,35	23
5mal	" " " "	1,95-2,29	0,35-0,40	23
6mal	" " " "	1,88-1,95	0,35-0,40	23
7mal	" " " "	Beginn der Verpuppung		24
<u>2. Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,35-0,38	0,05	25
	24 Stunden nach " "	0,45-0,50	0,10	26
2mal	" " " "	0,75-0,85	0,19	26
3mal	" " " "	1,21-1,30	0,25-0,29	26
4mal	" " " "	1,60-1,75	0,32-0,34	27,5
5mal	" " " "	1,98-2,20	0,38-0,40	26
6mal	" " " "	1,88-1,96	0,35-0,40	25
7mal	" " " "	Beginn der Verpuppung		25
<u>3. Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,34-0,40	0,05	25
	24 Stunden nach " "	0,44-0,50	0,09-0,10	24
2mal	" " " "	0,75-0,80	0,19-0,21	23
3mal	" " " "	1,49-1,50	0,30-0,32	23
4mal	" " " "	1,60-1,75	0,35	23
5mal	" " " "	1,95-2,15	0,35-0,40	24
6mal	" " " "	1,85-1,95	0,35-0,40	24
7mal	" " " "	Beginn der Verpuppung		24

- 22 -

Tabelle 8
Sarcophaga Carnaria
 Züchtung der Larven auf gekochtem Fleisch bei Zimmertemperatur

	Länge	Dicke	Temperatur
			°C
<u>1. Versuch</u> Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	22
24 Stunden nach " "	0,45-0,48	0,07	21
2mal 24 " " " "	0,55-0,65	0,09-0,10	21
3mal 24 " " " "	0,72-0,84	0,15-0,17	22
4mal 24 " " " "	1,07-1,18	0,21	23
5mal 24 " " " "	1,25-1,32	0,25-0,27	23
6mal 24 " " " "	1,40-1,55	0,28-0,29	23
7mal 24 " " " "	1,65-1,75	0,30-0,32	23
8mal 24 " " " "	1,77-1,85	0,32-0,33	22
9mal 24 " " " "	1,70-1,75	0,33	22,5
10mal 24 " " " "	Beginn der Verpuppung		22
<u>2. Versuch</u> Maden bei der Ablage	0,36-0,40	0,05-0,06	23
24 Stunden nach " "	0,47-0,51	0,06-0,07	23,5
2mal 24 " " " "	0,60-0,68	0,10-0,11	24
3mal 24 " " " "	0,75-0,85	0,16-0,17	24
4mal 24 " " " "	1,00-1,15	0,21-0,22	23
5mal 24 " " " "	1,27-1,35	0,27	23
6mal 24 " " " "	1,42-1,55	0,29-0,30	22,5
7mal 24 " " " "	1,70-1,80	0,31-0,32	23
8mal 24 " " " "	1,85-1,90	0,33-0,34	23
9mal 24 " " " "	1,75-1,80	0,33	22
10mal 24 " " " "	Beginn der Verpuppung		22
<u>3. Versuch</u> Maden bei der Ablage	0,35-0,39	0,05	21
24 Stunden nach " "	0,45-0,50	0,06-0,07	20
2mal 24 " " " "	0,55-0,60	0,08-0,10	20
3mal 24 " " " "	0,67-0,76	0,14-0,15	20
4mal 24 " " " "	0,83-0,95	0,18-0,20	19
5mal 24 " " " "	1,10-1,20	0,25-0,26	20
6mal 24 " " " "	1,35-1,45	0,28-0,29	20
7mal 24 " " " "	1,57-1,70	0,30	21
8mal 24 " " " "	1,75-1,85	0,31-0,33	21
9mal 24 " " " "	1,85-1,90	0,33-0,34	22
10mal 24 " " " "	1,65-1,75	0,34	21
11mal 24 " " " "	Beginn der Verpuppung		21

- 23 -

T a b e l l e 9
Sarcophaga carnaria
 Züchtung der Larven auf Rohwurst bei Zimmertemperatur

		<u>Länge</u>	<u>Dicke</u>	<u>Temperatur</u>
		<u>cm</u>	<u>cm</u>	<u>°C</u>
<u>1.Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,32-0,38	0,05	23
	24 Stunden nach " "	0,45-0,55	0,07-0,08	23
2mal 24	" " " "	0,60-0,72	0,15	23
3mal 24	" " " "	0,75-0,80	0,16-0,18	22
4mal 24	" " " "	0,80-0,96	0,19-0,20	22
5mal 24	" " " "	1,20-1,33	0,25-0,28	21
6mal 24	" " " "	1,40-1,55	0,30-0,31	20
7mal 24	" " " "	1,60-1,68	0,31-0,32	20
8mal 24	" " " "	1,70-1,83	0,32-0,34	20
9mal 24	" " " "	1,85-1,90	0,34	20
10mal 24	" " " "	1,70-1,80	0,33-0,34	21
11mal 24	" " " "	Beginn der Verpuppung		21
<u>2.Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,34-0,40	0,05	23
	24 Stunden nach " "	0,59-0,60	0,08	22
2mal 24	" " " "	0,63-0,70	0,12-0,14	22
3mal 24	" " " "	0,75-0,85	0,15-0,17	22
4mal 24	" " " "	1,18-1,23	0,21-0,23	23
5mal 24	" " " "	1,44-1,50	0,27-0,28	23
6mal 24	" " " "	1,55-1,63	0,30	22
7mal 24	" " " "	1,65-1,75	0,31-0,32	22
8mal 24	" " " "	1,75-1,82	0,32-0,34	22,5
9mal 24	" " " "	1,65-1,75	0,32-0,34	23
10mal 24	" " " "	Beginn der Verpuppung		23
<u>3.Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,06	24
	24 Stunden nach " "	0,55-0,62	0,08	25
2mal 24	" " " "	0,65-0,70	0,15-0,15	24
3mal 24	" " " "	0,79-0,85	0,17-0,18	24
4mal 24	" " " "	1,15-1,25	0,20-0,24	23
5mal 24	" " " "	1,35-1,45	0,28-0,29	23
6mal 24	" " " "	1,50-1,60	0,30-0,31	23
7mal 24	" " " "	1,65-1,70	0,31	22
8mal 24	" " " "	1,75-1,85	0,32-0,33	22
9mal 24	" " " "	1,70-1,75	0,33	22,5
10mal 24	" " " "	Beginn der Verpuppung		22

- 24 -

T a b e l l e 10
Sarcophaga carnaria
 Züchtung der Larven auf rohem Seefisch bei Zimmertemperatur

		<u>Länge</u>	<u>Dicke</u>	<u>Temperatur</u>
		<u>cm</u>	<u>cm</u>	<u>°C</u>
<u>1.Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	22
	24 Stunden nach der Ablage	0,42-0,50	0,07	23
2mal	" " " "	0,55-0,60	0,10-0,12	23
3mal	" " " "	0,75-0,85	0,18-0,20	24
4mal	" " " "	0,90-1,15	0,22-0,24	23
5mal	" " " "	1,25-1,35	0,25-0,28	23
6mal	" " " "	1,45-1,60	0,30-0,32	22,5
7mal	" " " "	1,70-1,82	0,32-0,34	22
8mal	" " " "	1,85-1,97	0,35	23
9mal	" " " "	1,75-1,85	0,35	23
10mal	" " " "	Beginn der Verpuppung		23
<u>2.Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,32-0,40	0,05	20
	24 Stunden nach der Ablage	0,45-0,50	0,06-0,07	21
2mal	" " " "	0,60-0,70	0,10-0,12	21
3mal	" " " "	0,75-0,80	0,19	22
4mal	" " " "	0,85-1,07	0,20-0,23	22
5mal	" " " "	1,20-1,37	0,25	22,5
6mal	" " " "	1,45-1,50	0,29-0,31	23
7mal	" " " "	1,69-1,80	0,32-0,33	23
8mal	" " " "	1,85-1,95	0,34-0,35	23
9mal	" " " "	1,70-1,85	0,34-0,35	22
10mal	" " " "	Beginn der Verpuppung		22
<u>3.Versuch</u>	Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	19
	24 Stunden nach der Ablage	0,40-0,48	0,06-0,07	19,5
2mal	" " " "	0,50-0,64	0,10-0,11	20
3mal	" " " "	0,70-0,80	0,19-0,20	20
4mal	" " " "	0,86-1,00	0,22-0,23	20
5mal	" " " "	1,25-1,55	0,25-0,26	21
6mal	" " " "	1,40-1,59	0,30	21
7mal	" " " "	1,70-1,85	0,31-0,33	21
8mal	" " " "	1,85-1,98	0,34	22,5
9mal	" " " "	1,75-1,80	0,33-0,34	23
10mal	" " " "	Beginn der Verpuppung		23

- 26 -

Versuchsergebnisse:

Bei Zimmertemperatur begannen die ei- bzw. larventragenden Fliegen der Familien Calliphora und Sarcophaga durchschnittlich nach 1 - 5 Stunden mit der Ablage, nachdem sie vorher den angebotenen Nährboden untersucht und davon gefressen hatten. Das Ausschlüpfen der Larven von Calliphora erythrocephala erfolgte bei Zimmertemperatur auf Fleisch, Fisch und Leber stets früher als auf Wurst und gekochtem Fleisch. Dieses findet seine Erklärung darin, dass die letztgenannten Nährböden weniger Feuchtigkeit enthalten und dadurch die embryonale Entwicklung im Ei hemmen. Im allgemeinen erfolgte das Ausschlüpfen 12 - 24 Stunden nach der Eiablage. Die jungen Larven begaben sich stets unter das betreffende Fleischstück, wo sie meist in Nestern zu 50 - 80 Stück zusammenfaßen. Die Larven begannen bald nach dem Ausschlüpfen mit der Nahrungsaufnahme. Dieses tritt einfallig in Erscheinung bei Züchtungen der Larven auf roher Leber, da hierbei der dunkle Leberbrei im Darmkanal durch die Larvenhaut sichtbar wird.

Diese Erscheinungen sind auch bei den Larven von Sarcophaga carnaria zu beobachten.

Von den angebotenen Nährmedien schien rohe Leber den Larven als Nahrung am meisten zuzusagen. Die auf Leber gezüchteten Larven wuchsen schneller und erreichten auch eine grössere Länge als auf den übrigen Nährböden, was wohl mit dem hohen Nährwert der Leber und ihrer leichten Aufnehmbarkeit durch die Larven zusammenhängt. Bei Calliphora erythrocephala betrug die maximale Länge dabei 2,00 cm bei einer Dicke von 0,32-0,33 cm; bei Sarcophaga carnaria 2,29 cm bei einer Dicke von 0,35-0,40 cm. Die Larven von Sarcophaga haben im Gegensatz zu denen von Calliphora einen elliptischen Querschnitt, weshalb der Durchmesser, von oben genommen, wesentlich grösser ist.

Die Larven von Calliphora erythrocephala waren bei Zimmertemperatur am 5. Lebenstag am grössten, die von Sarcophaga carnaria am 6. Lebenstag. In den nächsten 1 - 2 Tagen konnte, obwohl sich die Maden noch am Nährmaterial befanden, eine Abnahme der Länge und auch der Dicke festgestellt werden. Vermutlich ist die dabei eintretende Verdickung der Haut und der damit verbundene Substanzverlust der Made durch eine Verminderung des Wassergehalts in diesem Stadium bedingt.

Bei den Züchtungen auf rohem Fleisch bei Zimmertemperatur war die Dauer der Larvenperiode genau so lang wie auf Leber (8 Tage). Bei Sarcophaga betrug die Madenperiode auf Fleisch 8 Tage, auf Leber nur 7 Tage.

- 26 -

Es zeigte sich, dass die Larven auf rohem Fleisch, obwohl sie in den ersten Tagen genau so schnell wachsen wie auf Leber, nicht so gross werden wie auf dieser. Die maximale Länge und Dicke erreichten die auf rohem Fleisch und roher Leber gezüchteten Maden am 6. Tag. Die Ausmaße betrugen am 6. Tag auf Fleisch bei Calliphora 1,85 zu 0,32 cm und bei Sarcophaga 2,05 zu 0,40 cm. Auf rohem Fleisch gediehen die Larven beider Fliegenarten ebenfalls sehr gut und wurden teilweise grösser als auf Fleisch. Jedoch dauerte die Madenperiode auf rohem Fisch 2 Tage länger als auf rohem Fleisch. Auf Rohwurst und gekochtes Fleisch ging dagegen das Wachstum, besonders in den ersten Tagen, langsamer vor sich. Eine Beschleunigung des Wachstums erfolgte jeweils erst dann, wenn das Nährmaterial durch Fäulnis schmierig geworden war. Dabei scheint weniger die Fäulnis als solche fördernd zu sein als die Tatsache, dass der Nährboden leichter angreifbar wird und mehr Feuchtigkeit enthält, nachdem ein wachstumsfördernder Einfluss bei rohem Fleisch und bei roher Leber nicht festgestellt werden konnte.

Die maximale Länge, die von den Maden auf Rohwurst und gekochtem Fleisch erreicht wurde, betrug bei Calliphora nur 1,70 - 1,80 cm, bei Sarcophaga 1,85 - 1,90 cm.

Bei Züchtung von Larven aus einem Gelege auf roher Leber und Rohwurst wurden die auf Leber gewachsenen Maden grösser als die auf Rohwurst.

Es scheint also für die erreichbare Länge der Maden in erster Linie die Qualität des Nährbodens bzw. sein Nährstoffgehalt verantwortlich zu sein. Darüber hinaus spielt zweifellos auch die Temperatur eine Rolle für die Entwicklung der Maden; denn die Längenunterschiede, die an einzelnen Tagen erreicht wurden, waren recht verschieden und von der Temperatur abhängig. Sarcophagalarven wuchsen beispielsweise in einem Tag bei 26° C 0,29 - 0,45 cm, während gleichaltrige Larven bei 23° C nur 0,11 - 0,25 cm in 24 Stunden gewachsen waren. Da die Unterschiede in den Längen der einzelnen Individuen eines Geleges sehr gross sind, lassen sich auch Durchschnittswerte, die der Altersbestimmung dienlich sein können, für die Länge der Larven zu bestimmten Zeiten der Madenperiode nicht angeben. So wurden z.B. bei Calliphoralarven auf Leber in den ersten Lebenstagen Unterschiede von 0,45-0,47 cm zwischen einzelnen Larven eines Geleges gemessen. Es war häufig so, dass ein Teil der Larven im Wachstum um einen Tag voraus oder zurück war.

Durch die maximale Länge der Larven wird auch die Grösse der Puppen beeinflusst. Es wurden von Larven aus einem Gelege, die auf verschiedenen Nährböden gehalten worden waren, verschieden grosse Puppen gebildet.

- 27 -

Durchschnittlich hatten die Puppen von *Calliphora erythrocephala* eine Länge von 1,00 cm und einen Durchmesser von 0,40 cm, die Puppen von *Sarcophaga carnaria* dagegen eine Länge von 1,12 cm und einen Durchmesser von 0,45-0,50 cm. Diese unterscheiden sich von den ersteren auch noch durch ihre Farbe und Form. Während die Puppe von *Calliphora* oval, glatt und glänzend ist und mittelbraun, ist die von *Sarcophaga* matt, tief dunkelbraun und hat an den Enden abgeflachte Pole. Die Verpuppung begann bei Zimmertemperatur meist bald, nachdem die Larven vom Nährmaterial abgewandert waren. Sie gruben sich in die Stülpföhne ein und blieben dort unbeweglich liegen. Dann erfolgte eine Zusammenziehung des ganzen Körpers, die Haut wurde fester und mehr und mehr gelb. Nach etwa 3 - 5 Tagen waren die Larven dann zu festen Tännchenpuppen umgewandelt.

2. Züchtung der Maden von *Calliphora erythrocephala* und *Sarcophaga carnaria* bei Kellertemperatur.

Verwendete Nährmedien: rohes Fleisch, rohe Leber, gekochtes Fleisch, Rohwurst und Seefischfleisch.
Temperaturen: 14 - 19° C.
Versuchsordnung: wie unter II angegeben.
Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 11 mit 20 niedergelegt.

- 28 -

Tabelle 11
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Maden auf rohem Fleisch im Keller.

				<u>Länge</u>	<u>Dicke</u>	<u>Temperatur</u>
				<u>mm</u>	<u>mm</u>	<u>°C</u>
<u>1. Versuch:</u>						
	24 Stunden nach der Eiablage				unverändert	16
2mal	24 "	"	"	0,28-0,30	0,04	15
3mal	24 "	"	"	0,34-0,40	0,09	15,5
4mal	24 "	"	"	0,59-0,62	0,12-0,14	15
5mal	24 "	"	"	0,87-0,90	0,18-0,19	16
6mal	24 "	"	"	1,35-1,40	0,25-0,30	16
7mal	24 "	"	"	1,50-1,63	0,30	16,5
8mal	24 "	"	"	1,72-1,78	0,31	16,5
9mal	24 "	"	"	1,70-1,78	0,32	17,-
10mal	24 "	"	"	1,85-1,91	0,32	19
11mal	24 "	"	"	1,65-1,72	0,32	18,5
12mal	24 "	"	"	Beginn der	Verpuppung	19
<u>2. Versuch: 24 Std.</u>						
	24 Stunden	"	"		unverändert	17,5
2mal	24 "	"	"	0,28-0,29	0,05	17
3mal	24 "	"	"	0,54-0,60	0,10	17
4mal	24 "	"	"	0,75-0,85	0,14-0,16	16
5mal	24 "	"	"	1,20-1,32	0,25-0,28	16
6mal	24 "	"	"	1,40-1,55	0,31	16
7mal	24 "	"	"	1,60-1,72	0,32	16
8mal	24 "	"	"	1,70-1,79	0,32	16
9mal	24 "	"	"	1,78-1,92	0,32	18
10mal	24 "	"	"	1,60-1,75	0,33	17
11mal	24 "	"	"	1,55-1,60	0,32	18
12mal	24 "	"	"	Beginn der	Verpuppung	17,5
<u>3. Versuch: 24 Std.</u>						
	24 Stunden	"	"		unverändert	17
2mal	24 "	"	"	0,29-0,30	0,06	17
3mal	24 "	"	"	0,38-0,40	0,09	18
4mal	24 "	"	"	0,60-0,75	0,12-0,14	19
5mal	24 "	"	"	0,85-0,92	0,18-0,20	16
6mal	24 "	"	"	1,22-1,36	0,25-0,28	16
7mal	24 "	"	"	1,65-1,70	0,30-0,32	16
8mal	24 "	"	"	1,75-1,82	0,31-0,32	16
9mal	24 "	"	"	1,85-1,91	0,31-0,32	15
10mal	24 "	"	"	1,68-1,75	0,32	16
11mal	24 "	"	"	1,55-1,65	0,32	17
12mal	24 "	"	"	Beginn der	Verpuppung	17

- 29 -

T a b e l l e 12
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Maden auf Leber im Keller

					Länge	Dicke	Temperatur
					cm	cm	°C
<u>1. Versuch:</u>							
24 Stunden nach der Eiablage						unverändert	16
2mal	24	"	"	"	0,28-0,32	0,06	17
3mal	24	"	"	"	0,35-0,48	0,08	17
4mal	24	"	"	"	0,69-0,75	0,13-0,15	18
5mal	24	"	"	"	1,15-1,19	0,18	19
6mal	24	"	"	"	1,39-1,41	0,26-0,30	16
7mal	24	"	"	"	1,51-1,62	0,29-0,30	16
8mal	24	"	"	"	1,72-1,80	0,30-0,32	16
9mal	24	"	"	"	1,85-1,90	0,32-0,34	16
10mal	24	"	"	"	1,57-1,61	0,33	15
11mal	24	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	15
<u>2. Versuch:</u>							
24 Stunden nach der Eiablage						unverändert	16
2mal	24	"	"	"	0,31-0,35	0,05	16,5
3mal	24	"	"	"	0,48-0,52	0,08	16,5
4mal	24	"	"	"	0,69-0,80	0,14-0,15	16,5
5mal	24	"	"	"	1,18-1,20	0,23-0,25	17
6mal	24	"	"	"	1,55-1,62	0,31	19
7mal	24	"	"	"	1,70-1,82	0,33-0,34	18,5
8mal	24	"	"	"	1,85-1,95	0,33	18,5
9mal	24	"	"	"	1,68-1,75	0,32	19
10mal	24	"	"	"	1,59-1,66	0,32	19
11mal	24	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	18,5
<u>3. Versuch:</u>							
24 Stunden nach der Eiablage						unverändert	16
2mal	24	"	"	"	0,31-0,35	0,06	16,5
3mal	24	"	"	"	0,48-0,52	0,06-0,09	16,5
4mal	24	"	"	"	0,68-0,75	0,17-0,18	16,5
5mal	24	"	"	"	1,25-1,28	0,25-0,27	17
6mal	24	"	"	"	1,64-1,69	0,31-0,32	19
7mal	24	"	"	"	1,73-1,82	0,33	18,5
8mal	24	"	"	"	1,86-1,93	0,32	18,5
9mal	24	"	"	"	1,57-1,61	0,32	19
10mal	24	"	"	"	1,55-1,67	0,32	19
11mal	24	"	"	"	Beginn der	Verpuppung	18,5

- 30 -

Tabelle 13
Calliphora erythrocephala

Züchtung der Larven auf gekochtem Fleisch im Keller.

1.Versuch:				Länge cm	Dicke cm	Temper. °C
24 Stunden nach der Eiablage					unverändert	16
2mal	24	"	"	0,25-0,29	0,05	16
3mal	24	"	"	0,48-0,51	0,08-0,09	16
4mal	24	"	"	0,65-0,70	0,12-0,14	17
5mal	24	"	"	1,00-1,10	0,16-0,18	18
6mal	24	"	"	1,33-1,37	0,25-0,28	17,5
7mal	24	"	"	1,50-1,58	0,29-0,30	17,5
8mal	24	"	"	1,55-1,65	0,30-0,31	17
9mal	24	"	"	1,65-1,75	0,31-0,32	17
10mal	24	"	"	1,75-1,85	0,32	16
11mal	24	"	"	1,70-1,75	0,31-0,32	16
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		16
2.Versuch:						
24					unverändert	17
2mal	24	"	"	0,24-0,28	0,06	16
3mal	24	"	"	0,45-0,50	0,08	16
4mal	24	"	"	0,65-0,75	0,13-0,14	16
5mal	24	"	"	1,05-1,15	0,17	17
6mal	24	"	"	1,35-1,40	0,23-0,26	18
7mal	24	"	"	1,45-1,55	0,29-0,30	17,5
8mal	24	"	"	1,60-1,70	0,31-0,32	17,5
9mal	24	"	"	1,70-1,75	0,32	17
10mal	24	"	"	1,78-1,87	0,32-0,33	17
11mal	24	"	"	1,70-1,73	0,32	16
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		16
3.Versuch:						
24					unverändert	16
2mal	24	"	"	0,25-0,30	0,06	16
3mal	24	"	"	0,45-0,50	0,08-0,09	16
4mal	24	"	"	0,63-0,70	0,13	17
5mal	24	"	"	0,85-0,97	0,17-0,18	18
6mal	24	"	"	1,23-1,34	0,24-0,25	17,5
7mal	24	"	"	1,40-1,57	0,28-0,30	17,5
8mal	24	"	"	1,63-1,71	0,30-0,31	17
9mal	24	"	"	1,74-1,80	0,31-0,32	17
10mal	24	"	"	1,80-1,90	0,32	16
11mal	24	"	"	1,70-1,77	0,31-0,31	16
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		16

- 31 -

Tabelle 14
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf Rohesrat in Keller.

1. Versuch:				Länge cm	Dicke cm	Temper. °C
24 Stunden nach der Eiablage					unverändert	16,5
2mal	24	"	"	0,18-0,20	0,04	16,5
3mal	24	"	"	0,35-0,40	0,07-0,08	16,5
4mal	24	"	"	0,65-0,72	0,12-0,14	17
5mal	24	"	"	1,15-1,20	0,20-0,23	18
6mal	24	"	"	1,25-1,35	0,25	19
7mal	24	"	"	1,40-1,49	0,28-0,29	18,5
8mal	24	"	"	1,64-1,70	0,30-0,31	18,5
9mal	24	"	"	1,70-1,75	0,31-0,32	19
10mal	24	"	"	1,68-1,73	0,32	19
11mal	24	"	"	1,65-1,70	0,32	19,5
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		18,5
2. Versuch:						
24					unverändert	15
2mal	24	"	"	0,15-0,18	0,04	15
3mal	24	"	"	0,35-0,38	0,07-0,08	15
4mal	24	"	"	0,60-0,65	0,12-0,14	15,5
5mal	24	"	"	0,85-1,00	0,20	16
6mal	24	"	"	1,15-1,25	0,23-0,25	16
7mal	24	"	"	1,30-1,40	0,28-0,29	16
8mal	24	"	"	1,50-1,58	0,30	17
9mal	24	"	"	1,65-1,74	0,31	17
10mal	24	"	"	1,70-1,78	0,31-0,32	17,5
11mal	24	"	"	1,68-1,70	0,31	17
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		17
3. Versuch:						
24					unverändert	16
2mal	24	"	"	0,16-0,20	0,05	17
3mal	24	"	"	0,35-0,40	0,08	17
4mal	24	"	"	0,65-0,75	0,13-0,14	17,5
5mal	24	"	"	0,95-1,10	0,20-0,23	18
6mal	24	"	"	1,20-1,35	0,25-0,26	18
7mal	24	"	"	1,40-1,50	0,28-0,29	18,5
8mal	24	"	"	1,65-1,70	0,30-0,31	18,5
9mal	24	"	"	1,75-1,80	0,32	19
10mal	24	"	"	1,80-1,85	0,32	18
11mal	24	"	"	1,70-1,74	0,32	18
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		17

- 32 -

T a b e l l e 15
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf rohem Seefisch im Keller.

1. Versuch:				Länge cm	Dicke cm	Temper. °C
24 Stunden nach der Eiablage					unverändert	15
2mal	24	"	"	0,30-0,35	0,06-0,08	15
3mal	24	"	"	0,50-0,60	0,13-0,15	15
4mal	24	"	"	0,85-0,98	0,18-0,20	16
5mal	24	"	"	1,54-1,63	0,28-0,30	16,5
6mal	24	"	"	1,75-1,80	0,30-0,33	16,5
7mal	24	"	"	1,80-1,85	0,33	16,5
8mal	24	"	"	1,85-1,90	0,33-0,34	17
9mal	24	"	"	1,89-1,93	0,33	19
10mal	24	"	"	1,80-1,85	0,33	18,5
11mal	24	"	"	1,65-1,70	0,33-0,32	18
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		19
2. Versuch:						
24					unverändert	16
2mal	24	"	"	0,28-0,35	0,05-0,06	16,5
3mal	24	"	"	0,48-0,52	0,10-0,12	16,5
4mal	24	"	"	0,65-0,75	0,14-0,16	16,5
5mal	24	"	"	1,15-1,25	0,20-0,25	17
6mal	24	"	"	1,48-1,60	0,26-0,29	17
7mal	24	"	"	1,70-1,80	0,30-0,31	19
8mal	24	"	"	1,80-1,85	0,31-0,33	18,5
9mal	24	"	"	1,85-1,95	0,33	18,5
10mal	24	"	"	1,75-1,80	0,32-0,33	19
11mal	24	"	"	1,60-1,75	0,32	19
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		18,5
3. Versuch:						
24					unverändert	15
2mal	24	"	"	0,28-0,30	0,06	15
3mal	24	"	"	0,40-0,50	0,08-0,10	15
4mal	24	"	"	0,60-0,75	0,10-0,14	15
5mal	24	"	"	0,80-0,95	0,13-0,15	15
6mal	24	"	"	1,40-1,50	0,25-0,27	15
7mal	24	"	"	1,67-1,70	0,29-0,30	14,5
8mal	24	"	"	1,70-1,75	0,31	14
9mal	24	"	"	1,78-1,85	0,32-0,33	14
10mal	24	"	"	1,80-1,87	0,33	14,5
11mal	24	"	"	1,68-1,70	0,32	17
12mal	24	"	"	Beginn der Verpuppung		14

- 33 -

Tabelle 16
Sarcophaga carnaria
 Züchtung der Larven auf rohem Fleisch im Keller.

	<u>Länge cm</u>	<u>Dicke cm</u>	<u>Temper. °C</u>
1. Versuch:			
Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	16
24 Stunden nach der Ablage	0,49-0,52	0,09	16
2mal 24 " " " "	0,64-0,76	0,14-0,15	16
3mal 24 " " " "	0,98-1,00	0,21	16
4mal 24 " " " "	1,18-1,25	0,27-0,29	18
5mal 24 " " " "	1,40-1,55	0,32-0,34	17
6mal 24 " " " "	1,65-1,75	0,34-0,35	18
7mal 24 " " " "	1,82-1,93	0,35	18
8mal 24 " " " "	1,95-2,02	0,35-0,40	17,5
9mal 24 " " " "	1,95-2,00	0,35-0,40	17,5
10mal 24 " " " "	1,85-1,90	0,35-0,40	17,5
11mal 24 " " " "	Beginn der Verpuppung		18
2. Versuch:			
Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	18
24 Stunden nach der Ablage	0,45-0,49	0,08-0,09	18
2mal 24 " " " "	0,65-0,75	0,14-0,15	18,5
3mal 24 " " " "	0,97-1,02	0,21-0,22	18,5
4mal 24 " " " "	1,20-1,32	0,28-0,30	19
5mal 24 " " " "	1,47-1,55	0,31-0,32	18
6mal 24 " " " "	1,63-1,77	0,33-0,35	18
7mal 24 " " " "	1,85-1,95	0,35-0,40	17
8mal 24 " " " "	1,95-2,00	0,40	17
9mal 24 " " " "	2,02-2,09	0,40-0,41	17,5
10mal 24 " " " "	1,96-2,00	0,41	18
11mal 24 " " " "	Beginn der Verpuppung		18
3. Versuch:			
Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	17
24 Stunden nach der Ablage	0,45-0,50	0,09-0,10	17
2mal 24 " " " "	0,60-0,75	0,15	17,5
3mal 24 " " " "	0,95-1,04	0,20-0,22	18
4mal 24 " " " "	1,35-1,50	0,28-0,30	18
5mal 24 " " " "	1,65-1,78	0,34	18,5
6mal 24 " " " "	1,80-1,92	0,35-0,37	18
7mal 24 " " " "	1,97-2,05	0,35-0,40	19
8mal 24 " " " "	2,02-2,10	0,40	18
9mal 24 " " " "	1,95-2,00	0,41	18
10mal 24 " " " "	1,80-1,97	0,41	17,5
11mal 24 " " " "	Beginn der Verpuppung		17

- 34 -

Tabelle 17

Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf Leber im Keller

			Länge cm	Dicke cm	Temper. °C
<u>1. Versuch: Maden bei der Ablage</u>					
	24 Stunden nach	"	0,35-0,40	0,05	19
2mal	"	"	0,49-0,55	0,08-0,09	19
3mal	"	"	0,68-0,70	0,14-0,15	18,5
4mal	"	"	0,79-1,05	0,20-0,21	18,5
5mal	"	"	1,50-1,60	0,28-0,31	19
6mal	"	"	1,95-2,00	0,34-0,35	19
7mal	"	"	2,00-2,05	0,37-0,40	20
8mal	"	"	2,08-2,15	0,40	20
9mal	"	"	1,95-2,03	0,40-0,45	19
10mal	"	"	1,85-2,00	0,45	18,5
11mal	"	"	2,00	0,45	18,5
11mal	"	"	Beginn der Verpuppung		17
<u>2. Versuch: Maden bei der Ablage</u>					
	24 Stunden nach	"	0,35-0,40	0,05	19,5
2mal	"	"	0,40-0,50	0,05	18,5
3mal	"	"	0,65-0,74	0,15	19
4mal	"	"	1,17-1,20	0,22-0,24	20
5mal	"	"	1,50-1,70	0,32	20
6mal	"	"	1,97-2,07	0,35-0,40	19
7mal	"	"	2,15-2,28	0,45	19
8mal	"	"	2,05-2,23	0,45	18,5
9mal	"	"	1,95-2,23	0,45	18,5
10mal	"	"	1,95-2,00	0,45	17,5
11mal	"	"	1,85-1,95	0,45	17
11mal	"	"	Beginn der Verpuppung		17
<u>3. Versuch: Maden bei der Ablage</u>					
	24 Stunden nach	"	0,30-0,40	0,05	18
2mal	"	"	0,45-0,50	0,07-0,08	17
3mal	"	"	0,65-0,80	0,14-0,15	17,5
4mal	"	"	0,95-1,12	0,20-0,21	18
5mal	"	"	1,45-1,65	0,28-0,31	18
6mal	"	"	1,89-2,00	0,33-0,35	18,5
7mal	"	"	2,05-2,12	0,35-0,40	19
8mal	"	"	2,15-2,24	0,40-0,45	19
9mal	"	"	2,05-2,10	0,45	19
10mal	"	"	1,96-2,02	0,45	18,5
11mal	"	"	1,90-2,00	0,44-0,45	18
11mal	"	"	Beginn der Verpuppung		18

- 35 -

Tabelle 18

Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf gekochtem Fleisch im Keller.

				Länge cm	Dicke cm	Temper. °C
<u>1. Versuch: Maden bei der Ablage</u>				0,35-0,40	0,05	16
24 Stunden nach " "				0,45-0,50	0,06-0,08	15
2mal	24	"	"	0,55-0,70	0,10-0,11	15,5
3mal	24	"	"	0,77-0,82	0,15-0,18	15
4mal	24	"	"	0,88-0,96	0,22-0,24	16
5mal	24	"	"	1,05-1,17	0,26-0,28	15
6mal	24	"	"	1,25-1,35	0,30-0,31	16,5
7mal	24	"	"	1,48-1,56	0,32	16,5
8mal	24	"	"	1,67-1,75	0,33-0,34	17
9mal	24	"	"	1,80-1,97	0,35-0,36	19
10mal	24	"	"	1,85-1,95	0,35	18,5
11mal	24	"	"	1,78-1,86	0,35	19
12mal	24	"	"	Beginn der	Verpuppung	19
<u>2. Versuch: Maden bei der Ablage</u>				0,36-0,40	0,05	17
24 Stunden nach " "				0,47-0,50	0,07-0,08	17
2mal	24	"	"	0,56-0,68	0,11-0,12	16
3mal	24	"	"	0,75-0,85	0,17-0,19	16
4mal	24	"	"	0,92-1,06	0,23-0,24	16
5mal	24	"	"	1,11-1,23	0,27-0,29	16
6mal	24	"	"	1,27-1,35	0,30-0,32	16
7mal	24	"	"	1,46-1,59	0,32-0,34	18
8mal	24	"	"	1,65-1,73	0,34	17
9mal	24	"	"	1,84-2,02	0,34-0,35	18
10mal	24	"	"	1,95-2,05	0,35	17,5
11mal	24	"	"	1,83-1,90	0,35	17
12mal	24	"	"	Beginn der	Verpuppung	17
<u>3. Versuch: Maden bei der Ablage</u>				0,35-0,40	0,06	17
24 Stunden nach " "				0,43-0,51	0,07-0,08	17
2mal	24	"	"	0,54-0,70	0,10-0,12	18
3mal	24	"	"	0,75-0,85	0,18-0,20	19
4mal	24	"	"	0,90-1,03	0,23-0,25	16
5mal	24	"	"	1,09-1,20	0,26-0,28	16
6mal	24	"	"	1,25-1,33	0,29-0,30	16
7mal	24	"	"	1,45-1,60	0,31-0,33	16
8mal	24	"	"	1,67-1,76	0,34-0,35	15
9mal	24	"	"	1,82-1,95	0,35	16
10mal	24	"	"	1,95-2,00	0,35-0,36	16,5
11mal	24	"	"	1,85-1,91	0,35	17
12mal	24	"	"	Beginn der	Verpuppung	17

- 36 -

Tabelle 19
Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf Rohwurst im Keller.

1. Versuch: Maden bei der Ablage		Länge ca	Dicke ca	Temper. °C
	24 Stunden nach " "	0,35-0,40	0,05	17
2mal	" " " "	0,45-0,50	0,07-0,08	16
3mal	" " " "	0,52-0,60	0,10-0,12	16
4mal	" " " "	0,65-0,72	0,15-0,18	16
5mal	" " " "	0,79-0,85	0,20-0,23	16
6mal	" " " "	0,96-1,12	0,28	18
7mal	" " " "	1,28-1,35	0,30-0,31	17
8mal	" " " "	1,47-1,60	0,32	18
9mal	" " " "	1,75-1,83	0,32-0,33	18
10mal	" " " "	1,85-1,90	0,34	17,5
11mal	" " " "	1,79-1,86	0,34-0,35	17,5
12mal	" " " "	1,75-1,80	0,35	17
		Beginn der Verpuppung		18
2. Versuch: Maden bei der Ablage		Länge ca	Dicke ca	Temper. °C
	24 Stunden nach " "	0,35-0,40	0,06	17
2mal	" " " "	0,47-0,51	0,08	18
3mal	" " " "	0,55-0,62	0,11-0,12	18
4mal	" " " "	0,70-0,77	0,17-0,19	17,5
5mal	" " " "	0,80-0,89	0,20-0,24	17,5
6mal	" " " "	0,95-1,15	0,28-0,30	17
7mal	" " " "	1,30-1,37	0,31	18
8mal	" " " "	1,45-1,58	0,32-0,33	18
9mal	" " " "	1,73-1,85	0,33-0,34	17
10mal	" " " "	1,85-1,95	0,35	17
11mal	" " " "	1,78-1,90	0,35	17,5
12mal	" " " "	1,74-1,85	0,34-0,35	18
		Beginn der Verpuppung		17
3. Versuch: Maden bei der Ablage		Länge ca	Dicke ca	Temper. °C
	24 Stunden nach " "	0,35-0,39	0,05	17
2mal	" " " "	0,43-0,50	0,07-0,09	17,5
3mal	" " " "	0,53-0,62	0,10-0,11	17,5
4mal	" " " "	0,67-0,75	0,16-0,18	17
5mal	" " " "	0,78-0,83	0,20-0,22	18
6mal	" " " "	0,90-1,07	0,27-0,29	17
7mal	" " " "	1,20-1,32	0,30	16
8mal	" " " "	1,40-1,53	0,31-0,32	16
9mal	" " " "	1,65-1,78	0,32	15
10mal	" " " "	1,80-1,88	0,33-0,34	15
11mal	" " " "	1,82-1,85	0,34	15,5
12mal	" " " "	1,77-1,80	0,33-0,34	16
		Beginn der Verpuppung		16

- 37 -

Tabelle 20

Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf rohem Seefisch im Keller.

	<u>Länge cm</u>	<u>Dicke cm</u>	<u>Temper. °C</u>
<u>1. Versuch:</u> Maden bei der Ablage	0,36-0,40	0,05	18
24 Stunden nach " "	0,50-0,60	0,09-0,10	17
2mal 24 " " " "	0,65-0,75	0,15-0,16	17
3mal 24 " " " "	0,95-1,10	0,20-0,22	17,5
4mal 24 " " " "	1,20-1,32	0,25-0,28	18
5mal 24 " " " "	1,35-1,50	0,30-0,32	17
6mal 24 " " " "	1,62-1,70	0,32-0,34	17
7mal 24 " " " "	1,75-1,87	0,35	17,5
8mal 24 " " " "	1,85-1,96	0,35-0,37	18
9mal 24 " " " "	1,97-2,05	0,35-0,37	18
10mal 24 " " " "	1,95-2,00	0,38	18
11mal 24 " " " "	Beginn der	Verpuppung	17
<u>2. Versuch:</u> Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,05	17
24 Stunden nach " "	0,48-0,52	0,10-0,11	17
2mal 24 " " " "	0,65-0,70	0,14-0,15	17,5
3mal 24 " " " "	0,82-0,98	0,21	18
4mal 24 " " " "	1,15-1,25	0,26-0,28	18
5mal 24 " " " "	1,30-1,45	0,29-0,30	18
6mal 24 " " " "	1,57-1,68	0,32-0,33	17,5
7mal 24 " " " "	1,75-1,85	0,33-0,35	17
8mal 24 " " " "	1,88-1,95	0,35	17
9mal 24 " " " "	1,95-2,03	0,36-0,40	17,5
10mal 24 " " " "	1,84-2,00	0,40	18
11mal 24 " " " "	Beginn der	Verpuppung	18
<u>3. Versuch:</u> Maden bei der Ablage	0,35-0,40	0,06	18
24 Stunden nach " "	0,50-0,59	0,09-0,10	18
2mal 24 " " " "	0,63-0,75	0,15-0,16	17,5
3mal 24 " " " "	0,92-1,05	0,19-0,21	18
4mal 24 " " " "	1,22-1,30	0,25-0,26	18
5mal 24 " " " "	1,32-1,47	0,28-0,30	17
6mal 24 " " " "	1,55-1,70	0,31-0,32	17
7mal 24 " " " "	1,75-1,83	0,33-0,34	16,5
8mal 24 " " " "	1,85-1,94	0,34-0,35	16
9mal 24 " " " "	1,97-2,02	0,35-0,40	16
10mal 24 " " " "	1,85-1,95	0,40	17
11mal 24 " " " "	Beginn der	Verpuppung	17

- 38 -

Versuchsergebnisse:

Die Eiablage fand bei Kellertemperatur (14-19° C) meist einige Stunden später statt als bei Zimmertemperatur (21-25° C). Auch Sarcophaga legte ihre Larven erst nach einigen Stunden des Aufenthalts im Kellerraum ab.

Während die Sarcophagalarven nach 24 Stunden meist schon dieselbe Länge erreicht hatten wie bei Zimmertemperatur, waren die Gelege von Calliphora erythrocephala nach 24 Stunden stets noch unverändert. Das Auschlüpfen erfolgte etwa 26-36 Stunden nach der Ablage.

Die maximale Grösse, die von den Larven beider Fliegenarten erreicht wurde, war ungefähr die gleiche wie bei Zimmertemperatur; Calliphoralarven hatten die maximale Länge am 9. - 10. Tage erreicht, Sarcophagalarven am 7. - 9. Tage nach der Ablage. Die ersteren wachsen also schneller, da sie ja erst am 2. Tage nach der Ablage Larven sind und Nahrung aufnehmen können, und ausserdem an diesem Tage erst halb so gross waren wie Sarcophagalarven und nach Abschluss der Madenperiode annähernd deren maximale Grösse erreichen.

Bei Kellertemperatur waren die Höchststauße der Larven von Calliphora am grössten auf roher Leber und auf Fischfleisch, kleiner auf rohem Fleisch und am kleinsten auf gekochtem Fleisch und Rohwurst. Unter denselben Temperaturverhältnissen wurden bei den Larven von Sarcophaga die höchsten maximalen Längen auf Leber und rohem Fleisch, geringere auf Fischfleisch, gekochtem Fleisch und Rohwurst erzielt.

Diese Feststellungen sprechen dafür, dass die Beschaffenheit des Nährbodens von wesentlicher Bedeutung für die von einer Fliegenmade zu erreichende Grösse ist.

Die täglichen Längenzunahmen waren bei den Larven beider Fliegenarten verschieden je nach der Temperatur und nach dem Alter der Larven. So wuchsen beispielsweise die Larven von Calliphora erythrocephala auf rohem Fleisch vom 3. auf den 4. Tag nach der Ablage bei 15° C 0,04-0,10 cm, bei 18° C dagegen 0,20 - 0,35 cm; die Larven von Sarcophaga auf demselben Nährmedium vom 1. auf den 2. Tag nach der Ablage bei 16° C 0,12 - 0,24 cm, bei 18° C 0,16-0,26 cm.

Die Verzögerung des Wachstums bei den Temperaturen im Keller bewirkte auch eine Verlängerung der ganzen Larvenperiode. Sie betrug für beide Fliegenarten 11 - 12 Tage. Ebenso ging die Bildung der Puppen langsamer vor sich.

Auch bei Kellertemperatur waren die individuellen Längenunterschiede der Maden gleichen Alters sehr gross. Bei Calliphora betrug sie an einem

Tage bis zu 0,13 cm, bei Sarcophaga bis zu 0,20 cm, was wiederum in Übereinstimmung mit den bei Zimmertemperatur gezüchteten Maden steht und dartut, dass die Längen- und Dickemaße eine Altersbestimmung nur in unzuverlässiger Weise gestatten.

3. Züchtung der Larven von Calliphora erythrocephala und Sarcophaga carnaria bei Kühlraumtemperatur.

Verwendete Nährmedien: rohes Fleisch, rohe Leber, gekochtes Fleisch, Rohwurst und rohes Seefischfleisch.
Temperaturen: 0 - 11° C.
Versuchsordnung: wie unter II angegeben.
Die Versuchsergebnisse sind in den Tabellen 21 a und b mit 30 a und b niedergelegt.

Tabelle 21a
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf rohem Fleisch im Kühlraum.

1. Versuch:					Länge	Dicke	Temperatur
24 Stunden nach der Eiablage					cm	cm	°C
2mal 24	"	"	"	"	unverändert		7
3mal 24	"	"	"	"			7
4mal 24	"	"	"	"			8
5mal 24	"	"	"	"			8
6mal 24	"	"	"	"	0,13-0,15	0,03	6
7mal 24	"	"	"	"	0,17-0,18	0,04	6
8mal 24	"	"	"	"	0,19	0,04	10
9mal 24	"	"	"	"	0,20-0,21	0,05	6
10mal 24	"	"	"	"	0,20-0,21	0,05	5
11mal 24	"	"	"	"	0,21-0,25	0,05	7,5
12mal 24	"	"	"	"	0,25-0,27	0,05	7
13mal 24	"	"	"	"	0,27	0,07	8
14mal 24	"	"	"	"	0,28-0,29	0,07	8
15mal 24	"	"	"	"	0,30	0,08	5
16mal 24	"	"	"	"	0,32-0,35	0,08	7
17mal 24	"	"	"	"	0,37-0,40	0,08-0,09	7
18mal 24	"	"	"	"	0,39-0,45	0,09	10
19mal 24	"	"	"	"	0,49-0,52	0,10	11
20mal 24	"	"	"	"	0,57-0,62	0,12	6
21mal 24	"	"	"	"	0,61-0,63	0,12	5,5
22mal 24	"	"	"	"	0,64-0,68	0,14	6
23mal 24	"	"	"	"	0,69-0,70	0,15	6
24mal 24	"	"	"	"	0,71-0,75	0,15	6
25mal 24	"	"	"	"	0,72-0,78	0,15	5
26mal 24	"	"	"	"	0,75-0,80	0,16	6
27mal 24	"	"	"	"	0,80-0,85	0,16	7
28mal 24	"	"	"	"	0,87-1,05	0,17	7,5
29mal 24	"	"	"	"	1,10-1,12	0,18	8
30mal 24	"	"	"	"	1,15-1,30	0,20	8
31mal 24	"	"	"	"	1,45-1,55	0,25	11
32mal 24	"	"	"	"	1,58-1,65	0,29-0,30	11,5
33mal 24	"	"	"	"	1,65	0,30	3
34mal 24	"	"	"	"	1,65	0,30	0
35mal 24	"	"	"	"	1,65-1,70	0,30	6
36mal 24	"	"	"	"	1,70-1,75	0,30	5,5
37mal 24	"	"	"	"	1,72-1,75	0,30	6
38mal 24	"	"	"	"	1,75-1,77	0,30	4
39mal 24	"	"	"	"	1,69-1,72	0,30	6

Vom 30. bis 48. Tag gleichbleibend in Länge und Dicke.
 Temperatur zwischen 6 und 9°. Vom 48. Tag an begann die
 Verpuppung.

Tabelle 21a
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf rohem Fleisch im Kühlraum.

1. Versuch:		Länge		Dicke		Temperatur	
24 Stunden nach der Eiablage		cm	mm	cm	mm	°C	°F
2mal 24	"			unverändert		7	
3mal 24	"			"		7	
4mal 24	"			"		8	
5mal 24	"			"		8	
6mal 24	"			"		6	
7mal 24	"			"		6	
8mal 24	"			"		10	
9mal 24	"			"		6	
10mal 24	"			"		5	
11mal 24	"			"		7,5	
12mal 24	"			"		7	
13mal 24	"			"		8	
14mal 24	"			"		8	
15mal 24	"			"		5	
16mal 24	"			"		7	
17mal 24	"			"		7	
18mal 24	"			"		10	
19mal 24	"			"		11	
20mal 24	"			"		€	
21mal 24	"			"		5,5	
22mal 24	"			"		€	
23mal 24	"			"		6	
24mal 24	"			"		5	
25mal 24	"			"		6	
26mal 24	"			"		7	
27mal 24	"			"		7,5	
28mal 24	"			"		8	
29mal 24	"			"		8	
30mal 24	"			"		11	
31mal 24	"			"		11,5	
32mal 24	"			"		3	
33mal 24	"			"		0	
34mal 24	"			"		5	
35mal 24	"			"		5,5	
36mal 24	"			"		6	
37mal 24	"			"		4	
38mal 24	"			"		6	

Vom 59. bis 48. Tag gleichbleibend in Länge und Dicke.
 Temperatur zwischen 6 und 9 °. Vom 48. Tag an begann die
 Verpuppung.

Tabelle 2a
 Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf roher Leber bei Körpertemperatur.

1. Versuch:	24 Stunden nach der Eisblase	Länge cm	Dicke cm	Temperatur °C
		unverändert		
2mal 24	"	0,16-0,17	0,03	7
3mal 24	"	0,18	0,03	7
4mal 24	"	0,18-0,19	0,04	6
5mal 24	"	0,20-0,22	0,04-0,05	7
6mal 24	"	0,22-0,23	0,05	6
7mal 24	"	0,24-0,27	0,06	7
8mal 24	"	0,28-0,29	0,06-0,07	6
9mal 24	"	0,28-0,29	0,07	7
10mal 24	"	0,29	0,07	5
11mal 24	"	0,29-0,30	0,07	5
12mal 24	"	0,31	0,07	5
14mal 24	"	0,32-0,35	0,07-0,08	7
16mal 24	"	0,37-0,40	0,08	7
17mal 24	"	0,43-0,45	0,08	8
18mal 24	"	0,46-0,47	0,08	5
19mal 24	"	0,48	0,08	5,5
20mal 24	"	0,50-0,52	0,08-0,09	7
21mal 24	"	0,55	0,09	10
22mal 24	"	0,58-0,61	0,09	7
23mal 24	"	0,62-0,65	0,09-0,10	5
24mal 24	"	0,67-0,70	0,10	7,5
25mal 24	"	0,78-0,80	0,12	7
26mal 24	"	0,82-0,85	0,13	8
27mal 24	"	0,90-0,95	0,14	5
28mal 24	"	0,98-1,03	0,15	7
29mal 24	"	1,10-1,15	0,19-0,20	10
30mal 24	"	1,25-1,30	0,22-0,23	11
31mal 24	"	1,35-1,37	0,25	6
32mal 24	"	1,40-1,42	0,26	5,5
33mal 24	"	1,44-1,45	0,27	6
34mal 24	"	1,48-1,50	0,27-0,28	6
35mal 24	"	1,58-1,60	0,29	6
36mal 24	"	1,62-1,64	0,30	5
37mal 24	"	1,65-1,67	0,30	7
38mal 24	"	1,70-1,75	0,30-0,31	8
39mal 24	"	1,80-1,85	0,31	10
40mal 24	"	1,80-1,85	0,31	10,5
41mal 24	"	1,80	0,31	7

Vom 42. bis 49. Tag gleichbleibend in Länge und Dicke.
 Temperatur zwischen 5 und 8° C.
 Am 50. Tag Beginn der Verpuppung.

Tabelle 23 a
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf getöchtetes Fleisch bei Kühlraumtemperatur.

1. Versuch:	24 Stunden nach der Einlage	Länge cm	Dicke cm	Temperatur C
2mal 24	"	unverändert	"	6
3mal 24	"	"	"	7,
4mal 24	"	"	"	5,5
5mal 24	"	"	"	8
6mal 24	"	"	"	5
7mal 24	"	0,15-0,18	0,04	7
8mal 24	"	0,18-0,19	0,05	8
9mal 24	"	0,21-0,23	0,05	9
10mal 24	"	0,24-0,25	0,05	9
11mal 24	"	0,26-0,28	0,05	10
12mal 24	"	0,30-0,32	0,05-0,06	4
13mal 24	"	0,31-0,33	0,06	5
14mal 24	"	0,32-0,34	0,06	5,5
15mal 24	"	0,32-0,34	0,07	7
16mal 24	"	0,35-0,38	0,07	7
17mal 24	"	0,37-0,40	0,08	7,5
18mal 24	"	0,42-0,44	0,08	8
19mal 24	"	0,45-0,50	0,09	9
20mal 24	"	0,50-0,53	0,09-0,10	7
21mal 24	"	0,55-0,58	0,10-0,11	8
22mal 24	"	0,60-0,64	0,11	6
23mal 24	"	0,64-0,66	0,11	6
24mal 24	"	0,70-0,75	0,12-0,15	9
25mal 24	"	0,75-0,78	0,13	7
26mal 24	"	0,80-0,85	0,14	8
27mal 24	"	0,90-0,97	0,14-0,15	9
28mal 24	"	0,98-1,04	0,17-0,18	7
29mal 24	"	1,05-1,10	0,19	4
30mal 24	"	1,15-1,20	0,20	5
31mal 24	"	1,20-1,22	0,20	4
32mal 24	"	1,21-1,23	0,21	7
33mal 24	"	1,25-1,30	0,22	6
34mal 24	"	1,30-1,33	0,23	5,5
35mal 24	"	1,32-1,36	0,23	5
36mal 24	"	1,37-1,40	0,23	5
37mal 24	"	1,42-1,45	0,24	3,5
38mal 24	"	1,44-1,45	0,24	4
39mal 24	"	1,45-1,47	0,24-0,25	6
40mal 24	"	1,47-1,52	0,25	8
41mal 24	"	1,55-1,60	0,26	9
42mal 24	"	1,63-1,66	0,28	10
43mal 24	"	1,66-1,72	0,28-0,29	7
44mal 24	"	1,65-1,72	0,29	6
45mal 24	"	1,60-1,65	0,29	5,5
46mal 24	"	1,62-1,65	0,29	7

Vom 46. - 50. Tag gleichbleibend in Länge und Dicke.
 Temperatur zwischen 5 und 8°.
 Am 51. Tage Beginn der Verpuppung.

Tabelle 24a
Calliphora erythrocephala
Züchtung der Larven auf Rohmehl bei Körpertemperatur.

1. Versuch:		Länge cm	Dicke cm	Temperatur °C
24 Stunden nach der Eiablage	unverändert			
2mal 24	"			6
3mal 24	"			7
4mal 24	"			7
5mal 24	"			8
6mal 24	"			8
7mal 24	"	0,15-0,16	0,03-0,04	6
8mal 24	"	0,17	0,04	6
9mal 24	"	0,17-0,19	0,04	10
10mal 24	"	0,19-0,20	0,05	6
11mal 24	"	0,20-0,21	0,05	5
12mal 24	"	0,22-0,23	0,05	7,5
13mal 24	"	0,25-0,28	0,06	7
14mal 24	"	0,28-0,30	0,06	8
15mal 24	"	0,32-0,35	0,07	8
16mal 24	"	0,37-0,40	0,07-0,08	5
17mal 24	"	0,40-0,42	0,08	7
18mal 24	"	0,45	0,08	7
19mal 24	"	0,47-0,49	0,08-0,09	10
20mal 24	"	0,53-0,55	0,09	11
21mal 24	"	0,58-0,60	0,10	6
22mal 24	"	0,62-0,64	0,11	5,5
23mal 24	"	0,65-0,67	0,11-0,12	6
24mal 24	"	0,69	0,12	6
25mal 24	"	0,71-0,73	0,12	6
26mal 24	"	0,76-0,80	0,13	5
27mal 24	"	0,81-0,85	0,13	5
28mal 24	"	0,88	0,14	7
29mal 24	"	0,88-0,90	0,15	7,5
30mal 24	"	0,94-0,96	0,16	8
31mal 24	"	1,00-1,05	0,18	8
32mal 24	"	1,10-1,22	0,19	11
33mal 24	"	1,20-1,25	0,22	11,5
34mal 24	"	1,30-1,34	0,23	5
35mal 24	"	1,35-1,37	0,24	0
36mal 24	"	1,37	0,24	6
37mal 24	"	1,40-1,42	0,25	5,5
38mal 24	"	1,44-1,45	0,25	6
39mal 24	"	1,47-1,50	0,26	4
40mal 24	"	1,52	0,27	6
41mal 24	"	1,54-1,56	0,27	6
42mal 24	"	1,58-1,60	0,28	7
43mal 24	"	1,63-1,65	0,29	8
44mal 24	"	1,66-1,68	0,30	8
45mal 24	"	1,67-1,69	0,30	9
46mal 24	"	1,63-1,65	0,29	7
47mal 24	"	1,65	0,26	7,5

Von 47. bis 55. Tag gleichbleibend in Länge und Dicke.
Temperatur zwischen 6 und 9°.
Ab 56. Tag Beginn der Verpuppung.

Tabelle 2a
Calliphora erythrocephala
 Züchtung der Larven auf rohem Saftfleisch bei Kühlraumtemperatur.

1. Versuch:	24 Stunden nach der Eiablage	Länge cm	Dicke cm	Temperatur °C
		unverändert		6
2mal 24	"	"	"	7
3mal 24	"	"	"	7
4mal 24	"	"	"	8
5mal 24	"	"	"	8
6mal 24	"	0,15-0,16	0,03-0,04	6
7mal 24	"	0,17-0,19	0,04	6
8mal 24	"	0,19	0,05	10
9mal 24	"	0,20-0,21	0,05	6
10mal 24	"	0,23-0,26	0,06	6
11mal 24	"	0,25-0,26	0,06	5
12mal 24	"	0,27	0,06-0,07	7,5
13mal 24	"	0,27-0,29	0,07	7
14mal 24	"	0,28-0,29	0,07	8
15mal 24	"	0,30-0,32	0,08	8
16mal 24	"	0,34-0,37	0,09	5
17mal 24	"	0,35-0,38	0,09	7
18mal 24	"	0,38-0,42	0,09-0,10	7
19mal 24	"	0,45	0,10	10
20mal 24	"	0,48-0,60	0,11	11
21mal 24	"	0,68-0,65	0,12	6
22mal 24	"	0,65-0,67	0,12-0,13	5,5
23mal 24	"	0,67-0,70	0,14	6
24mal 24	"	0,75	0,14	6
25mal 24	"	0,75-0,78	0,15	6
26mal 24	"	0,78	0,15	5
27mal 24	"	0,78-0,80	0,15-0,16	5
28mal 24	"	0,80-0,85	0,16	7
29mal 24	"	0,85-0,90	0,16	7,5
30mal 24	"	0,92-0,95	0,17	8
31mal 24	"	1,02-1,08	0,18	8
32mal 24	"	1,10-1,15	0,20	11
33mal 24	"	1,10-1,15	0,20	11
34mal 24	"	1,20-1,25	0,23	11,5
35mal 24	"	1,27-1,30	0,25	3
36mal 24	"	1,32	0,25	0
37mal 24	"	1,33-1,35	0,26	6
38mal 24	"	1,40-1,45	0,26	5,5
39mal 24	"	1,47-1,50	0,27	6
40mal 24	"	1,53-1,56	0,27	4
41mal 24	"	1,56-1,60	0,27-0,28	6
42mal 24	"	1,60-1,67	0,29	6
43mal 24	"	1,68-1,73	0,29	7
44mal 24	"	1,74	0,30	8
		1,65-1,70	0,30	8

Vom 45. bis 48. Tag gleichbleibend in Länge und Dicke.
 Temperatur zwischen 6 und 9°C
 Am 49. Tage Beginn der Verpuppung.

Tabelle 25a

Sarcophaga carnaria
Züchtung der Larven auf Fleisch bei Nährtemperatur.

		Länge cm	Dicke cm	Temperatur °C
1. Versuch:				
	Müden bei der Ablage			
	24 Stunden nach der Ablage			
2. mal 24	"	0,35-0,40	0,05	6
3. mal 24	"	0,40	0,05	6,5
4. mal 24	"	0,42-0,45	0,05	7
5. mal 24	"	0,45	0,06	7
6. mal 24	"	0,47-0,50	0,06	8
7. mal 24	"	0,53-0,55	0,07	8
8. mal 24	"	0,57-0,58	0,07-0,08	6
9. mal 24	"	0,60-0,62	0,08	6
10. mal 24	"	0,63-0,66	0,09	10
11. mal 24	"	0,67-0,70	0,10	5
12. mal 24	"	0,73	0,11-0,12	5
13. mal 24	"	0,75-0,77	0,12-0,13	7,5
14. mal 24	"	0,78-0,80	0,14	7
15. mal 24	"	0,82-0,84	0,14-0,15	8
16. mal 24	"	0,85-0,90	0,17-0,18	8
17. mal 24	"	0,92-0,94	0,19	5
18. mal 24	"	0,97	0,19	7
19. mal 24	"	0,99-1,02	0,20	7
20. mal 24	"	1,07-1,10	0,21-0,22	11
21. mal 24	"	1,15-1,20	0,23	11
22. mal 24	"	1,25-1,28	0,24	6
23. mal 24	"	1,30	0,25	5,5
24. mal 24	"	1,33-1,34	0,25-0,26	6
25. mal 24	"	1,35-1,37	0,26	6
26. mal 24	"	1,40-1,42	0,27	6
27. mal 24	"	1,44-1,45	0,27-0,28	5
28. mal 24	"	1,48-1,51	0,29	6
29. mal 24	"	1,53-1,55	0,29	7
30. mal 24	"	1,57-1,60	0,30	7,5
31. mal 24	"	1,63-1,66	0,30-0,31	8
32. mal 24	"	1,70-1,72	0,31	8
33. mal 24	"	1,74-1,76	0,31-0,32	11
34. mal 24	"	1,80-1,85	0,32	11,5
35. mal 24	"	1,85-1,87	0,32-0,33	5
36. mal 24	"	1,86	0,33	0
37. mal 24	"	1,86-1,90	0,33	6
38. mal 24	"	1,87-1,88	0,33	5,5
39. mal 24	"	1,80-1,85	0,32	6
40. mal 24	"	1,80-1,85	0,32	4

Vom 39. bis 46. Tag unverändert in Länge und Dicke.
Temperatur zwischen 6 und 9°C.
Am 47. Tag Beginn der Verpuppung.

Tabelle 27a
Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf reiner Leber im Kchiraum.

1. Versuch:	Machen bei der Ablage	Länge cm	Dicke cm	Temperatur °C
	24 Stunden nach der Ablage			
2mal 24	" " " "	0,35-0,40	0,05	7
3mal 24	" " " "	0,35-0,40	0,05	7
4mal 24	" " " "	0,40	0,05	8
5mal 24	" " " "	0,42-0,45	0,06	8
6mal 24	" " " "	0,45-0,50	0,07-0,08	6
7mal 24	" " " "	0,50-0,54	0,08	6
8mal 24	" " " "	0,53-0,56	0,06-0,05	10
9mal 24	" " " "	0,60-0,65	0,11-0,12	6
10mal 24	" " " "	0,65-0,68	0,12	5
11mal 24	" " " "	0,70-0,72	0,13	7,5
12mal 24	" " " "	0,74-0,78	0,14-0,15	7
13mal 24	" " " "	0,78-0,80	0,16	8
14mal 24	" " " "	0,80-0,85	0,17-0,18	8
15mal 24	" " " "	0,85-0,88	0,18-0,19	5
16mal 24	" " " "	0,88-0,90	0,19	7
17mal 24	" " " "	0,92-0,94	0,20	7
18mal 24	" " " "	0,95-0,99	0,20	11
19mal 24	" " " "	1,05-1,10	0,21-0,23	11
20mal 24	" " " "	1,15-1,25	0,24-0,25	6
21mal 24	" " " "	1,25-1,30	0,25	5,5
22mal 24	" " " "	1,30-1,34	0,26-0,27	6
23mal 24	" " " "	1,33-1,36	0,27	6
24mal 24	" " " "	1,40-1,42	0,28	6
25mal 24	" " " "	1,43-1,45	0,28	5
26mal 24	" " " "	1,45-1,47	0,29	6
27mal 24	" " " "	1,48-1,52	0,29	7
28mal 24	" " " "	1,52-1,54	0,30	7,5
29mal 24	" " " "	1,56-1,60	0,30	8
30mal 24	" " " "	1,59-1,62	0,30-0,31	8
31mal 24	" " " "	1,63-1,65	0,31	11
32mal 24	" " " "	1,65-1,70	0,31	11,5
33mal 24	" " " "	1,75-1,82	0,32-0,33	3
34mal 24	" " " "	1,80	0,33	0
35mal 24	" " " "	1,80-1,81	0,33	6
36mal 24	" " " "	1,83-1,85	0,33-0,34	5,5
37mal 24	" " " "	1,87-1,90	0,34	6
38mal 24	" " " "	1,85-1,89	0,34	4
39mal 24	" " " "	1,86-1,88	0,34	5

Vom 36. bis 45. Tage gleichbleibend in Länge und Dicke.
Temperatur zwischen 6 und 9°.
Am 46. Tag Beginn der Verpuppung.

Tabelle 28a

Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf gekochtem Fleisch bei Kühlraumtemperatur.

1. Versuch:	Nadeln bei der Ablage 24 Stunden nach der Ablage	Länge		Dicke		Temperatur °C
		cm	mm	cm	mm	
2mal 24	"	0,35-0,40	0,05			7
3mal 24	"	0,40-0,41	0,05			7
4mal 24	"	0,43-0,45	0,05			8
5mal 24	"	0,48-0,50	0,05			8
6mal 24	"	0,52	0,06			6
7mal 24	"	0,54-0,55	0,06			6
8mal 24	"	0,56-0,57	0,06-0,07			10
9mal 24	"	0,60-0,62	0,07			6
10mal 24	"	0,64-0,66	0,07			5
11mal 24	"	0,67-0,68	0,08			7,5
12mal 24	"	0,70-0,73	0,09-0,10			7
13mal 24	"	0,75-0,77	0,11			8
14mal 24	"	0,80-0,82	0,12-0,14			8
15mal 24	"	0,84-0,85	0,15-0,16			5
16mal 24	"	0,87-0,88	0,17-0,18			7
17mal 24	"	0,90	0,19			7
18mal 24	"	0,93-0,95	0,20			11
19mal 24	"	0,97-1,00	0,21-0,22			11
20mal 24	"	1,06-1,10	0,23			6
21mal 24	"	1,13-1,15	0,23			5,5
22mal 24	"	1,17-1,18	0,23-0,24			6
23mal 24	"	1,20-1,22	0,24			6
24mal 24	"	1,24-1,26	0,24			6
25mal 24	"	1,28-1,29	0,24-0,25			5
26mal 24	"	1,32	0,25			6
27mal 24	"	1,34-1,36	0,25			7
28mal 24	"	1,40-1,43	0,25			7,5
29mal 24	"	1,47-1,50	0,26			8
30mal 24	"	1,53-1,55	0,26			8
31mal 24	"	1,60-1,63	0,27			11
32mal 24	"	1,66-1,70	0,29			11,5
33mal 24	"	1,74-1,76	0,30-0,31			3
34mal 24	"	1,76	0,30			0
35mal 24	"	1,75-1,76	0,30			6
36mal 24	"	1,77-1,78	0,32			5,5
37mal 24	"	1,78-1,80	0,32-0,33			6
38mal 24	"	1,75-1,77	0,32			4

Von 37. bis 45. Tage gleichbleibend in Länge und Dicke.
Temperatur zwischen 6 und 9°.
Am 46. Tag Beginn der Verpuppung.

7

Tabelle 29 a
Sarcophaga carnaria
 Züchtung der Larven auf Rohrrost bei Kühlraumtemperatur.

1. Versuch:		Länge	Dicke	Temperatur
Räden bei der Ablage		cm	cm	°C
2mal 24	24 Stunden nach der Ablage	0,35-0,40	0,05	7
3mal 24	"	0,35-0,40	0,05	7
4mal 24	"	0,40-0,42	0,05	7
5mal 24	"	0,45	0,06	8
6mal 24	"	0,47-0,49	0,06	8
7mal 24	"	0,50-0,51	0,06	6
8mal 24	"	0,53-0,54	0,06	6
9mal 24	"	0,55-0,57	0,06-0,07	10
10mal 24	"	0,60-0,62	0,07	6
11mal 24	"	0,64-0,65	0,07-0,08	5
12mal 24	"	0,67-0,69	0,08	7,5
13mal 24	"	0,71-0,73	0,08	7
14mal 24	"	0,75-0,77	0,09	8
15mal 24	"	0,80-0,81	0,10-0,11	8
16mal 24	"	0,84-0,85	0,12	5
17mal 24	"	0,87-0,89	0,13	7
18mal 24	"	0,91-0,93	0,14	7
19mal 24	"	0,95	0,15-0,16	11
20mal 24	"	0,98-1,02	0,18-0,20	11
21mal 24	"	1,05-1,07	0,20-0,21	6
22mal 24	"	1,09-1,10	0,21	5,5
23mal 24	"	1,12-1,14	0,21	6
24mal 24	"	1,15-1,17	0,22	6
25mal 24	"	1,19-1,20	0,23	6
26mal 24	"	1,22-1,23	0,23	5
27mal 24	"	1,25	0,24	6
28mal 24	"	1,28-1,30	0,24-0,25	7
29mal 24	"	1,32-1,34	0,25	7,5
30mal 24	"	1,37-1,39	0,25-0,26	8
31mal 24	"	1,43-1,45	0,26	8
32mal 24	"	1,49-1,50	0,26	11
33mal 24	"	1,55-1,58	0,27	11
34mal 24	"	1,64-1,66	0,28	3
35mal 24	"	1,67-1,68	0,28	0
36mal 24	"	1,68	0,28	6
37mal 24	"	1,70-1,73	0,29	5,5
38mal 24	"	1,75-1,77	0,30	6
39mal 24	"	1,78-1,79	0,31	4
40mal 24	"	1,80	0,31	6
41mal 24	"	1,85-1,85	0,32	8
42mal 24	"	1,85-1,87	0,32-0,33	9
43mal 24	"	1,79-1,82	0,33	7
44mal 24	"	1,75-1,80	0,33	7

Vom 43. bis 50. Tag unverändert in Länge und Dicke.
 Temperatur zwischen 6 und 9°.
 Am 51. Tag Beginn der Verpuppung.

Table 30 a

Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf Seefisch bei Kühlraumtemperatur.

1. Versuch:		Länge cm		Dicke cm		Temperatur °C	
Maden bei der Ablage							
24 Stunden nach der Ablage							
2mal 24	"	0,35-0,40	0,05	8			
3mal 24	"	0,40-0,42	0,05	8			
4mal 24	"	0,43-0,45	0,06	6			
5mal 24	"	0,47-0,48	0,06	6			
6mal 24	"	0,49-0,51	0,07	10			
6mal 24	"	0,53-0,55	0,08-0,09	6			
7mal 24	"	0,87	0,09	5			
8mal 24	"	0,59-0,60	0,10	7,5			
9mal 24	"	0,62-0,64	0,11-0,12	7			
10mal 24	"	0,65-0,68	0,12	8			
11mal 24	"	0,70-0,72	0,13	8			
12mal 24	"	0,74-0,75	0,14	5			
13mal 24	"	0,77-0,80	0,15	7			
14mal 24	"	0,83-0,86	0,16-0,17	7			
15mal 24	"	0,88-0,90	0,18	11			
16mal 24	"	0,97-1,00	0,19	11			
17mal 24	"	1,05-1,07	0,20	6			
18mal 24	"	1,10-1,12	0,21-0,22	5,5			
19mal 24	"	1,15	0,23	6			
20mal 24	"	1,17-1,19	0,24	6			
21mal 24	"	1,21-1,23	0,25	6			
22mal 24	"	1,25-1,28	0,25	5			
23mal 24	"	1,30-1,32	0,26	6			
24mal 24	"	1,35-1,40	0,27	7			
25mal 24	"	1,42-1,44	0,27-0,28	7,5			
26mal 24	"	1,48-1,52	0,28	8			
27mal 24	"	1,57-1,60	0,29-0,30	8			
28mal 24	"	1,65-1,68	0,31	11			
29mal 24	"	1,75-1,75	0,31	11,5			
30mal 24	"	1,77-1,80	0,31-0,32	3			
31mal 24	"	1,80-1,82	0,32	0			
32mal 24	"	1,82	0,32-0,33	6			
33mal 24	"	1,79-1,80	0,33	3,5			
34mal 24	"	1,77-1,78	0,33	6			
35mal 24	"	1,75-1,78	0,33	4			
		1,77	0,32-0,33	5			

Vom 36. bis 42. Tag umwendet in Länge und Dicke.
Temperatur zwischen 6 und 9°.
Ab 43. Tag Beginn der Verpuppung.

Tabelle 30 a

Sarcophaga carnaria

Züchtung der Larven auf Seefleisch bei Kühlraumtemperatur.

1. Versuch:		Länge	Dicke	Temperatur
		cm	cm	°C
Madern bei der Ablage				
24 Stunden nach der Ablage				
2mal 24	"	0,35-0,40	0,05	8
3mal 24	"	0,40-0,42	0,05	8
4mal 24	"	0,43-0,45	0,06	6
5mal 24	"	0,47-0,48	0,06	6
6mal 24	"	0,49-0,51	0,07	10
7mal 24	"	0,53-0,55	0,08-0,09	6
8mal 24	"	0,57	0,09	5
9mal 24	"	0,59-0,60	0,10	7,5
10mal 24	"	0,62-0,64	0,11-0,12	7
11mal 24	"	0,65-0,68	0,12	8
12mal 24	"	0,70-0,72	0,13	8
13mal 24	"	0,74-0,75	0,14	5
14mal 24	"	0,77-0,80	0,15	7
15mal 24	"	0,83-0,86	0,16-0,17	7
16mal 24	"	0,88-0,90	0,18	11
17mal 24	"	0,97-1,00	0,19	11
18mal 24	"	1,05-1,07	0,20	6
19mal 24	"	1,10-1,12	0,21-0,22	5,5
20mal 24	"	1,15	0,23	6
21mal 24	"	1,17-1,19	0,24	6
22mal 24	"	1,21-1,23	0,25	6
23mal 24	"	1,25-1,28	0,25	5
24mal 24	"	1,30-1,32	0,26	6
25mal 24	"	1,35-1,40	0,27	7
26mal 24	"	1,42-1,44	0,27-0,28	7,5
27mal 24	"	1,48-1,52	0,28	8
28mal 24	"	1,57-1,60	0,29-0,30	8
29mal 24	"	1,65-1,68	0,31	11
30mal 24	"	1,73-1,75	0,31	11,5
31mal 24	"	1,77-1,80	0,31-0,32	3
32mal 24	"	1,80-1,82	0,32	6
33mal 24	"	1,82	0,32-0,33	6
34mal 24	"	1,79-1,80	0,33	3,5
35mal 24	"	1,77-1,78	0,33	6
	"	1,75-1,78	0,33	4
	"	1,77	0,32-0,33	5

Vom 36. bis 42. Tag unverändert in Länge und Dicke.
Temperatur zwischen 6 und 9°.
Am 43. Tag Beginn der Verpuppung.

- 60 -

Versuchsergebnisse:

Bei Kühlraumtemperatur konnte bei Calliphora die Eiablage im Laufe des ersten oder zweiten Tages beobachtet werden. Manche dieser Fliegen waren im Kühlraum (0 - 11° C) nicht zur Eiablage zu bringen. Die wurden deshalb vorübergehend auf Zimmertemperatur (21 - 25° C) gebracht, woselbst sie nach 1 - 2 Stunden, wenn sich Glas und Nährboden erwärmt hatten, mit der Eiablage begannen. Im allgemeinen wurden von Calliphora noch bei 5 - 6° C Eier in reichlicher Menge abgelegt. Bei Sarcophaga carnaria dagegen konnte in keinem Fall eine Ablage von Larven beobachtet werden. Es war deshalb notwendig, diese Fliegen in allen Fällen bei Zimmertemperatur zur Ablage zu bringen.

Das Schlüpfen der Calliphoralarven erfolgte sehr unterschiedlich, etwa 2 - 6 Tage nach der Eiablage. Es will angenommen werden, dass hierbei die Reife der Eier eine noch grössere Rolle spielt als die Temperatur.

Die ganze Larvonperiode erstreckte sich bei Kühlraumtemperaturen über einen Zeitraum von 1 - 1 1/2 Monaten.

Die täglichen Längenzunahmen waren bei den Larven beider Fliegenarten sehr unterschiedlich und von der jeweils herrschenden Temperatur abhängig. So konnte beispielsweise bei Calliphoralarven auf rohem Fleisch in 24 Stunden bei 5° C nur eine Längenzunahme von 0,02 - 0,05 cm festgestellt werden, während die Larven in der gleichen Zeit bei 11° C 0,03 - 0,10 cm gewachsen waren. Die maximale Grösse, die die Larven im Kühlraum erreichten, war etwas geringer als bei den anderen Versuchen.

Sie betrug für Calliphora

auf rohem Fleisch	1,85 - 1,90 zu 0,32 cm
" roher Leber	1,85 - 1,90 zu 0,32 cm
" Fisch	1,85 zu 0,31 cm
" gekochtem Fleisch	1,70 zu 0,30 cm
" Rohwurst	1,69 zu 0,30 cm,
bei Sarcophagalarven	
auf rohem Fleisch	1,90 - 1,98 zu 0,33 cm
" roher Leber	1,90 zu 0,33 cm
" Fisch	1,85 zu 0,33 cm
" gekochtem Fleisch	1,80 - 1,82 zu 0,33 cm
" Rohwurst	1,80 - 1,85 zu 0,33 cm.

Bei Kühlraumtemperatur erreichten die Calliphoraden maximale Längen auf roher Leber, Fleisch und Fisch, geringere Höchstmaße auf gekochtem Fleisch und Rohwurst. Die Sarcophagalarven entwickelten sich am stattlichsten auf

- 61 -

rohem Fleisch und auf roher Leber und zeigten nur geringere Höchstmaße auf gekochtem Fleisch, Fisch und Rohwurst.

Die Zeit bis zur Bildung der Puppen war bei Kühlraumtemperatur ebenso wie die ganze Larvenperiode verlängert. Zuerst lagen die Larven einige Tage bewegungslos und gestreckt in den Sägespänen, wobei sie ihre Länge und Dicke beibehielten. Nach etwa 7 - 9 Tagen erst zogen sie sich zusammen und erstarrten zur Puppe.

Die Versuche im Kühlraum ergeben, dass, obwohl hier die individuellen Längenunterschiede nur bis zu 0,05 cm betragen, eine Altersbestimmung nach den Längenmaßen auch bei niederen Temperaturen unsicher ist, da die Zeit bis zum Ausschlüpfen bei den einzelnen Gelegen verschieden lang ist und sich hieraus Verschiebungen von 2 - 3 Tagen ergeben können.

Die Beobachtungen und Messungen der Larven von Calliphora und Sarcophaga bei Kühlraumtemperatur lassen ferner deutlich erkennen, dass ein Absinken der Temperatur das Wachstum verzögert, während ein Ansteigen der Temperatur das Wachstum förderlich ist, wobei auch schon geringe Temperaturunterschiede bisweilen sichtbar in Erscheinung treten.

D. Zusammenfassung.

Die Züchtungsversuche von *Calliphora erythrocephala* und *Sarcophaga carnaria* bei Zimmertemperatur (21-25° C), Kellertemperatur (14-19° C) und Kühlraumtemperatur (0-11° C) zeitigten nachfolgende Feststellungen:

1. Zeit zwischen Eiablage und Schlüpfakt

bei *Calliphora erythrocephala*:

Sie betrug bei Zimmertemperatur 12 - 24 Stunden
 bei Kellertemperatur 26 - 36 " "
 bei Kühlraumtemperatur 2 - 6 Tage.

Diese wesentlichen Unterschiede in der Zeit von der Eiablage bis zum Ausschlüpfen der Larven bei verschiedenen Temperaturen bedingen vor allem schon erhebliche Schwierigkeiten für die Bestimmung des Zeitpunktes der Insektenbesiedlung.

2. Länge der Madenperiode.

Die Dauer der Madenperiode unter den verschiedenen Temperaturverhältnissen ist aus der nachfolgenden Übersicht zu ersehen:

Calliphora erythrocephala					
	Roh.Fleisch (Tage)	Roh.Leber (Tage)	gek.Fleisch (Tage)	Rohwurst (Tage)	Fisch (Tage)
Zimmertemp.	8	8	9-10	10	10
Kellertemp.	12	11	12	12	12
Kühlraumtemp.	48-50	43-50	51-53	51-54	46-49
Sarcophaga carnaria					
	Roh.Fleisch (Tage)	Roh.Leber (Tage)	gek.Fleisch (Tage)	Rohwurst (Tage)	Fisch (Tage)
Zimmertemp.	8	7	10-11	10-11	10
Kellertemp.	11	11	12	12	11
Kühlraumtemp.	47-51	41-46	46-53	49-51	43-50

Die Madenperiode ist bei beiden Fliegenarten ohne Rücksicht auf den zu ihrer Ernährung verwendeten Nährboden bei Zimmertemperatur (21-25° C) 8 - 11 Tage, unwesentlich länger bei Kellertemperatur (14-19° C) 11 - 12 Tage und wesentlich länger bei noch tieferen Temperaturen, z.B. im Kühlraum (0-11° C), woselbst die Madenperiode 41 - 54 Tage dauern kann. Obwohl die verschiedenen Nährmedien die Höchstlänge der Larven beider Fliegen nicht unwesentlich beeinflussen, vermögen sie die Larvenperiode nicht in auffälliger Weise zu bestimmen.

- 63 -

3. Die maximale Länge der Fliegenlarven.

Sie ist aus der nachfolgenden Tabelle ersichtlich:

Calliphora erythrocephala					
	Roh.Fleisch	Roh.Leber	gek.Fleisch	Rohwurst	Fisch
Zimmertemp.	1,90 cm	2,00 cm	1,90 cm	1,80 cm	1,95 cm
Kellertemp.	1,92 cm	1,95 cm	1,90 cm	1,85 cm	1,95 cm
Kühlraum.	1,85 cm	1,85 cm	1,72 cm	1,69 cm	1,86 cm
Sarcophaga carnaria					
	Roh.Fleisch	Roh.Leber	gek.Fleisch	Rohwurst	Fisch
Zimmertemp.	2,05 cm	2,29 cm	1,90 cm	1,90 cm	1,98 cm
Kellertemp.	2,10 cm	2,24 cm	2,05 cm	1,95 cm	2,05 cm
Kühlraum.	1,98 cm	1,90 cm	1,82 cm	1,87 cm	1,91 cm

Die Larven von Sarcophaga erreichen im allgemeinen grössere Höchstmaße als jene von Calliphora.

Die bei niederen Temperaturen (Kühlraum) erzüchteten Larven erreichten wesentlich geringere Höchstmaße als die bei höheren Temperaturen (Kellertemperatur, Zimmertemperatur) gehaltenen Larven.

Neben der Temperatur beeinflusst die Entwicklung und damit das Höchstmaß der erzüchteten Fliegenlarven auch der Nährboden. So konnten bei den Larven beider Fliegenarten die höchsten Ausmaße auf roher Leber, geringere auf Fisch und rohem Fleisch und die niedrigsten auf gekochtem Fleisch und Rohwurst ermittelt werden.

4. Mit Ausnahme der im Kühlraum angestellten Untersuchungen konnte bei allen vorgenommenen Messungen an Fliegenlarven der verschiedensten Altersstufen und unter den verschiedensten Ernährungsverhältnissen beobachtet werden, dass zwischen den Einzelindividuen ein und desselben Geleges, die unter den gleichen Versuchsbedingungen gehalten worden waren, zum Teil recht beachtliche Größenunterschiede auftraten, die so wesentlich sind, dass eine für den forensischen Fall notwendige Zuverlässigkeit und Genauigkeit der Altersbestimmung durch die Ermittlung des Längenmaßes bei Larven von Calliphora erythrocephala und Sarcophaga carnaria nicht gegeben ist.

Page Denied

Next 3 Page(s) In Document Denied

②

Vergleichende Untersuchungen über Hautdickenzunahme und
Temperaturerhöhungen nach der Intrakutanprobe bei Rin-
dern in tuberkulosefreien und verseuchten Beständen

Franz Ferazin

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in
Schleissheim
Vorstand: Direktor Professor Dr. H u g o G r a u .
Vorgelegt vom
Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Komm. Vorstand: Professor Dr. M. R o l l e .

Vergleichende Untersuchungen über Hautdickenzunahme
und Temperaturerhöhungen nach der Intrakutanprobe bei
Rindern in tuberkulosefreien und versuchten Beständen.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von

Franz F e r a z i n
Tierarzt

aus

Pocking.

München 1951

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Geheimrat Professor Dr. Dr. R. D e m o l l

Referent: Professor Dr. M. R o l l e

Tag der Promotion: 22.2.1952

U N I - Druck, München 13, Amalienstr. 85

Inhaltsverzeichnis.

	<u>Seite:</u>
Einleitung	1
Besprechung der Literatur	4
Eigene Versuche	5
Versuchsbedingungen	5
Versuch 1 in tuberkulosefreien Beständen	6
Versuch 2 in versuchten Beständen	9
Besprechung der Versuchsergebnisse	20
Zusammenfassung	22
Literaturverzeichnis	23

- 1 -

Einleitung.

Für die Bekämpfung der Tuberkulose, die heute in den Rinderställen Deutschlands durchgeführt wird, ist eine sichere Erkennung der infizierten Tiere von ausschlaggebender Bedeutung. Das langjährige Tuberkulosebekämpfungsverfahren, das wir im Prinzip im staatlich gelenkten Tuberkulosebekämpfungsverfahren in Bayern durchführen, stützt sich auf die Fernhaltung der tuberkulösen Infektion von dem tuberkulosefreien Bestände bzw. von den noch nicht infizierten Tieren eines verseuchten Bestandes.

Die Einschleppung der Tuberkulose in einen bisher unverseuchten Bestand erfolgt auf verschiedenen Wegen, wobei an erster Stelle der Zukauf infizierter Tiere steht. Bei Zukauf von Tieren in staatlich als tuberkulosefrei anerkannte Bestände wird heute verlangt, dass entweder nur Tiere aus bereits tuberkulosefrei anerkannten Betrieben zugekauft werden oder - wenn dies nicht möglich ist - nur Tiere eingestallt werden, die bei einer zweimal im Abstand von 8 Wochen durchgeführten intrakutanen Tuberkulinprobe negativ reagiert haben. In tuberkuloseverseuchten Beständen werden entsprechend dem festgestellten Versuchsgrad verschiedene Wege zur Sanierung eingeschlagen. In schwächer verseuchten Beständen werden die tuberkulinpositiven oder klinisch tuberkulosekranken Tiere zur Schlachtung oder zur Weiternutzung in stärker verseuchte Bestände abgegeben. In stärker verseuchten Beständen erfolgt eine Trennung der infizierten und nichtinfizierten Tiere in eigenen Stallabteilungen.

Die Grundlage für die Aufteilung der Bestände bietet wiederum der Ausfall der Tuberkulinprobe in Verbindung mit der klinischen Untersuchung der Tiere.

Die Erfassung aller infizierten Tiere ist Voraussetzung für den Erfolg des Verfahrens, da im Rahmen eines Tuberkulosebekämpfungsverfahrens jedes mit Rindertuberkelbakterien infizierte Tier als Ausscheider anzusprechen ist und damit früher oder später eine Gefahr für tuberkulosefreie Tiere darstellt.

Der intrakutanen Tuberkulinprobe, die beim Tuberkulosebekämpfungsverfahren in Bayern als alleinige Tuberkulinprobe Anwendung findet, kommt also eine ganz besondere Bedeutung zu.

Die klinische Untersuchung hat dagegen zur Feststellung der tuberkulösen Infektion eines Rindes geringere Bedeutung, wenn sie auch in einem Tuberkulosebekämpfungsverfahren nicht zu entbehren ist.

- 2 -

In der Literatur findet die intrakutane Tuberkulinprobe im allgemeinen die beste Beurteilung (Z e l l e r , 7).

Nicht alle Autoren, die darüber Untersuchungen angestellt haben, beurteilen die intrakutane Tuberkulinprobe gleich günstig. So berichtet B r o c k (2), dass bei 7,5% der positiv reagierenden Tiere keine für Tuberkulose sprechenden pathologisch-anatomischen Veränderungen gefunden wurden. D a l l i n g (3) stellt fest, dass von 590 untersuchten Tieren 4,91% der Tiere mit positiven Reaktionen keinen für Tuberkulose sprechenden Schlachtbefund zeigten, während 5,9% der tuberkulin-negativen Tiere einen positiven Schlachtbefund aufwiesen. Weiter wiesen bei 49 zweifelhaft reagierenden Tieren 28 Tiere einen positiven Schlachtbefund auf. A n d r e s (1) hat eine Gesamtübersicht über den Wert der intrakutanen Tuberkulinprobe und deren Fehler gegeben. Diese Abhandlung bringt eine zusammenfassende Bewertung derselben. Daraus geht hervor, dass wir mit einer Reihe von Fehlergebnissen rechnen müssen, die immerhin den Wert der Reaktionen in besonderen Fällen wesentlich beeinträchtigen und eine Methode zur Diff.-Diagnostik wünschenswert erscheinen lassen.

Zur Verbesserung des diagnostischen Wertes der intrakutanen Tuberkulinprobe wurden bisher eine Reihe von Methoden eingeführt, wobei die "Doppelintrakutanprobe" und der "Stormonttest", die "Vergleichende Tuberkulinprobe" der Engländer, die Kombination der Hautprobe mit der Augenprobe und der Nachweis von Blutbildveränderungen nach R o l l e erwähnt werden soll.

Wie sich bei den bisherigen Untersuchungen gezeigt hat, entspricht die sogenannte Doppelintrakutanmethode, die bei zweifelhaften Reaktionen vorgesehen ist, keineswegs den Erwartungen. In zahlreichen Beständen, in denen bei der ersten Tuberkulinprobe vereinzelte oder mehrere zweifelhaft reagierende Tiere festgestellt wurden, ergab die Nachprüfung bei der unmittelbar wiederholten Tuberkulinreaktion ein negatives Ergebnis. Waren nun vereinzelte zweifelhaft reagierende Tiere in einem sonst tuberkulinnegativen und klinisch unverdächtigen Bestände festgestellt worden und ergab die Wiederholung der Impfung ein einwandfrei negatives Ergebnis, wurden die Bestände zur Durchführung der Anerkennungsuntersuchung als tuberkulosefreier Bestand gemeldet. In vielen Fällen hat sich dann bei der Anerkennungsuntersuchung eine Zahl einwandfrei positiver Reaktionen bei den vorher fraglichen und bei Doppelprobe negativen Tieren ergeben. Abgesehen von fehlerhafter Arbeit der untersuchenden Tierärzte wurde diese Beobachtung auch in Beständen gemacht, in denen Tierärzte die Untersuchungen durchführten, deren Ergebnisse sonst absolut zuverlässig waren.

Ähnliche Beobachtungen wurden auch in verseuchten Beständen sehr oft festgestellt. Neben einzelnen einwandfrei positiven Reaktionen wurden zweifelhafte Reaktionen bei einer Reihe weiterer Tiere beobachtet. Die Doppelprobe

- 4 -

berkulinprobe angezeigt.

L i t e r a t u r .

Über die Steigerung der Körpertemperatur bei den verschiedenen Tuberkulinreaktionen sind zahlreiche Veröffentlichungen in der Fachliteratur vorhanden. Sie beziehen sich vor allem auf die subkutane Tuberkulinprobe, deren typische Reaktionserscheinung die Steigerung der Körpertemperatur nach 6 - 21 Stunden darstellt (thermische Tuberkulinreaktion, Thermoprobe).

Bei den Augenlidproben wird hinsichtlich des Auftretens von fieberhaften Erhöhungen der Körpertemperatur unterschieden, ob die Injektion in die Haut des Lides (intradermopalpebrale Probe nach M o u s s u) oder unter die Haut des Lides (intrapalpebrale Methode) oder der Konjunktiva (subkonjunktivale Probe) erfolgt. Da bei den beiden letzteren Proben die Injektion des Tuberkulins in das subkutane Bindegewebe erfolgt, liegen hier die gleichen Bedingungen vor, wie bei der subkutanen Tuberkulinprobe. Es kommt also bei diesen Proben neben örtlichen Reaktionen ebenfalls zu einer fieberhaften Erhöhung der Körpertemperatur. Bei der intradermopalpebralen Probe, wobei die Injektion des Tuberkulins ähnlich wie bei der intrakutanen Tuberkulinprobe in die Haut erfolgt, treten nach M a r e k , M a n n i n g e r und M o c s y (6) mitunter geringfügige Temperaturerhöhungen als Zeichen der Resorption von Tuberkulin auf.

Nur einzelne Autoren berichten über das Auftreten von Temperaturerhöhungen bei der intrakutanen Tuberkulinprobe.

Nach B a n g und V e l l i n g (zit. nach Kollo, Kraus und Uhlenhut, 4) geht bei der Hautprobe die Reaktion in 88,8% mit Temperaturerhöhung einher, die häufig schon nach 6 Stunden auftritt.

Nach M a r e k , M a n n i n g e r und M o c s y (6) stellt sich bei der Hautprobe häufig eine Temperaturerhöhung ein, die jedoch in etwa der Hälfte der Fälle nur wenige Zehntel Grade beträgt.

Nach K l i m e r (zit. nach Kollo, Kraus, Uhlenhut, 4) gehen die Augenlidprobe und die Intrakutanprobe häufig mit Fieber einher.

M a n n i n g e r (5) erwähnt, dass bei den Hautproben die örtliche Reaktion, da hier Tuberkulin eher zur Resorption gelangt, auch von Fieber begleitet sei, dem jedoch, weil die Temperaturerhöhung meist nur einige Zehntel Grade beträgt, diagnostisch keine Bedeutung zukommt.

bei letzteren Tieren ergab neben positiven auch negative Reaktionen und täuschte damit eine günstigere Seuchenlage in dem betreffenden Bestande vor, die den Besitzer zum Beitritt zum Tuberkulosebekämpfungsverfahren und Aufteilung des Bestandes in zwei Abteilungen veranlasste. Die nachfolgende Untersuchung der tuberkulosefreien Abteilung nach 2 - 3 Monaten ergab dann bei den vorher mit der einfacher Probe fraglichen und der Doppelprobe negativen Tieren vielfach einwandfrei positive Reaktionen. Derartig verschiedene Ergebnisse sind aber keineswegs geeignet, ein anerkanntes Verfahren bei den Tierhaltern zu empfehlen. Wissenschaftliche Erklärungen über das Vorhandensein eines Ausscheiders und über die präallergische Phase werden kaum in der Lage sein, dem Tierbesitzer solche widersprechenden Ergebnisse erklärlich zu machen. Die Folge ist lediglich eine Enttäuschung der Tierbesitzer, die das Verfahren als unbrauchbar ablehnen. Bekanntlich werden solche Fehlergebnisse, auch kleinsten Ausmaßes, von Gegnern des Verfahrens weitgehend propagandistisch ausgewertet.

Weitere Vorkommnisse bei der Durchführung des Tuberkulosebekämpfungsverfahrens lassen es wünschenswert erscheinen, zu dem Ergebnis der Hautreaktion in Zweifelsfällen auch noch andere Kriterien zur Beurteilung heranzuziehen. Beispielsweise wird hier an die Feststellung von Einzelreagenten mit schwach positiven Hautworten in einem sonst tuberkulosefreien Bestand gedacht, die nicht zugekauft sind, für die sich aber auch keine andere Infektionsquelle ermitteln lässt. Auch seien hier die Fälle erwähnt, in denen bei negativen Jungtieren aus tuberkulosefreien Beständen unmittelbar nach Einstellung in einen anderen tuberkulosefreien Betrieb einwandfrei positive Reaktionen festgestellt werden, wobei eine Ansteckung während des Transportes auszuschließen ist. Solche Zweifelsfälle sind sehr schwer rasch und richtig zu beurteilen, da bei öfterer Wiederholung der Intrakutanprobe in kurzen Zeitabständen Beeinflussungen durch vorhergehende Tuberkulininjektionen zu erwarten sind. Damit wird das Problem der sogenannten unspezifischen Reaktion berührt, bezüglich deren eine Entscheidung oft sehr schwierig ist.

Von dem Leiter der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung erhielt ich deshalb den Auftrag, an Hand von orientierenden Untersuchungen zu prüfen, ob in Zweifelsfällen die Temperaturmessung zur Beurteilung des Ergebnisses der intrakutanen Tuberkulinreaktion herangezogen werden kann.

Wir kennen die Subkutan- oder Thermoprobe als sehr zuverlässige Tuberkulinprobe, die sich nur auf die Steigerung der Körpertemperatur nach der subkutanen Injektion von Tuberkulin stützt. Wir beobachten bei der intrakutanen Tuberkulinprobe bei einer Reihe von Tieren die gleichen klinischen Erscheinungen, wie bei der Thermoreaktion, nämlich Schüttelfrost, Appetitänderung, vorübergehende Verringerung der Milchmenge. Aus diesen Gründen scheinen Untersuchungen über das Verhalten der Körpertemperatur bei der intrakutanen Tu-

- 5 -

E i g e n e V e r s u c h e .

Auftragsgemäss sollte bei meinen Versuchen das Verhalten der Körpertemperatur nach intrakutaner Injektion von Tuberkulin bei tuberkulin-negativen und tuberkulinpositiven Rindern geprüft werden.

Zur Durchführung dieser Versuche haben mir mehrere Tierbesitzer meines Praxisbereiches im Landkreis Griesbach ihre Rinderbestände zur Verfügung gestellt.

Um das Verhalten der Körpertemperatur nach intrakutaner Injektion von Tuberkulin bei sicher nicht reagierenden Tieren zu prüfen, habe ich zunächst 3 Bestände untersucht, die vom Bayerischen Staatsministerium des Innern vor längerer Zeit als tuberkulosefrei staatlich anerkannt waren.

Zur Prüfung der Temperaturverhältnisse bei Reagenten habe ich Untersuchungen in 9 Rinderbeständen durchgeführt, die mir auf Grund des Ausfalls früherer Tuberkulinisierungen als stärker mit Tuberkulose befallen bekannt waren.

Versuchsbedingungen.

Um die Normaltemperatur der einzelnen Tiere vor der Injektion genau festzulegen, ferner zur Feststellung der täglichen Unterschiede zwischen Morgen- und Abendtemperatur wurde bei jedem Tier an den beiden der Tuberkulininjektion vorhergehenden Tagen durch rektale Messung die Morgen- und Abendtemperatur aufgenommen. Um ferner die Beeinflussung der Körpertemperatur durch andere Umstände auszuschliessen, wurde das Allgemeinbefinden und die Futteraufnahme geprüft, auf Hochträchtigkeit, puerperale Störungen und auf das Auftreten sonstiger Erkrankungen vor oder während der Zeit des Versuches geachtet.

Am 3. Tage wurde morgens nochmals die Körpertemperatur gemessen und anschliessend nach Abschneiden der Haare und Feststellung der Hautdicke mit der Schublehre 0,2 cem 50%iges Rindertuberkulin Höchst intrakutan an der linken Halsseite eingespritzt. Dass das Tuberkulin tatsächlich in die Haut injiziert worden war, wurde durch das Auftreten eines erbsengrossen Knötchens an der Injektionsstelle bestätigt. Eine Stunde nach der Injektion, dann dreimal in 4stündigen und anschliessend siebenmal in 12stündigen Abständen wurde wiederum die Mastdarntemperatur gemessen.

- 6 -

Neben der Messung der Körpertemperatur in den angegebenen Zeitabständen wurde das Ergebnis der Tuberkulinreaktion 72 Stunden nach der Injektion durch Messung der Hautdickenzunahme und Berücksichtigung der übrigen lokalen Symptome festgelegt. Als positive Reaktionen wurden entsprechend den Bestimmungen über das freiwillige, staatlich anerkannte Tuberkulosebekämpfungsverfahren in Bayern Hautdickenzunahmen über 4 mm gewertet, solche von 2 - 4 mm als zweifelhaft und bis 2 mm als negativ. Ausserdem wurde noch auf das Auftreten von Allgemeinreaktionen geachtet.

Sämtliche Beobachtungen und Messungen wurden unter Angabe des Geschlechtes und Alters des Tieres tabellenmässig festgelegt (s. Anlagen).

Der Einfluss der Tuberkulinmenge auf die Steigerung der Körpertemperatur wurde an jeweils 10 nichtreagierenden und 10 reagierenden Tieren geprüft. Diese Tiere erhielten nicht wie bisher 0,2 ccm Tuberkulin, sondern 0,3 ccm. Sonst wurden bei denselben die gleichen Untersuchungen angestellt.

Ergebnisse der Versuche.

Versuch 1 :

Messung der Körpertemperatur nach intrakutaner Tuberkulinisierung von Rindern in staatlich anerkannten tuberkulosefreien Beständen.

Aus 3 Beständen standen 47 Rinder zur Verfügung, darunter 24 Kühe im Alter von 3 - 12 Jahren, 17 weibliche Jungrinder im Alter von 5 Monaten bis 2 1/2 Jahren, ferner 6 Jungbullen mit 9 - 12 Monaten.

In diesen Beständen hatte die erstmalig vor ungefähr 1 Jahr stattgehabte Tuberkulinisierung im Ermittlungsverfahren ein völlig negatives Ergebnis bei sämtlichen Tieren ergeben. Auch die Nachprüfung der Bestände durch den zuständigen Amtstierarzt nach 3 Monaten brachte wiederum das gleiche Ergebnis bei der Tuberkulinisierung. Bei der klinischen Untersuchung der Bestände waren keine Anhaltspunkte für das Vorliegen von Tuberkulose bei den Tieren vorhanden. Derartige Bestände können als tuberkulosefrei angesprochen werden.

Die Ergebnisse dieses Versuchs sind in beiliegender Zusammenstellung unter Bestand 1, 2 und 3 niedergelegt.

Bei keinem der 47 Tiere wurde eine Hautdickenzunahme über 2 mm gemessen, womit die früheren Untersuchungsergebnisse bestätigt wurden. Ebenso wurden bei keinem Tier sonstige örtliche Erscheinungen oder Allgemeinreaktionen beobachtet. Werden nun die Temperaturhöchstwerte aus sämtlichen Messungen vor

- 7 -

und nach der Injektion, also 5 vor und 11 nach der Einspritzung, verglichen, so ergeben sich folgende Unterschiede:

bei 7 Tieren	0,1 °C
" 4 "	0,2 "
" 3 "	0,3 "
" 2 "	0,4 "
" 3 "	0,5 "
" 1 "	0,6 "
" 1 "	1,0 "

Jungrind 45 muss aus der Beurteilung ausscheiden, da bei ihm 9 Stunden nach der Injektion eine hochgradige Tympanitis auftrat, die 4 Stunden lang anhielt. Nach Abklingen derselben ging auch die geringgradige Temperaturerhöhung zur Norm zurück.

Bei 7 Tieren wurden die Höchstwerte 13 Stunden, bei 10 Tieren 36 Stunden und bei 1 Tier 60 Stunden nach der Injektion gemessen. Nachdem die Injektion am Morgen erfolgte, handelte es sich dabei jeweils um Abendtemperaturen. Die leichten Temperatursteigerungen nach der Injektion lassen sich also physiologisch erklären, zumal mit Ausnahme der Tiere 21 und 24 keine länger dauernden Steigerungen auftraten. Die Tiere Nr. 21 und 24 zeigten länger dauernde Temperaturerhöhungen. Auffallend ist jedenfalls, dass beide Tiere einem Bestande angehören. Eine spätere nochmalige Tuberkulinisierung der beiden Tiere oder besser des gesamten Bestandes müsste hier die Entscheidung bringen, ob es sich dabei um eine spezifische Tuberkulinwirkung handelte und beide Tiere sich vielleicht im präallergischen Stadium befanden.

Ich darf nun noch auf eine Tatsache hinweisen, die für die Beurteilung des Versuchsergebnisses von ausserordentlicher Bedeutung ist.

Ich habe der bisherigen Auswertung die Höchsttemperatur vor der Injektion zugrunde gelegt, die bei der 5maligen Messung festgestellt wurde. Zwischen den Morgen- und Abendtemperaturen besteht aber bekanntlich ein physiologischer Unterschied von 0,1 - 1,5 °C. Auch bei meinen Messungen wurden Unterschiede bis 1,1 °C ermittelt.

Legt man der Feststellung der Normaltemperatur nur die Morgentemperatur des Injektionstages zugrunde, so ergeben sich völlig andere Temperaturunterschiede, als wenn die Höchstwerte von mehreren Messungen vor der Injektion berücksichtigt werden. Die Injektion erfolgte bei meinen Versuchen am Morgen des 3. Tages. Wie bereits ausgeführt, wurden die Höchstwerte nach der Injektion immer bei der Messung der Abendtemperatur festgestellt. Der Temperaturunterschied setzt sich also aus der physiologisch bedingten Steigerung der Abendtemperatur und einer spezifisch durch das injizierte Tuberkulin be-

- 8 -

dingten Temperaturerhöhung zusammen.

Im Folgenden sind nun die Temperaturunterschiede zusammengestellt, die sich ergeben, wenn nur die Temperaturmessung am Morgen des 3. Tages unmittelbar vor der Injektion und die Höchstwerte aus den Messungen nach der Injektion gegenübergestellt werden:

1 Tier	=	1,6° C
2 Tiere	=	1,3 "
1 "	=	1,2 "
2 "	=	1,0 "
2 "	=	0,9 "
6 "	=	0,8 "
5 "	=	0,7 "
5 "	=	0,6 "
6 "	=	0,5 "
7 "	=	0,4 "
4 "	=	0,3 "
4 "	=	0,2 "
1 "	=	0,1 "

Diese Zusammenstellung ergibt also eindeutig die Unterschinde und damit die Fehler, wenn der Zeitpunkt der Temperaturabnahme vor der Injektion nicht berücksichtigt wird. Es soll als besonders auffallend erwähnt werden, dass je nach der Art der Auswertung

Tier Nr. 21	1,6° C	bzw.	1,0° C
" " 19	1,3 "	"	0,2 "
" " 40	1,3 "	"	0,1 "
" " 37	1,2 "	"	0,1 "

Temperaturzunahme zeigten.

Die Temperaturunterschiede bei 10 Kühen aus tuberkulosefrei anerkannten Beständen nach Injektion von 0,3 ccm Tuberkulin unterschieden sich nicht von den Werten nach der Injektion von 0,2 ccm Tuberkulin.

Der Versuch an wiederholt tuberkulinnegativen Tieren zeigt, dass bei diesen Tieren nach der Injektion von 0,2 ccm Tuberkulin geringgradige Steigerungen der Körpertemperaturen auftreten können. Die Menge des injizierten Tuberkulins scheint keinen Einfluss auf die Erhöhung der Körpertemperatur bei tuberkulinnegativen Tieren auszuüben. Bei Wertung der Temperatursteigerungen müssen die vor der Injektion gemessenen Abendtemperaturen zugrunde gelegt werden.

- 9 -

V e r s u c h 2 :

Messung der Körpertemperatur nach intrakutaner Tuberkulinisierung von Rindern in 9 versuchten Beständen.

Für diesen Versuch standen mir 9 mittelgroße Betriebe mit 152 Tieren im Alter von 3 Monaten bis 15 Jahren, darunter 73 Kühe und 79 Jungrinder zur Verfügung. Aus der starken Verseuchung der Bestände und dem Gesamtbild der Tuberkulinreaktion bei den Tieren der einzelnen Bestände ist der Schluss berechtigt, dass in diesen Beständen Infektionen mit dem Typus bovinus des *Mycobacterium tuberculosis* und nicht solche mit anderen säurefesten Bakterien, die positive Reaktionen ausgelöst haben, oder unspezifische Reaktionen vorliegen.

Versuchsergebnis.

Die Feststellungen bei der Durchführung des Versuches sind in der Zusammenstellung unter Bestand 4 - 13 aufgeführt.

Von den 152 untersuchten Rindern waren auf Grund des Ausfalles der örtlichen Reaktionen an den Impfstellen 103 Tiere (= 67,7%) als Reagenten anzusprechen, 14 Tiere zeigten eine fragliche Reaktion und bei 35 Tieren war die Hautprobe als einwandfrei negativ zu bezeichnen. Bei letzteren lagen keine klinischen Anhaltspunkte vor, dass Tiere infolge fortgeschrittener Tuberkulose sich im Stadium der Anergie befunden hätten.

Bei den Reagenten wurden Hautdickenzunahmen von 4,1 bis 18,3 mm gemessen, wobei die stärkeren Reaktionen im Durchschnitt bei den jüngeren Tieren beobachtet wurden. Diese Beobachtung entspricht den bisherigen allgemeinen Erfahrungen.

Bei meinen Untersuchungen über Temperaturerhöhungen nach der intrakutanen Injektion in tuberkulosefreien Rinderbeständen habe ich feststellen können, dass bei einzelnen Tieren nur geringgradige Temperatursteigerungen bis 0,5° C auftreten, wenn man dabei die unterschiedlichen Höchstwerte mehrerer Messungen vor und nach der Injektion berücksichtigt. Es wurde dabei darauf hingewiesen, dass es nicht angeht, nur den Unterschied der Körpertemperaturen, der zwischen einer Messung kurz vor der Injektion und mehreren Messungen nach der Injektion ermittelt wird, zu bewerten. Diese Feststellungen des Vorversuches sollen zunächst durch die Beobachtungen an

- 10 -

35 nach dem Ausfall der Hautreaktion nicht infiziert erscheinenden Tieren ergänzt werden.

Werden zunächst die Unterschiede der Höchstwerte mehrerer Messungen vor und nach der Injektion gegenübergestellt, so ergibt sich, dass

- 15 Tiere keine Temperaturerhöhungen,
- 18 Tiere Temperaturerhöhungen von $0,1 - 0,4^{\circ} \text{C}$
(5 = $0,1^{\circ}$, 3 = $0,2^{\circ}$, 6 = $0,3^{\circ}$, 4 = $0,4^{\circ}$)
- 1 Tier eine Temperaturerhöhung von $0,5^{\circ} \text{C}$
- 1 Tier eine Temperaturerhöhung von $1,0^{\circ} \text{C}$

zeigten.

Das letztere Tier (Nr.70) mit der abnormen Temperatur von $1,0^{\circ} \text{C}$ kann unberücksichtigt bleiben, da bei demselben die Temperaturkurve einen für eine spezifische Tuberkulinwirkung charakteristischen Verlauf hatte und der zugehörige Lymphknoten deutlich geschwollen war. Die Hautdickenzunahme betrug bei der ersten Untersuchung 1,8 mm, näherte sich also den fraglichen Werten. Die Wiederholung der Hautprobe nach 8 Wochen zeigte 9,3 mm Dickenzunahme, also einen einwandfrei positiven Ausschlag. Es ist anzunehmen, dass sich das Tier zur Zeit der ersten Untersuchung in der präallergischen Phase befand. Ebenso kann die Temperaturerhöhung von $1,0^{\circ} \text{C}$ nach 60 Stunden bei Tier Nr.16 unberücksichtigt bleiben, da dasselbe zu diesem Zeitpunkt an Tympanitis litt.

Die Ergebnisse bei den negativen Tieren dieses Hauptversuches bestätigen die Feststellung des Vorversuches, dass bei Tieren mit negativen Hautreaktionen keine oder nur geringgradige Temperaturerhöhungen auftreten, die $0,5^{\circ} \text{C}$ nicht überschreiten.

Wird auch hier nur der Unterschied zwischen der Temperaturmessung unmittelbar vor der Injektion mit den Höchsttemperaturen nach der Injektion verglichen, so zeigt sich auch hier ein vollkommen anderes Bild. Hierbei geben nunmehr

- 14 Tiere Temperatursteigerungen von $0,6 - 1,0^{\circ} \text{C}$
- 10 " " " $0,5$ "
- 10 " " " $0,3$ "

Tier Nr.70 bleibt hier ebenfalls unberücksichtigt.

14 Tiere würden also auf Grund dieser Gegenüberstellung Temperaturzunahmen aufweisen, die als positiv zu bewerten sind.

Die höchsten Temperaturen wurden nach der Injektion in 20 Fällen nach 13 Stunden, in 5 Fällen nach 36 Stunden und in 2 Fällen nach 60 Stunden gemessen. Bei mehreren Tieren wurden wiederholt gleich hohe Temperaturen in 24stündigem Abstand gemessen, sind also wie die meisten geringgradigen Erhöhungen als physiologische Schwankungen zu bewerten.

- 11 -

Bei den nach dem Ergebnis der Hautreaktion 103 positiven Tieren wurden folgende Temperaturerhöhungen festgestellt, wobei zunächst die Unterschiede zwischen den Höchstwerten in Grad Celsius angeführt werden, die sich bei fünfmaligen Messungen vor der Injektion und den 11 Messungen nach der Injektion ergeben haben:

2	=	2,6° C
1	=	2,5 "
4	=	2,4 "
1	=	2,3 "
6	=	2,2 "
1	=	2,1 "
4	=	2,0 "
4	=	1,9 "
4	=	1,8 "
2	=	1,7 "
3	=	1,6 "
4	=	1,5 "
4	=	1,4 "
5	=	1,3 "
4	=	1,2 "
2	=	1,1 "
3	=	1,0 "
4	=	0,9 "
1	=	0,8 "
3	=	0,7 "
6	=	0,6 "
4	=	0,5 "
4	=	0,4 "
5	=	0,3 "
7	=	0,2 "
8	=	0,1 "
7	=	0 "

103

Bei 68 Tieren (= 66%) ergeben sich demnach Werte von 0,6° C und mehr, die auf Grund der bisherigen Feststellungen bei negativen Tieren nicht auftreten.

28 Tiere zeigen Temperaturerhöhungen von 0,1 - 0,5° C (= 27%), wie

- 12 -

sie auch bei negativen beobachtet werden, und 7 Tiere (= 7%) überhaupt keine Temperatursteigerungen.

Allein diese Zahlen beweisen, dass die Feststellung von Temperaturerhöhungen nach intrakutaner Injektion von Tuberkulin in der von mir getätigten Versuchsanordnung zur Klärung von Zweifelsfällen nicht geeignet ist, da mit einer Fehlerquote von mindestens 33% gerechnet werden muss. Ein eventueller Einwand, dass bei Tieren mit keiner oder geringer Temperatursteigerung unspezifische Reaktionen vorgelegen haben, kann damit widerlegt werden, dass die Lokalreaktion eindeutig war, ausserdem die meisten Tiere bereits früher im Tuberkuloseermittlungsverfahren ebenfalls positiv reagiert hatten. Unspezifische Reaktionen sind im allgemeinen nur vorübergehend.

Auch hier stelle ich, wie bei den negativen Tieren, die Werte gegenüber, die sich ergeben, wenn nur die unmittelbar vor der Injektion vorgenommene Messung berücksichtigt wird:

1 Tier	=	3,3 ° C
1 "	=	3,1 "
3 "	=	2,8 "
3 "	=	2,7 "
2 "	=	2,6 "
8 "	=	2,5 "
4 "	=	2,4 "
3 "	=	2,3 "
6 "	=	2,2 "
4 "	=	2,1 "
2 "	=	2,0 "
2 "	=	1,9 "
3 "	=	1,8 "
3 "	=	1,7 "
4 "	=	1,6 "
5 "	=	1,5 "
2 "	=	1,4 "
4 "	=	1,3 "
2 "	=	1,1 "
4 "	=	1,0 "
7 "	=	0,9 "
4 "	=	0,8 "
6 "	=	0,7 "
5 "	=	0,6 "
5 "	=	0,5 "

- 13 -

5 Tiere	=	0,4 ° C
3 "	"	0,3 "
2 "	"	0,2 "

Nach dieser Gegenüberstellung würden 88 Tiere (= 85,4%) Werte von 0,6 ° C und mehr und 15 Tiere (= 14,5%) solche von 0,2 - 0,5 ° C haben, während kein Tier ohne Temperaturerhöhung blieb.

Ich möchte hier auf die Tiere Nr. 28, 76, 77, 85, 107 und 111 hinweisen, deren Ergebnisse nach den verschiedenen Möglichkeiten gegenüber gestellt werden.

Nr. 28	39,6 - 39,7	=	0,1 ° C	Temperaturunterschied
	38,3 - 39,7	=	1,4 "	"
Nr. 76	38,9 - 39,0	=	0,1 "	"
	38,0 - 39,0	=	1,0 "	"
Nr. 77	38,8 - 39,0	=	0,2 "	"
	37,9 - 39,0	=	1,1 "	"
Nr. 85	39,2 - 39,2	=	0 "	"
	38,2 - 39,2	=	1,0 "	"
Nr. 107	39,1 - 39,5	=	0,4 "	"
	38,0 - 39,5	=	1,5 "	"
Nr. 111	39,5 - 40,1	=	0,6 "	"
	38,6 - 40,1	=	1,5 "	"

Obwohl bereits feststeht, dass die Messung der Temperaturzunahme nicht brauchbar erscheint, habe ich dennoch festzustellen versucht, ob Zusammenhänge zwischen der Hautdickenzunahme, der Temperaturzunahme und dem Alter der Tiere bestehen.

In der nachstehenden Übersicht ist in Spalte 2 die Temperaturzunahme in abfallender Reihe eingetragen, daneben die Hautdickenzunahme und das Alter der Tiere. In Spalte 1 ist die Nummer der Tiere aus der Liste der Tuberkulosebestände angegeben.

Die Zusammenstellung ergibt, dass zwar ganz grob gesehen den stärkeren Temperatursteigerungen die höheren Werte bei der Hautdickenzunahme entsprechen, dass sich aber daraus feste Zusammenhänge nicht ableiten lassen. Bei-

- 14 -

Übersicht.

Lfd.Nr. der Liste:	Temperatur- steigerung:	Hautdicken- zunahme:	Alter M-Monats sonst. Jhr.	Temperaturhöchst- wert nach Stunden:
123	2,6	13,0	6	13
46	2,6	10,3	1 1/2	13
6	2,5	4,6	8	13
142	2,4	15,3	1 1/2	13
32	2,4	11,6	1	13
21	2,4	8,1	8	13
41	2,4	5,6	4	13
13	2,3	11,4	1	13
136	2,2	13,6	4	36
45	2,2	10,9	2	13 + 36
100	2,2	10,9	3	13
2	2,2	7,3	4	13
103	2,2	5,5	8	13
23	2,2	4,5	3	9
80	2,1	11,3	2	13
145	2,0	17,2	1 1/2	13
29	2,0	9,9	2	13
12	2,0	7,4	1	13
59	2,0	4,9	4	13
27	1,9	11,6	3	13
47	1,9	10,5	1 1/2	13
126	1,9	7,7	4	36
58	1,9	6,8	4	13
148	1,8	18,3	5 M	13
137	1,8	11,4	2	36
130	1,8	8,6	5	24
43	1,8	5,7	4	13

- 15 -

Lfd.Nr. der Liste:	Temperatur- steigerung:	Hautdicken- zunahme:	Alter M-Monate sonst Jhr.	Temperaturhöchst- wert nach Stunden:
69	1,7	13,2	1	13
127	1,7	7,7	6	13 + 36
68	1,6	10,4	1	13
39	1,6	9,1	3 M	13
99	1,6	8,5	3	13
143	1,5	13,7	1 1/2	36
3	1,5	10,5	4	24
118	1,5	9,2	5	13
5	1,5	7,6	6	36
87	1,4	16,0	8	13
26	1,4	8,3	5	13
65	1,4	7,6	4	13
11	1,4	5,5	1	13
120	1,3	10,4	1 1/2	13
134	1,3	9,7	5	36
61	1,3	9,2	7	13
66	1,3	6,2	1 1/2	36
22	1,3	5,9	7	13
31	1,2	8,6	1 1/2	13
89	1,2	7,8	4	13
135	1,2	6,7	12	24
81	1,2	5,1	2	13
119	1,1	9,1	7	13
8	1,1	7,8	8	13
4	1,0	9,0	4	13
106	1,0	7,6	8	24
109	1,0	5,7	3	13

- 16 -

Lfd.Nr. der Liste:	Temperatur- steigerung:	Hautdicken- zunahme:	Alter M-Monate sonst Jhr.	Temperaturhochst- wert nach Stunden:
35	0,9	16,2	9 M	13
101	0,9	9,3	3	13
116	0,9	4,8	5 M	13
79	0,9	4,3	2	13
133	0,8	9,8	10	13
114	0,7	8,7	4 M	13
144	0,7	7,5	1 1/2	13
131	0,6	14,8	8	13
111	0,6	8,2	7 M	13
51	0,6	6,4	9 M	13
52	0,6	6,3	6 M	13
113	0,6	5,8	7 M	13
129	0,6	5,5	11	13
150	0,5	18,0	4 M	13
25	0,5	11,8	6	13
10	0,5	8,6	1	13
42	0,5	4,5	7	13
107	0,4	6,9	9	13
48	0,4	5,6	1	48
98	0,4	4,5	3	13
122	0,4	4,1	6	13
108	0,3	9,4	2 1/2	13
125	0,3	7,6	8	13
128	0,3	4,8	11	9
132	0,3	4,8	7	36
64	0,3	4,7	9	13

- 17 -

Lfd.Nr. der Liste:	Temperatur- steigerung:	Hautdicken- zunahme:	Alter M=Monate sonst Jhr.	Temperaturhöchst- wert nach Stunden:
95	0,2	8,4	1	13 + 36
141	0,2	7,8	1 1/2	36
139	0,2	8,1	1 1/2	36
24	0,2	7,1	6	9 + 13
40	0,2	6,1	5	36
56	0,2	5,1	8	- 13
20	0,2	4,7	4	13
75	0,1	13,7	8	13
78	0,1	9,2	8	13
138	0,1	7,8	2	13
28	0,1	5,9	8	13
67	0,1	5,6	1	13
63	0,1	5,6	5	9 + 13
121	0,1	5,4	1	13
84	0,1	4,8	1	13
110	0	9,9	1	--
57	0	8,4	4	--
9	0	6,7	10	--
85	0	6,7	7	--
86	0	6,5	15	--
7	0	4,9	4	--
60	0	4,3	11	--

- 18 -

apfelweise darf auf die Tiere mit Temperatursteigerungen von 2,5° C, 2,4° C, 2,2° C, 2,0° C, 1,8° C, 0,6° C und 0,5° C einerseits verwiesen werden, bei denen sich besonders starke Gegenätze ergeben, andererseits auf die Gruppe von Tieren mit 1,2° C und 0° C, bei denen fast gleiche Ergebnisse der Hautdickenzunahme bestehen.

Ähnlich fällt die Gegenüberstellung zum Alter der Tiere aus. Bei Temperaturwerten von 1,6° - 2,6° C finden wir sehr viel jüngere Tiere im Alter von 1 1/2 - 5 Jahren, während ältere Kühe in den Gruppen mit 0 - 0,3° C zu finden sind. Auffallend hinzuwiederum ist aber, dass eine grosse Zahl der jüngsten Tiere Temperaturwerte von 0,6 - 0,7° C aufweisen.

Die Auswertung vorstehender Übersicht lässt also keinerlei greifbare Zusammenhänge erkennen, worauf die Unterschiede in der Stärke der Temperaturerhöhungen bei den einzelnen Tieren beruhen.

Ich habe noch versucht, durch verschiedene andere Gegenüberstellungen brauchbare Zusammenhänge zu finden. Nachdem diese Bemühungen ebenso wenig zum Ziele geführt haben, sollen sie hier nicht weiter ausgeführt werden.

Ich möchte hier nur noch kurz auf den Verlauf der Temperatursteigerungen bei den positiven Tieren eingehen, da hierdurch vielleicht eine Klärung möglich ist.

Betrachtet man zunächst den Zeitpunkt der höchsten Temperatursteigerungen nach der Injektion, so ergibt sich, dass bei:

2 Tieren	nach	9 Stunden
1 "	"	9 u. 13 "
71 "	"	13 "
4 "	"	13 - 36 "
6 "	"	24 "
12 "	"	36 "

die höchsten Werte ermittelt wurden. Bei 76 Tieren (= 73,8%) war also 13 Stunden nach der Injektion der Höhepunkt erreicht. Nachdem die Injektion des Tuberkulins am Morgen erfolgte, handelte es sich dabei um die erste Messung der Abendtemperatur. Als zweiter, wenn auch wesentlich unbedeutenderer Zeitpunkt wurde die 36. Stunde ermittelt, also die zweite Messung der Abendtemperatur am 2. Tage nach der Injektion. Nicht in jedem Fall ist bei Auftreten von Temperaturhöchstpunkten nach 24 oder 36 Stunden bereits nach 13 Stunden eine Temperatursteigerung festzustellen. Hierzu seien folgende Beispiele aufgeführt:

- 19 -

Tier Nr.	Temperatur vor der Injektion	13 Stunden	24 Stunden	36 Stunden
126	38,5	38,6	40,0	40,4
136	38,8	38,9	40,5	41,0
106	39,3	39,2	40,3	39,3
130	38,7	38,8	40,5	38,8
3	39,0	39,1	40,5	39,3

Ein grosser Teil der Tiere, die nach 13 Stunden starke Temperaturerhöhungen aufwiesen, zeigte bereits nach 9 Stunden erhebliche Zunahmen. Bei einzelnen Tieren setzten die Temperatursteigerungen schon nach 5 Stunden ein (71), während bei anderen Tieren mit sehr erheblichen Zunahmen die Temperatur sprunghaft im Abstand von 4 Stunden ansteigt (2).

Die Dauer der Temperaturerhöhung ist sehr verschieden. Eine grosse Zahl von Tieren zeigt einen langsamen (66), meist aber steilen Anstieg bis zur Höchsttemperatur und allmählichen oder steilen Abfall (Nr. 11, 12, 21, 32, 39, 45, 46, 100 und 142). Der häufige Temperaturabfall nach 24 Stunden und Wiederanstieg nach 36 Stunden muss unter dem Gesichtspunkt beurteilt werden, dass es sich dabei um Morgentemperaturen handelt.

Eine Reihe weiterer Tiere zeigt ein völlig entgegengesetztes Verhalten in der Weise, dass nur einmalig verwertbare Temperaturzunahmen, zum Teil erheblichen Ausmasses gemessen werden. So zeigten die Tiere Nr. 87, 81, 68, 58 und 52 nur nach 13 Stunden, die Tiere Nr. 130, 106 und 3 nur nach 24 Stunden einmalige Zunahmen. Daraus geht hervor, dass anscheinend bei manchen Tieren sehr kurzdauernde Temperaturerhöhungen vorkommen. Die Temperaturmessungen wurden von mir in 4- und später 12stündigem Abstand erhoben. Es besteht demnach die Möglichkeit, dass bei häufigeren Temperaturmessungen noch manches eindeutigeres Ergebnis bei den niederen Werten festgestellt worden wäre. Zweckmässig werden deshalb an einer grösseren Anzahl positiver Tiere Temperaturmessungen in 1- bis 2stündigem Abstand durchgeführt.

Bei 14 Tieren mit zweifelhaften Reaktionen bei der Hautprobe (2, 2 - 3, 9 mm) ergab die Temperaturmessung Unterschiede von 0 - 1,5° C vor und nach der Injektion, wobei nur je einmal 0,5° C, 0,6° C und 1,5° C, im übrigen

- 20 -

aber nur 0 - 0,4 °C Zunahmen festgestellt wurden. Ich habe bei 13 dieser Tiere nach 8 Wochen die Hautprobe wiederholt, wobei 11 Tiere eine einwandfrei positive und 2 weiterhin eine fragliche Reaktion ergaben. Gerade die Entscheidung zweifelhafter Reaktionen in positivem oder negativem Sinne sollte durch die Einschaltung der Temperaturmessung geklärt werden. Aus dem Ergebnis dieser Feststellungen geht eindeutig hervor, dass dies nicht möglich ist. Auf Grund des Ausfalles der Nachuntersuchung kann angenommen werden, dass ein Teil der Tiere bereits zur Zeit der Erstuntersuchung infiziert war, was auch aus den verhältnismäßig hohen Werten der Hautdickenzunahme (3,0; 3,2; 3,7; 3,8; 3,9) geschlossen werden kann.

Die Injektion von 0,3 ccm Tuberkulin bei einwandfreien Reagenten zeigt keine Unterschiede gegenüber den Ergebnissen mit 0,2 ccm Tuberkulin. Auch hier ist kein eindeutiger Zusammenhang zwischen der Höhe des Temperaturunterschiedes und der Hautdickenzunahme festzustellen. Der Zeitpunkt des Auftretens der Höchstwerte und der Verlauf der Temperaturkurven nach der Injektion stimmen mit den bisherigen Ergebnissen überein.

Besprechung der Versuchsergebnisse.

Zur einwandfreien Klärung des Ausfalles der intrakutanen Tuberkulinprobe in besonderen Fällen sind weitere diagnostisch verwertbare Anhaltspunkte neben der Beurteilung der Hautreaktion erwünscht. Nachdem bei der intrakutanen Tuberkulinprobe häufig auch Allgemeinreaktionen beobachtet worden, wie bei der subkutanen Methode, sollte ich durch Versuche zunächst feststellen, ob, wie bei der Thermoprobe, die Beobachtung der Körpertemperatur hierzu verwertbar sei.

In Vorversuchen bei Tieren aus staatlich anerkannten tuberkulosefreien Beständen und bei negativ reagierenden Tieren verseuchter Bestände wurde zunächst festgestellt, dass auch bei negativen Tieren nach der intrakutanen Tuberkulinprobe kurzdauernde Temperatursteigerungen eufreten, die allerdings 0,5 °C nicht überschreiten. Hierbei ist allerdings die physiologische Schwankung der Morgen- und Abendtemperatur zu berücksichtigen. Temperaturerhöhungen nach der Injektion worden im allgemeinen nach 13 oder 36 Stunden beobachtet. Wird nun vor der Injektion nur einmal die Temperatur gemessen, so ergeben sich je nach dem Zeitpunkt der Injektion erhebliche Fohler. wird z.B. am Morgen injiziert und tritt die stärkste Temperaturzunahme nach 13 Stunden, also am Abend des gleichen Tages ein, so muss hier neben der spezifischen durch die Tuberkulininjektion ausgelösten Temperaturerhöhung die physiologische Steigerung der Abendtemperatur hinzugerechnet werden. Es wird sich also ein hoher Temperaturunterschied ergeben, wenn man Injektion am Morgen, ein geringerer, wenn sie am Abend erfolgt. Wird

- 21 -

die Injektion am Morgen ausgeführt, so erfolgt die Messung der normalen Körpertemperatur also zweckmäßig am vorhergehenden Abend oder besser am Abend der beiden vorhergehenden Tage. Die gleichen Fehlerquellen bestehen bei den infizierten Tieren und müssen durch ein gleichartiges Vorgehen ausgeschaltet werden.

Auf Grund der Versuchsergebnisse bei tuberkuloseinfizierten Tieren muss festgestellt werden, dass die Messung der Temperaturzunahme nach intrakutaner Injektion von Tuberkulin nicht geeignet ist, in Zweifelsfällen den Ausfall der Probe im negativen oder positiven Sinne zu entscheiden. Bei Tieren, die nach der Hautreaktion positiv sind, werden vielfach gar keine bzw. nur ganz geringgradige Temperaturerhöhungen festgestellt, wie bei nichtinfizierten Tieren. Die Temperaturerhöhung steht nicht in Zusammenhang mit der Hautdickenzunahme und dem Alter der Tiere. Der Verlauf der Temperaturkurve ist erheblichen Schwankungen unterworfen, sowohl hinsichtlich des Eintritts der Steigerung wie des Ablaufs. Neben länger dauernden Temperaturerhöhungen gibt es nur ganz kurz dauernde.

Als Ursache für das unterschiedliche Auftreten der Temperatursteigerungen bei tuberkuloseinfizierten Tieren müssen aus theoretischen Überlegungen nachstehende Möglichkeiten in Betracht gezogen werden:

- 1.) Kurzdauernde Temperaturerhöhungen, die infolge der zeitlichen Abstände der Messungen in seinen Versuchen nicht erfasst wurden,
- 2.) unterschiedliche Injektion des Tuberkulins, wodurch die Resorption beeinflusst wird, z.B. in tiefere oder oberflächliche Coriumschichten, Eröffnung kleiner Blutgefäße bei der Injektion usw.
- 3.) unterschiedliche Reaktionslage des Organismus, die in der Fähigkeit zur Bindung des Tuberkulins an der Injektionsstelle und damit zur Verhinderung der Resorption oder in der raschen Neutralisierung resorbierten Tuberkulins als besondere Abwehrfähigkeit zum Ausdruck kommt.

- 22 -

Zusammenfassung.

- 1.) Zur einwandfreien Entscheidung bezüglich des Ergebnisses der intrakutanen Tuberkulinprobe bedarf es in besonderen Fällen neben der Beachtung der Hautreaktion weiterer diagnostischer Anhaltspunkte.
- 2.) Die Messung der Körpertemperatur nach der intrakutanen Injektion von Tuberkulin ergibt bei infizierten Tieren keine eindeutigen Anhaltspunkte zur Entscheidung fraglicher Hautreaktionen.
- 3.) Als spezifisch anzusprechende Temperaturerhöhungen treten hierbei nur bei ca. 66% der infizierten Tiere auf.
- 4.) Die Höhe der Temperaturzunahme steht nicht im Zusammenhang mit der Hautdickenzunahme und dem Alter der Tiere.
- 5.) Der Zeitpunkt des Eintritts der Temperaturerhöhung und der Ablauf derselben ist bei den einzelnen Tieren erheblichen Schwankungen unterworfen.
- 6.) Das Auftreten einer Temperatursteigerung weist schon nach 6 Stunden, wie von Bang und Velling angegeben wurde, konnte nicht bestätigt werden.
- 7.) Der Ausfall der Temperatursteigerung ist nicht von der Menge des injizierten Tuberkulins abhängig.
- 8.) Bei der Durchführung von Versuchen zur Ermittlung von Temperaturerhöhungen im Anschluss an Tuberkulinproben muss die physiologische Schwankung der Tagestemperatur berücksichtigt werden.

Page Denied

Next 2 Page(s) In Document Denied

Ibc-freie Bestände

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperaturen vor der Tuberkulinprobe					Temperaturen nach der Tuberkulinprobe										Hautdicken- zunahme (in mm)	
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.		96 St. n.I.
Bestand 1																		
1.	K 5 Jahre	39.0	39.2	38.7	39.3	38.7	38.7	39.0	39.2	39.5	38.8	39.6	36.7	39.6	38.8	39.3	38.7	0.8
2.	K 6 "	38.2	38.7	37.8	38.5	38.5	38.8	38.6	38.7	38.7	38.1	39.1	38.2	38.8	38.2	38.2	38.1	0.6
3.	K 3 "	37.9	38.5	38.2	38.7	38.2	38.2	38.5	38.7	38.7	38.2	39.2	38.2	39.2	38.3	38.4	38.3	0.7
4.	K 5 "	38.6	38.9	38.4	38.8	38.6	38.6	38.6	38.6	38.9	38.4	39.4	38.6	39.0	38.6	38.3	38.4	0.2
5.	K12 "	38.4	39.8	38.7	38.8	38.2	38.4	38.5	38.5	38.6	38.6	39.2	38.4	38.7	38.3	38.2	38.4	0.1
6.	K12 "	38.1	38.6	38.2	38.8	38.3	38.5	38.5	38.7	38.9	38.4	38.6	38.3	38.8	38.8	38.3	38.3	0.2
7.	K12 "	38.0	38.7	38.1	38.9	38.4	38.4	38.6	38.6	38.7	38.5	38.7	38.1	39.0	38.3	38.1	38.1	0.2
8.	K 7 "	38.4	39.0	38.1	39.0	38.4	38.5	38.7	38.7	38.9	38.2	38.9	38.2	38.8	38.5	38.5	38.2	1.0
9.	J 2 1/2 "	39.2	39.4	39.2	39.5	39.1	39.2	39.3	39.3	39.4	39.2	39.5	39.2	39.5	39.2	39.5	39.2	1.7
10.	J 1 1/2 "	39.1	39.8	39.3	39.9	39.2	39.2	39.4	39.6	39.6	39.3	39.9	39.4	39.9	39.4	39.8	39.3	0.4
11.	J 1 1/2 "	39.2	39.2	39.0	39.4	39.1	39.1	39.1	39.1	39.2	39.0	39.3	39.2	39.6	39.2	39.3	39.1	0.6
12.	J 1 1/2 "	39.0	39.4	39.4	39.7	39.3	39.3	39.4	39.6	39.7	39.2	39.7	39.4	39.9	39.3	39.6	39.4	0.1
13.	J 3/4 "	39.1	39.7	39.2	39.9	39.1	39.2	39.1	39.1	39.4	39.2	39.3	39.2	39.9	39.3	39.6	39.2	0.7
14.	J 1/2 "	38.7	39.2	39.0	39.6	38.7	38.8	38.8	39.2	39.1	38.8	39.4	38.9	39.5	38.9	39.1	38.8	0.2
15.	J 1/2 "	38.6	39.7	38.7	39.6	39.0	39.0	38.9	39.2	39.6	38.8	39.5	39.0	39.6	38.9	39.3	38.7	0.3
16.	J 5 Mon.	38.8	39.1	38.5	39.1	38.5	38.6	38.8	38.8	38.8	38.8	38.7	39.0	38.7	38.9	38.8	38.8	0.7
Bestand 2																		
17.	K 8 "	38.2	38.7	38.5	38.6	38.6	38.6	38.5	38.5	38.7	38.7	38.7	38.6	38.7	38.6	38.5	38.5	0.6
18.	K11 Jahre	38.5	38.6	38.4	38.5	38.3	38.5	38.6	38.5	38.6	38.4	38.6	38.3	38.6	38.5	38.7	38.4	0.7
19.	K 4 "	38.4	39.1	38.6	39.2	38.1	38.7	38.8	39.3	39.3	38.7	39.4	38.7	39.1	38.8	38.9	38.6	0.2
20.	K 5 "	38.8	39.0	38.8	39.2	38.2	38.5	38.8	39.1	39.1	38.3	38.8	38.5	38.6	38.6	38.7	38.6	0.9
21.	K 5 "	37.9	38.1	38.4	38.3	37.8	38.3	38.6	38.2	38.4	39.1	39.4	38.6	38.9	38.7	38.4	38.5	0.8
22.	K 4 "	37.7	38.4	38.1	38.5	38.2	38.3	38.5	38.5	38.7	38.2	38.3	38.4	38.4	38.5	38.6	38.4	0.6
23.	K 8 "	37.9	38.5	38.3	38.6	38.1	38.4	38.4	38.8	38.9	38.1	38.3	38.3	38.3	38.2	38.4	38.3	0.8
24.	K 4 "	37.8	38.4	37.8	38.4	38.3	38.4	38.6	38.7	38.9	38.9	39.0	38.2	38.8	38.4	38.5	38.3	0.2
25.	J 1 1/2 "	38.7	38.8	38.7	39.0	38.6	38.7	38.6	38.6	38.9	38.7	39.0	38.9	38.9	38.8	38.9	38.7	0
26.	J 2 "	39.0	39.2	39.2	39.6	38.9	39.1	39.3	39.2	39.2	39.3	39.4	38.9	38.9	38.8	38.9	38.7	0
27.	J 1 "	39.2	39.6	39.1	39.4	39.2	39.2	39.2	39.3	39.6	38.9	39.3	39.1	39.2	39.0	39.4	39.1	0.2
28.	J 1 1/4 "	39.2	39.7	39.0	39.6	39.0	39.0	39.1	39.6	39.6	39.0	39.7	39.2	39.5	39.1	39.6	39.2	0.2
29.	J 1 "	39.0	39.2	39.1	39.0	39.3	39.2	39.4	39.7	39.7	39.1	39.8	39.2	39.5	39.1	39.6	39.0	0.5
30.	B 1 "	38.8	39.4	38.9	39.6	39.0	39.1	39.0	39.1	39.2	38.9	39.1	38.9	39.3	39.0	39.4	39.1	0.4
31.	B 1 "	39.0	39.3	39.9	39.4	39.2	39.1	39.2	39.3	39.8	39.0	39.4	39.1	39.4	38.9	39.3	39.0	0.2
32.	B 1 "	38.9	39.0	38.8	39.1	38.8	38.7	38.8	38.8	39.0	39.0	39.1	38.9	39.0	38.8	39.1	38.9	0.6
33.	J 3/4 "	38.9	39.1	39.1	39.1	38.9	38.9	39.1	39.2	39.3	38.9	39.3	38.8	39.1	39.0	39.1	38.8	0.9

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	I b c - f r e i e B e s t a n d e					T e m p e r a t u r e n n a c h d e r T u b e r k u l i n p r o b e										Hautdicken- zunahme (in mm)	
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.	96 St. n.I.		
B e s t a n d 3																		
34.	K 3 Jahre	37.9	<u>38.9</u>	38.0	38.7	38.4	38.4	38.6	38.6	38.5	38.3	38.4	38.1	38.6	38.2	<u>38.9</u>	38.0	
35.	K 3 "	38.4	<u>38.7</u>	38.1	38.6	38.3	38.5	38.5	38.5	<u>38.7</u>	38.4	38.6	37.9	38.2	38.3	<u>38.9</u>	38.0	1,0
36.	K 8 "	38.2	<u>38.6</u>	38.3	38.5	38.2	38.3	38.3	38.3	<u>38.6</u>	38.2	38.3	38.0	38.3	38.1	38.2	38.1	1,0
37.	K 4 "	37.9	<u>38.8</u>	37.9	38.7	37.7	38.2	38.3	38.5	<u>38.9</u>	38.0	38.3	38.2	38.5	38.7	38.6	38.2	0,5
38.	K 7 "	37.6	<u>38.7</u>	38.7Br	38.7Br	37.9	38.3	38.3	38.4	<u>38.8</u>	38.1	38.5	38.1	38.4	38.2	<u>38.9</u>	38.3	0,7
39.	K14 "	37.9	<u>38.9</u>	38.0	38.9	38.2	38.5	38.6	38.9	<u>38.8</u>	38.4	38.4	38.5	38.1	38.4	38.2	<u>38.9</u>	0,3
40.	K11 "	38.0	<u>39.0</u>	37.9	38.6	37.8	38.3	38.5	38.7	<u>39.1</u>	38.6	38.8	38.4	38.5	38.7	38.2	38.8	0,3
41.	K 8 "	37.6	<u>38.5</u>	37.6	38.4	37.8	38.1	38.2	38.5	<u>39.1</u>	37.9	38.3	37.9	38.4	37.9	<u>38.6</u>	38.5	0,9
42.	J 1 "	39.1	<u>39.5</u>	39.3	39.5	39.3	39.3	39.2	39.4	<u>39.5</u>	39.1	39.3	39.4	39.2	39.1	39.4	39.0	0,2
43.	J 8 Mon.	38.7	<u>39.4</u>	38.8	39.2	39.0	39.2	39.3	39.3	<u>39.3</u>	39.0	39.2	39.4	39.2	39.1	39.4	39.0	0,4
44.	J 2 1/2 "	38.5	<u>39.1</u>	38.8	38.9	38.4	38.5	38.5	38.6	38.6	38.5	39.2	38.9	38.9	39.2	39.3	38.9	0,2
45.	B 1 Jahr	38.8	<u>39.6</u>	39.0	<u>39.9</u>	39.2	39.3	39.5x	39.1	<u>40.2x</u>	39.2	39.6	39.1	39.6	39.0	<u>39.0</u>	38.6	0,7
46.	B 3/4 "	38.8	39.2	38.9	<u>39.8</u>	38.9	39.2	39.1	39.1	<u>40.2x</u>	39.2	39.6	39.1	39.6	39.3	39.9	39.4	0,2
47.	B 3/4 "	38.8	<u>39.1</u>	38.6	39.1	38.6	38.8	39.1	39.3	39.4	39.2	39.4	39.0	39.4	39.3	<u>39.6</u>	39.3	0,4
																<u>39.5</u>	39.1	0,5

x Tympanitis

Tbc-vorseuchte Bestände

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperaturen vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe										Hautdicken- zunahme (in mm)	Temp zunahme (in °C)	
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.			96 St. n.I.
Bestand 4																			
1.	K 3 Jahre	38.4	38.7	38.6	<u>38.8</u>	38.3	38.6	38.6	38.8	38.8	38.5	38.9	38.5	39.0	38.3	39.0	38.5	36.4	6.3
2.	K 4	38.2	38.9	38.2	<u>38.8</u>	38.4	38.7	38.8	40.5	41.1	39.2	39.2	38.3	38.7	38.2	38.8	38.8	38.3	7.3
3.	K 4	38.7	39.0	38.4	<u>38.8</u>	38.1	38.6	38.6	38.9	39.1	40.5	39.3	38.8	38.8	38.2	38.5	38.4	10.5	
4.	K 4	38.6	39.4	38.7	<u>39.5</u>	38.6	38.0	39.4	40.1	40.5	39.0	40.2	38.7	39.9	38.8	39.8	38.7	9.0	
5.	K 6	38.7	<u>39.0</u>	38.1	38.4	37.9	38.3	38.7	39.3	39.8	39.4	40.5	38.6	38.9	38.0	38.6	38.1	7.6	
6.	K 8	38.5	<u>38.9</u>	38.2	38.9	38.1	38.7	38.8	40.1	41.4	39.2	40.0	38.3	38.8	38.0	39.0	38.2	4.6	
7.	K 4	38.5	<u>39.1</u>	38.3	38.9	38.4	38.4	38.7	38.7	38.8	38.4	<u>39.0</u>	38.5	38.8	38.1	38.7	38.3	4.9	
8.	K 8	38.5	38.6	38.3	<u>39.1</u>	38.6	38.9	38.9	39.5	40.2	39.0	39.8	38.4	39.7	38.6	38.8	38.4	7.6	
9.	K 10	38.6	38.8	38.3	<u>39.0</u>	38.7	38.7	38.7	38.8	<u>38.9</u>	38.5	38.9	38.6	38.9	38.5	38.9	38.6	6.7	
10.	B 1	38.8	<u>39.0</u>	38.4	38.9	38.5	38.5	39.0	38.9	<u>39.5</u>	39.4	39.3	39.1	39.2	38.4	38.9	38.5	8.6	
11.	J 1	38.5	38.8	38.5	<u>38.9</u>	38.5	38.6	38.7	39.9	<u>40.3</u>	39.7	40.0	39.2	39.6	38.6	38.9	38.4	5.5	
12.	J 1	38.4	38.6	38.7	<u>38.8</u>	38.7	38.9	39.0	40.1	<u>40.8</u>	39.9	40.1	39.3	39.4	38.5	38.7	38.4	7.4	
13.	J 1	38.6	<u>38.9</u>	38.5	38.8	38.4	38.8	38.8	40.6	<u>41.2</u>	39.8	40.2	38.9	39.1	38.4	<u>39.3</u>	38.5	11.4	
14.	J 3/4	38.8	<u>39.2</u>	38.9	39.0	38.9	39.0	39.0	39.1	39.2	39.0	<u>39.5</u>	39.0	39.1	38.8	39.4	38.8	0.3	
15.	J 3/4	39.1	<u>39.5</u>	38.9	39.4	39.2	39.2	39.3	39.2	39.5	39.1	39.5	39.1	<u>39.6</u>	39.0	39.2	39.1	0.9	
16.	J 1/2	39.1	<u>39.7</u>	39.1	39.3	39.1	39.4	39.0	39.3	39.6	39.1	39.5	39.0	<u>40.7xx</u>	39.2	39.6	39.1	0.7	
17.	J 1/2	39.3	<u>39.7</u>	38.8	39.3	39.0	39.4	39.3	39.4	<u>39.6</u>	39.1	39.6	39.1	39.5	39.2	39.6	39.1	0.3	
18.	J 4 Mon.	39.4	<u>39.6</u>	38.9	39.4	39.1	39.1	39.2	39.2	39.6	39.2	39.6	39.3	<u>39.7</u>	39.2	39.5	39.3	0.6	
19.	J 3	39.3	<u>39.8</u>	39.1	39.8	39.3	39.4	39.7	39.8	39.8	39.3	<u>40.1</u>	39.2	39.9	39.3	<u>40.0</u>	39.3	0.1	
xx Typanitis x Quersperium																			
Bestand 5																			
20.	K 4 Jahre	38.6	38.6	<u>38.9</u>	38.8	38.6	38.6	38.7	38.7	39.1	38.8	38.8	38.7	39.1	38.6	39.1	38.6	4.7	
21.	K 8	<u>39.0</u>	39.0	38.9	38.7	38.6	38.7	38.8	40.8	<u>41.4</u>	40.1	38.7	39.0	39.0	38.7	39.0	38.7	8.1	
22.	K 7	38.4	38.7	38.4	<u>38.5</u>	38.5	38.6	38.9	39.4	<u>40.0</u>	38.7	38.8	38.7	38.6	38.2	38.7	38.2	5.9	
23.	K 3	38.6	<u>39.0</u>	38.2	<u>39.0</u>	38.8	38.7	39.1	<u>41.2</u>	<u>40.8</u>	39.0	38.6	38.7	39.1	38.7	39.1	38.6	4.5	
24.	K 6	38.6	38.7	38.4	38.8	38.6	38.9	38.8	39.0	39.0	38.7	38.5	38.4	38.8	38.4	38.9	38.4	7.1	
25.	K 6	38.7	<u>38.9</u>	38.8	38.7	38.6	38.7	38.7	38.9	<u>39.4</u>	39.3	38.8	38.6	38.8	38.5	39.0	38.7	11.8	
26.	K 5	38.3	<u>38.9</u>	38.7	38.8	38.7	38.9	39.0	39.7	<u>40.3</u>	39.7	39.3	38.7	38.9	38.5	38.7	38.3	8.3	
27.	K 3	38.7	38.5	38.8	<u>39.0</u>	38.9	38.9	39.0	39.5	<u>40.9</u>	40.1	40.2	39.0	39.0	38.3	38.8	38.5	11.6	
28.	K 8	38.6	<u>39.6</u>	38.9	39.2	38.3	38.7	38.9	39.1	39.6	39.1	<u>39.7</u>	39.1	39.5	38.6	39.3	38.7	5.9	

Ibc-vorseuchte Bestände

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe										Hautdicken- zunahme (in mm)	Temp zunahme (i)
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.		
29.	K 2 Jahre	38.7	39.0	38.9	39.0	38.5	38.8	39.0	39.5	41.0	40.1	40.5	39.6	39.3	38.4	38.9	38.4	9.9
30.	K 2 "	38.8	39.1	39.2	39.0	39.1	39.2	39.0	39.1	39.3	39.3	39.0	39.0	39.3	39.0	39.1	39.0	3.2/5.6
31.	J 1 1/2 "	38.2	38.7	38.6	38.9	38.4	38.4	38.9	39.4	40.1	39.7	38.9	38.7	39.0	38.5	39.1	38.5	8.6
32.	J 1 "	38.7	39.0	38.4	39.1	38.8	38.8	38.8	40.9	41.5	40.1	41.1	39.6	39.6	38.7	39.0	38.7	11.6
33.	J 1 "	38.9	39.1	39.0	39.1	39.0	38.9	38.9	38.9	39.5	39.1	39.3	38.9	39.3	38.5	39.6	38.8	2.6/5.3
34.	J 3/4 "	39.1	39.3	39.1	39.5	39.1	39.3	39.2	39.3	39.5	39.2	39.2	39.1	39.6	39.0	39.7	39.1	3.5/4.0
35.	J 3/4 "	39.0	39.3	39.0	39.5	39.1	39.1	39.1	39.9	40.4	39.5	39.9	39.4	39.8	38.9	39.2	38.9	16.2
36.	J 1/2 "	39.2	39.3	38.9	39.4	38.8	38.9	39.0	39.6	40.0	39.1	40.0	39.1	39.5	39.0	39.2	39.0	3.8/6.8
37.	J 4 Mon.	39.0	39.6	39.0	39.4	39.1	39.1	39.3	39.5	39.6	39.2	39.8	39.0	39.6	39.0	39.9	39.2	0.9
38.	J 3 "	38.8	39.3	38.9	39.2	38.8	38.9	39.1	39.3	39.6	39.0	39.4	39.0	39.5	39.0	39.2	39.1	0.1
39.	J 3 "	39.2	39.5	39.2	39.4	39.3	39.3	39.5	40.7	41.1	40.4	40.5	39.7	40.4	39.2	39.6	39.2	9.1
Bestand 6																		
40.	K 5 Jahre	38.8	38.7	38.7	38.8	38.3	38.8	38.7	38.8	38.8	38.6	39.0	38.4	38.5	38.2	38.7	38.3	6.1
41.	K 4 "	38.6	38.6	38.6	38.7	38.7	38.9	39.3	40.8	41.1	38.7	38.8	38.5	38.6	38.6	39.1	38.6	5.6
42.	K 7 "	38.4	38.5	38.6	38.7	38.3	38.4	38.4	38.5	39.2	38.4	38.5	38.4	38.6	38.4	38.6	38.4	4.5
43.	K 6 "	38.1	38.7	38.1	38.4	38.2	38.5	38.8	39.7	40.5	39.2	39.0	38.3	38.5	38.1	38.8	38.2	5.7
44.	K 5 "	38.2	38.6	38.6	38.7	38.4	38.9	38.9	38.6	38.7	38.4	38.7	38.3	38.7	38.6	38.6	38.4	1.4
45.	J 2 "	38.3	38.4	38.3	38.6	38.4	38.8	38.8	40.1	40.8	39.5	40.8	38.8	38.8	38.4	38.7	38.5	10.9
46.	J 1 1/2 "	38.7	39.2	38.5	38.8	38.7	39.0	36.9	41.5	41.8	39.7	41.7	39.6	39.5	38.6	39.0	38.7	10.3
47.	J 1 1/2 "	38.7	39.0	38.9	39.0	38.7	39.0	39.2	39.5	40.9	40.0	40.6	39.3	39.0	38.9	39.1	38.6	10.5
48.	J 1 "	38.9	39.1	38.5	39.1	39.1	38.8	39.1	39.1	39.1	39.2	39.1	39.5	39.3	39.0	39.1	38.9	5.6
49.	J 1 "	39.0	39.7	38.7	39.6	39.1	39.3	39.7	39.5	39.8	39.0	39.6	39.4	39.6	39.2	39.7	39.3	1.6
50.	J 3/4 "	39.0	39.5	38.9	39.4	39.2	39.0	39.2	39.4	39.5	39.1	39.4	38.9	39.3	38.9	39.6	38.9	3.1/5.5
51.	J 3/4 "	39.2	39.5	39.3	39.5	39.2	39.4	39.4	39.7	40.1	39.5	39.8	39.1	39.9	39.0	39.8	39.2	6.4
52.	J 1/2 "	38.5	39.4	38.5	39.1	39.0	39.0	39.3	39.5	40.0	39.3	39.7	38.5	39.6	38.6	39.4	38.7	6.3
53.	J 1/2 "	38.9	39.4	39.1	39.3	38.9	39.1	39.2	39.4	39.5	39.1	39.8	39.0	39.8	39.1	39.0	39.1	0.3
54.	B 4 Mon.	38.8	38.8	39.1	39.1	39.0	39.0	39.1	39.0	39.4	39.4	39.0	38.8	39.1	38.7	39.0	38.8	3.0/4.5
55.	B 3 "	39.0	39.0	38.7	39.0	39.0	39.1	39.1	39.2	39.3	39.0	39.0	38.6	39.1	38.6	39.4	38.0	0.5

Ibc-verseuchte Bestände

fd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe										Hautdicken- zunahme (in mm)	Ters zunahme ()		
		18 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.			96 St. n.I.	
Bestand 7																				
56.	K 8	Jahre	38.4	38.9	38.4	38.8	38.5	38.8	38.6	38.8	39.1	38.5	38.7	38.6	38.7	38.4	38.8	38.4	5.1	
57.	K 4	"	38.5	38.6	38.7	38.9	38.3	39.0	38.4	38.6	38.6	38.7	38.6	38.6	38.6	38.5	38.7	38.7	8.4	
58.	K 4	"	37.9	38.4	38.3	38.6	38.0	38.7	38.7	38.8	40.5	38.4	38.5	38.2	38.6	38.3	38.7	38.3	6.8	
59.	K 4	"	38.2	38.7	38.2	38.7	38.2	38.8	38.9	40.4	40.7	39.5	39.0	38.2	38.5	38.4	38.8	38.4	4.9	
60.	K11	"	38.7	38.7	38.5	38.9	38.5	38.7	38.6	38.6	38.7	38.7	38.6	38.5	38.7	38.4	38.8	38.5	4.3	
61.	K 7	"	38.4	38.8	38.3	38.5	37.9	38.1	38.3	38.7	40.1	39.3	38.4	38.5	38.4	38.2	38.5	38.2	9.2	
62.	K 9	"	38.3	38.7	38.3	38.4	38.4	38.7	38.5	39.5	39.2	38.2	38.5	38.4	38.6	38.5	38.5	38.4	3.2/7.4	
63.	K 5	"	37.8	38.9	37.8	38.8	38.1	38.5	38.6	39.0	39.0	38.5	38.7	38.6	38.7	38.5	38.4	38.1	5.6	
64.	K 9	"	38.6	38.6	38.4	38.6	38.4	38.9	38.8	38.9	39.1	38.8	38.8	38.6	39.0	38.8	38.9	38.6	4.7	
65.	K 4	"	38.1	38.9	38.2	38.7	38.4	38.5	38.7	39.0	40.3	38.8	38.9	38.4	38.4	38.4	38.6	38.2	7.6	
66.	J 1 1/2	"	38.3	38.7	38.4	38.7	38.5	38.8	38.9	39.1	39.5	39.0	40.0	39.5	39.3	38.5	38.8	38.5	6.2	
67.	J 1	"	38.6	38.9	38.6	38.8	38.5	38.7	38.8	38.6	39.0	38.9	38.8	38.5	39.0	38.5	39.0	38.6	5.6	
68.	J 1	"	39.0	39.0	38.7	39.0	38.7	39.0	38.9	39.3	40.6	40.3	39.2	39.2	39.4	38.7	39.0	38.9	10.4	
69.	J 1	"	38.9	39.3	38.8	39.2	38.8	38.9	39.0	40.0	41.0	39.6	39.6	39.1	39.5	39.1	39.1	39.0	13.2	
70.	J 1	"	39.1	39.2	39.2	39.4	39.1	39.4	39.9	40.0	40.4	40.1	40.3	39.6	39.7	39.5	39.2	39.2	1.8/8.3	
71.	J 7	Mon.	38.9	39.1	39.0	39.2	39.4	39.7	40.6	41.1	40.9	40.6	39.2	38.9	39.2	39.0	39.1	39.0	2.6/13.8	
72.	J 6	"	39.0	39.0	39.2	39.7	39.0	39.2	39.0	39.0	39.5	38.9	39.0	39.1	39.3	39.0	39.2	39.0	0.8	
73.	J 5	"	39.3	39.8	39.2	39.7	39.2	39.1	39.3	39.3	39.7	39.4	39.5	39.2	39.3	39.2	39.5	39.2	0.7	
74.	J 5	"	39.6	39.4	38.9	39.3	39.0	39.0	38.9	39.1	39.3	38.8	39.1	39.0	39.0	38.1	39.3	39.3	1.3	
Bestand 8																				
75.	K 9	Jahre	38.2	38.4	38.0	38.6	38.2	38.6	38.5	38.9	38.9	38.6	38.9	38.4	38.9	38.6	38.4	38.4	2.9/3.3	0
76.	K 2	"	38.0	38.7	38.1	38.9	38.0	38.4	38.4	38.5	39.0	38.5	38.5	38.2	38.6	38.4	38.9	38.7	13.7	0
77.	K 9	"	38.4	38.8	38.3	38.5	37.9	38.1	38.4	38.6	39.0	38.2	38.1	38.4	38.5	38.8	38.5	38.5	3.7/5.7	0
78.	K 8	"	38.6	38.7	38.4	38.9	38.4	38.4	38.3	38.5	39.0	38.3	38.7	38.2	38.8	37.9	38.7	38.2	9.2	0
79.	J 2	"	38.4	39.0	38.4	39.2	38.3	38.4	39.1	39.7	40.1	38.9	38.5	38.5	39.0	38.7	39.5	38.4	4.3	0
80.	J 2	"	38.3	38.7	38.2	38.7	38.2	38.4	38.6	39.6	40.8	38.2	38.4	38.6	38.9	38.5	38.7	38.3	11.3	2
81.	J 2	"	38.5	39.4	38.6	39.0	38.6	38.9	38.7	38.7	40.6	38.6	38.7	38.6	39.1	38.7	39.3	38.5	5.1	1
82.	J 3	Mon.	38.7	39.8	39.2	39.8	39.0	39.1	39.1	39.1	39.1	39.1	39.0	39.3	38.6	39.0	38.7	39.3	2.2/3.5	0
83.	J 3/4	Jahre	38.9	39.1	38.9	39.5	39.0	39.2	39.2	39.3	39.4	39.0	39.1	38.9	39.1	38.6	39.2	38.8	2.1/4.9	-
84.	J 1	"	39.0	39.4	39.1	39.4	39.1	39.0	39.1	39.2	39.5	39.2	39.1	39.1	39.5	38.9	39.1	39.0	4.6	0

Ibc-versauchte Bestände

Lfd.Nr	Geschlecht	Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe										Hautdicken- zun (in mm)	
			48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.		96 St. n.I.
Bestand 9																			
85.	K 7	Jahre	38.3	<u>39.2</u>	38.6	<u>38.9</u>	38.2	38.7	38.7	39.1	<u>39.2</u>	38.7	38.3	38.7	39.1	38.5	38.6	38.4	6.7
86.	K 15	"	38.3	<u>39.0</u>	38.2	<u>39.0</u>	38.2	38.2	38.4	<u>38.9</u>	38.8	38.4	38.3	38.4	38.5	39.1	38.9	38.6	6.5
87.	K 8	"	38.3	<u>39.1</u>	38.3	<u>38.8</u>	38.1	38.4	38.8	<u>39.1</u>	40.5	38.8	38.7	38.0	38.8	39.0	38.9	38.6	6.5
88.	K 5	"	38.4	<u>39.4</u>	38.2	<u>38.9</u>	38.4	38.4	38.6	39.1	<u>39.4</u>	38.3	38.7	38.2	39.0	38.5	38.9	38.6	16.0
89.	K 4	"	38.3	<u>39.7</u>	36.3	<u>38.8</u>	38.1	38.5	38.7	39.1	<u>40.3</u>	38.2	38.3	38.1	38.9	38.4	38.8	38.3	1.3
90.	K 3	"	38.5	<u>38.9</u>	38.2	<u>39.0</u>	38.3	38.5	38.5	38.7	<u>38.8</u>	38.6	38.6	38.4	38.8	38.6	38.7	38.2	7.8
91.	J 3	Mon.	38.5	<u>38.6</u>	38.4	<u>39.0</u>	38.7	38.7	38.7	38.8	<u>39.1</u>	38.5	38.7	38.4	38.8	38.6	38.7	38.2	1.1
92.	J 3 1/2	"	38.9	<u>39.7</u>	36.9	<u>38.9</u>	38.9	39.2	39.2	39.3	<u>39.4</u>	38.8	39.3	38.7	39.1	38.9	39.3	38.8	0.2
93.	J 4	"	38.7	<u>39.1</u>	38.9	<u>39.3</u>	38.9	39.1	39.1	39.0	<u>39.3</u>	39.0	39.7	39.4	39.3	39.2	39.0	38.8	1.2
94.	J 1	Jahr	38.7	<u>39.6</u>	38.7	<u>39.2</u>	38.7	39.1	39.0	39.2	<u>39.4</u>	38.8	39.1	38.7	39.4	39.3	39.2	39.0	0.2
95.	J 1	"	38.7	<u>38.9</u>	36.7	<u>38.7</u>	38.5	38.8	38.8	38.8	<u>39.1</u>	38.5	39.1	38.7	39.1	38.7	39.0	38.5	2.9
96.	J 1	"	38.5	<u>38.8</u>	38.6	<u>38.9</u>	38.5	38.7	38.8	38.7	<u>39.0</u>	38.6	38.8	38.5	39.0	38.5	38.9	38.6	6.4
97.	J 1	"	38.5	<u>39.7</u>	38.6	<u>38.8</u>	38.6	38.9	38.8	38.6	<u>39.0</u>	38.5	38.8	38.5	39.0	38.9	38.9	38.6	0.8
Bestand 10																			
98.	K 3	Jahre	38.8	<u>38.7</u>	38.6	<u>38.9</u>	38.7	38.7	38.8	39.2	<u>39.3</u>	38.6	38.9	38.3	38.9	38.1	38.9	38.3	4.5
99.	K 3	"	38.6	<u>39.1</u>	38.5	<u>38.9</u>	38.4	39.0	39.0	39.4	<u>40.7</u>	40.4	39.8	39.2	39.4	38.7	39.0	38.9	8.5
100.	K 3	"	38.7	<u>39.0</u>	38.8	<u>38.9</u>	38.7	38.9	39.0	40.1	<u>41.2</u>	39.3	40.1	39.4	39.6	39.8	39.1	38.8	10.9
101.	K 3	"	<u>38.6</u>	<u>38.6</u>	38.3	<u>38.6</u>	38.2	38.4	38.9	39.1	<u>39.5</u>	39.4	39.3	39.1	39.3	38.5	38.9	38.6	9.3
102.	K 6	"	36.4	<u>38.7</u>	38.4	<u>38.5</u>	38.5	39.1	39.0	39.1	<u>39.2</u>	38.9	39.2	38.3	38.7	38.7	38.8	38.4	1.3
103.	K 8	"	38.4	<u>38.5</u>	38.2	<u>38.7</u>	38.2	38.6	38.8	40.2	<u>40.9</u>	39.6	39.9	38.8	39.0	38.4	39.1	38.5	5.5
104.	K 6	"	38.1	<u>39.1</u>	37.9	<u>38.8</u>	38.2	38.2	38.6	38.5	<u>38.8</u>	38.4	38.7	37.9	38.5	37.9	38.5	38.0	1.1
105.	K 6	"	38.5	<u>38.7</u>	38.3	<u>38.8</u>	38.4	38.9	38.7	38.7	<u>39.1</u>	39.0	39.0	38.6	38.7	38.5	38.9	38.6	0.3
106.	K 8	"	38.3	<u>39.3</u>	38.2	<u>38.6</u>	38.2	38.1	38.4	38.9	<u>39.2</u>	40.3	39.3	38.7	38.8	38.2	38.5	38.4	7.6
107.	K 9	"	38.1	<u>39.1</u>	38.2	<u>38.4</u>	38.0	38.6	38.6	39.0	<u>39.5</u>	38.8	39.3	38.2	38.7	38.1	39.1	38.3	6.9
108.	K 2 1/2	"	38.8	<u>39.1</u>	39.1	<u>38.9</u>	38.6	39.0	38.8	38.9	<u>39.4</u>	38.8	39.3	38.2	38.7	38.1	39.1	38.3	9.4
109.	K 3	"	38.6	<u>39.3</u>	38.9	<u>39.2</u>	38.7	39.2	39.4	39.8	<u>40.3</u>	39.7	39.3	38.7	39.2	38.6	39.0	38.7	5.7
110.	B 1	"	39.0	<u>39.9</u>	39.2	<u>39.2</u>	38.8	38.9	39.1	39.8	<u>39.8</u>	39.7	39.7	39.2	39.5	39.0	39.2	39.2	9.9
111.	B 7	Mon.	38.7	<u>39.5</u>	38.8	<u>39.7</u>	38.6	38.8	38.8	39.6	<u>40.1</u>	39.4	39.9	39.0	39.4	38.7	39.1	38.8	8.2
112.	B 6	"	38.7	<u>39.4</u>	38.6	<u>39.0</u>	38.8	38.9	39.0	39.3	<u>39.3</u>	39.1	39.1	38.9	39.2	39.1	39.3	38.6	0.9
113.	J 7	"	38.7	<u>39.2</u>	38.4	<u>39.0</u>	38.7	38.9	38.9	39.4	<u>39.8</u>	38.9	39.3	38.8	39.0	38.7	39.1	38.8	5.8
114.	J 4	"	38.8	<u>39.3</u>	38.9	<u>39.4</u>	39.2	39.2	39.4	39.4	<u>40.1</u>	39.5	39.9	39.0	39.2	39.2	39.3	39.0	8.7

Ibc-verseuchte Bestände

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe											Hautdicken- zunahme (in mm)	
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.	96 St. n.I.		
Bestand 9																			
85.	K 7	Jahre	38.3	39.2	38.6	38.9	38.2	38.7	38.7	39.1	39.2	38.7	38.3	38.7	39.1	38.5	38.6	38.4	6.7
86.	K15	"	38.3	39.0	38.2	39.0	38.2	38.2	38.4	38.9	38.8	38.4	38.3	38.4	38.5	38.1	38.9	38.6	6.5
87.	K 8	"	38.3	39.1	38.3	38.8	38.1	38.4	38.8	39.1	40.5	38.8	39.7	38.0	38.8	38.0	39.0	38.3	16.0
88.	K 5	"	38.4	39.4	38.2	38.9	38.4	38.4	38.6	39.1	39.4	38.3	38.7	38.2	39.0	38.5	38.9	38.6	1.3
89.	K 4	"	38.3	39.1	38.3	38.8	38.1	38.5	38.7	39.1	40.3	38.2	38.3	38.1	38.9	38.4	38.8	38.3	7.8
90.	K 3	"	38.5	38.9	38.2	39.0	38.3	38.5	38.5	38.7	38.8	38.6	38.7	38.4	38.8	38.6	38.7	38.2	1.7
91.	J 3	Mon.	38.5	38.6	38.4	39.0	38.7	38.7	38.7	38.8	39.1	38.5	39.3	38.9	39.0	38.5	39.1	38.6	0.2
92.	J 3 1/2	"	38.9	39.7	38.9	38.9	38.9	39.2	39.2	39.3	39.4	38.8	39.3	38.7	39.1	38.9	39.3	38.8	1.2
93.	J 4	"	38.7	39.7	38.9	39.3	38.9	39.1	39.1	39.2	39.4	38.8	39.3	38.7	39.1	38.9	39.3	38.8	1.2
94.	J 1	Jahr	38.7	39.6	38.7	39.2	38.7	39.1	39.0	39.2	39.4	38.8	39.1	38.6	39.3	38.8	39.2	38.7	2.9
95.	J 1	"	38.7	38.9	38.7	38.7	38.5	38.8	38.8	38.8	39.1	38.5	39.1	38.7	39.1	38.7	39.0	38.5	8.4
96.	J 1	"	38.5	38.8	38.6	38.9	38.5	38.7	38.8	38.7	39.0	38.5	38.8	38.5	39.0	38.5	38.9	38.6	0.8
97.	J 1	"	38.5	39.7	38.6	38.8	38.6	38.9	38.8	38.8	39.0	38.5	38.8	38.5	39.0	38.9	38.9	38.6	1.3
Bestand 10																			
98.	K 3	Jahre	38.8	38.7	38.6	38.9	38.7	38.7	38.8	39.2	39.3	38.6	38.9	38.3	38.9	38.1	38.9	38.3	4.5
99.	K 3	"	38.6	39.1	38.5	38.9	38.4	39.0	39.0	39.4	40.7	40.4	39.8	39.2	39.4	38.7	39.0	38.9	8.5
100.	K 3	"	38.7	39.0	38.8	38.9	38.7	38.9	39.0	40.1	41.2	39.3	40.1	39.4	39.6	38.8	39.7	38.8	10.9
101.	K 3	"	38.6	38.6	38.3	38.6	38.2	38.4	38.9	39.1	39.5	39.4	39.3	39.1	39.3	38.5	38.9	38.6	9.3
102.	K 6	"	38.4	38.7	38.4	38.5	38.5	39.1	39.0	39.1	39.2	38.9	39.2	38.3	38.7	38.7	38.8	38.4	1.3
103.	K 8	"	38.4	38.5	38.2	38.7	38.2	38.6	38.8	40.2	40.9	39.6	39.9	38.8	39.0	38.4	39.7	38.5	5.5
104.	K 6	"	38.1	39.1	37.9	38.8	38.2	38.2	38.6	38.5	38.8	38.4	38.7	37.9	38.5	37.9	38.5	38.0	1.1
105.	K 6	"	38.5	38.7	38.3	38.8	38.4	38.9	38.7	38.7	39.1	39.0	39.0	38.6	38.7	38.5	38.9	38.6	0.3
106.	K 8	"	38.3	39.2	38.2	38.6	38.2	38.1	38.4	38.9	39.2	40.3	39.3	38.7	38.8	38.2	38.5	38.4	7.6
107.	K 9	"	38.1	39.1	38.2	38.4	38.0	38.6	38.6	39.0	39.5	39.3	38.8	39.2	39.3	38.8	39.1	38.3	6.9
108.	K 2 1/2	"	38.8	39.1	39.1	38.9	38.6	39.0	38.8	38.9	39.4	38.8	39.3	39.2	39.3	38.8	39.1	38.9	9.4
109.	K 3	"	38.6	39.3	38.9	39.2	38.7	39.2	39.4	39.8	40.3	39.7	39.3	38.7	39.2	38.6	39.0	38.7	5.7
110.	B 1	"	39.0	39.9	39.2	39.2	38.8	38.9	39.1	39.8	39.7	39.2	39.7	39.2	39.5	39.0	39.2	39.2	9.9
111.	B 7	Mon.	38.7	39.5	38.8	39.1	38.6	38.8	38.8	39.2	40.1	39.4	39.9	39.0	39.4	38.7	38.7	38.8	8.2
112.	B 6	"	38.7	39.4	38.6	39.0	38.8	38.9	39.0	39.3	39.3	39.1	39.1	38.9	39.2	39.1	39.3	38.6	0.9
113.	J 7	"	38.7	39.2	38.4	39.0	38.7	38.9	38.9	39.4	39.8	38.9	39.3	38.8	39.0	38.7	39.1	38.8	5.8
114.	J 4	"	38.8	39.3	38.9	39.4	39.2	39.2	39.4	39.4	40.1	39.5	39.9	39.0	39.2	39.2	39.3	39.0	8.7

Ibc-versuchte Bestände

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe											Hautdickungs- zunahme (in mm)
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.	96 St. n.I.	
115.	J 4 Mon.	39.0	<u>39.3</u>	39.0	39.1	39.0	39.0	39.1	39.1	<u>39.3</u>	39.1	39.0	38.8	39.2	38.9	39.0	38.9	1.7
116.	J 5	39.2	39.8	39.5	<u>39.9</u>	39.4	39.4	39.7	39.6	<u>40.8</u>	39.9	40.1	38.7	39.5	38.7	39.3	39.2	4.8
117.	J 5	39.3	39.7	39.5	<u>39.8</u>	39.6	40.1	40.3	40.3	<u>40.5</u>	39.9	40.0	39.5	39.8	39.3	39.7	39.5	10.5
Bestand 11																		
118.	K 5 Jahre	38.3	<u>38.7</u>	38.0	38.7	37.9	38.5	38.7	39.9	<u>40.2</u>	39.0	39.8	38.1	38.6	38.0	38.8	38.1	9.2
119.	K 7	38.7	38.8	38.5	<u>39.3</u>	38.8	39.1	39.1	39.7	<u>40.4</u>	39.2	39.9	38.6	39.3	38.8	39.0	38.6	9.7
120.	J 1 1/2	38.9	<u>39.1</u>	38.8	39.0	38.7	39.0	39.2	39.3	<u>40.4</u>	40.3	39.2	39.3	39.4	38.7	39.0	38.8	10.4
121.	J 1	39.0	39.3	39.1	<u>39.4</u>	39.0	39.0	39.1	39.4	<u>39.5</u>	39.3	39.1	39.1	39.5	39.0	39.2	39.1	5.4
Bestand 12																		
122.	K 6 Jahre	38.3	<u>38.4</u>	38.2	38.4	38.3	38.5	38.5	38.7	<u>38.8</u>	38.1	38.4	38.3	38.5	38.2	38.6	38.3	4.1
123.	K 6	38.6	<u>38.7</u>	38.6	38.6	38.5	38.6	38.8	39.3	<u>41.3</u>	38.9	39.5	38.6	38.8	38.5	38.7	38.5	13.0
124.	K 6	38.2	38.4	38.3	<u>38.5</u>	38.3	38.4	38.5	<u>38.7</u>	<u>38.5</u>	38.2	38.7	38.2	38.6	38.4	38.5	38.3	2.5/0.4
125.	K 8	38.4	38.4	38.3	38.5	<u>38.6</u>	38.5	38.5	38.6	<u>38.9</u>	38.6	38.9	38.6	38.7	38.5	38.7	38.6	7.6
126.	K 4	38.3	<u>38.5</u>	38.3	38.4	38.3	38.5	38.6	38.6	<u>38.6</u>	40.0	<u>40.4</u>	38.7	38.6	38.3	38.3	38.4	7.7
127.	K 6	38.7	<u>39.0</u>	38.5	38.7	38.5	38.6	38.8	38.9	<u>40.7</u>	39.1	<u>40.7</u>	38.5	38.7	38.4	38.5	38.6	7.7
128.	K11	38.3	38.4	38.1	<u>38.5</u>	38.5	38.7	38.7	<u>38.8</u>	38.4	38.0	38.5	38.2	38.4	38.3	38.6	38.3	4.8
129.	K11	38.4	38.5	38.4	<u>38.7</u>	38.7	38.8	38.9	39.0	<u>39.3</u>	39.2	38.7	38.5	38.7	38.6	38.0	38.5	5.5
130.	K 5	38.2	38.5	38.4	<u>38.7</u>	38.0	38.5	38.5	38.7	<u>38.8</u>	<u>40.5</u>	38.8	38.3	38.5	38.1	38.3	38.3	8.6
131.	K 4	38.5	<u>38.7</u>	38.3	38.6	38.5	38.5	38.7	38.9	38.6	<u>39.0</u>	39.3	38.5	38.6	38.4	38.6	38.4	14.8
132.	K 7	38.3	<u>38.5</u>	38.2	38.5	38.4	38.5	38.6	38.7	38.6	38.6	<u>38.8</u>	38.2	38.5	38.4	38.5	38.3	4.8
133.	K10	38.4	38.4	38.1	38.6	<u>38.7</u>	38.7	38.9	39.2	<u>39.5</u>	38.1	38.6	38.5	38.6	38.3	38.7	38.6	9.8
134.	K 5	38.4	38.5	<u>38.7</u>	38.7	38.7	38.8	38.8	39.0	39.4	39.0	<u>40.0</u>	38.9	38.7	38.6	38.8	38.5	9.7
135.	K12	39.1	<u>39.2</u>	39.0	39.1	38.9	39.0	39.3	39.4	40.1	<u>40.4</u>	39.1	39.0	39.3	39.0	39.4	39.2	6.7
136.	K 4	38.5	38.4	38.4	<u>38.8</u>	38.5	38.5	38.6	38.8	38.9	40.5	<u>41.0</u>	40.1	39.6	38.3	38.4	38.5	13.6
137.	B 2	38.8	<u>39.0</u>	38.7	38.9	38.7	38.7	38.9	39.1	39.5	40.3	<u>40.8</u>	38.7	38.9	38.6	39.4	38.8	11.4
138.	B 2	38.7	38.9	38.4	<u>39.4</u>	38.8	38.9	39.1	39.4	<u>39.5</u>	39.0	39.1	38.8	38.9	38.7	39.0	38.9	7.8
139.	B 1 1/2	39.0	39.2	38.8	<u>39.4</u>	39.2	39.2	39.2	39.2	39.5	39.0	<u>39.6</u>	39.1	39.3	39.0	39.3	39.0	8.1
140.	J 1 1/4	38.6	38.8	38.6	<u>39.0</u>	38.9	39.0	39.1	<u>39.4</u>	39.4	38.7	39.2	38.8	38.9	38.5	39.2	38.7	0.2
141.	J 2	38.4	<u>38.8</u>	37.9	38.8	38.5	38.6	38.5	38.5	<u>39.0</u>	38.8	38.9	38.5	38.8	38.3	39.0	38.4	7.8

Ibc-versuchte Bestände

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe											Hautdicken: zur (in mm)
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.	96 St. n.I.	
142.	J 1 1/4 Jahre	38.7	38.7	<u>38.8</u>	38.7	38.7	38.9	39.2	39.5	<u>41.2</u>	40.5	40.9	39.1	39.0	38.8	39.1	38.9	15.3
143.	J 1 1/2	38.9	39.0	39.1	39.0	<u>39.2</u>	39.1	39.1	39.2	40.2	39.9	<u>40.7</u>	39.2	39.3	39.0	39.1	39.0	13.7
144.	J 1 1/2	38.5	38.6	38.4	<u>38.8</u>	38.8	38.9	38.9	39.0	<u>39.5</u>	39.0	39.2	38.9	39.0	38.6	39.2	38.6	7.5
145.	J 1 1/2	38.9	38.9	38.9	<u>39.1</u>	38.9	39.0	39.3	39.8	<u>41.1</u>	40.0	40.4	39.4	39.4	38.7	39.2	38.9	17.2
146.	J 1/2	38.8	38.9	38.6	<u>39.4</u>	39.0	39.0	39.1	39.1	<u>39.3</u>	38.7	39.1	38.8	39.0	38.8	39.1	36.8	0.6
147.	J 1/2	38.5	38.8	38.7	<u>38.9</u>	38.2	38.6	38.8	39.1	39.0	38.6	39.0	38.5	38.8	38.6	39.0	38.5	1.4
148.	J 5 Mon.	38.6	38.8	38.5	<u>39.0</u>	38.7	38.8	39.0	39.9	<u>40.8</u>	39.3	39.8	38.6	38.7	38.5	39.0	38.7	18.3
149.	J 5	39.0	39.4	38.9	<u>39.5</u>	39.2	39.3	39.3	<u>39.5</u>	39.2	39.0	39.2	38.9	39.2	38.9	39.4	39.0	0.5
150.	J 4	38.8	<u>39.1</u>	38.8	39.1	38.5	39.0	38.9	38.9	<u>39.6</u>	39.4	39.6	38.7	38.9	38.7	39.3	38.8	18.0
151.	J 6	38.8	<u>39.0</u>	38.9	39.0	38.8	38.8	39.1	39.1	39.2	38.6	39.2	39.0	<u>39.3</u>	38.9	39.1	38.9	0.3
152.	J 5	38.2	<u>38.6</u>	38.2	38.6	38.3	38.5	38.5	38.6	<u>39.0</u>	38.6	38.9	38.6	38.8	38.5	38.8	38.6	0.3

Lfd.Nr.	Geschlecht Alter	Temperatur vor der Tuberkulinprobe					Temperatur nach der Tuberkulinprobe										Hautdicken- zunahme (in mm)		
		48 St. v.I.	36 St. v.I.	24 St. v.I.	12 St. v.I.	v.I.	1 St. n.I.	5 St. n.I.	9 St. n.I.	13 St. n.I.	24 St. n.I.	36 St. n.I.	48 St. n.I.	60 St. n.I.	72 St. n.I.	84 St. n.I.		96 St. n.I.	
Tbc-freier Bestand (0.3 ccm Tuberkulin)																			
Bestand 13																			
1	K 3	Jahre	38.4	<u>38.8</u>	38.3	<u>38.6</u>	38.3	38.3	38.7	<u>39.0</u>	38.3	39.0	38.4	38.8	38.3	38.9	38.4	1.0	
2	K 3	"	38.4	<u>38.8</u>	38.5	<u>39.0</u>	38.4	38.2	38.3	38.6	<u>38.9</u>	38.5	<u>39.1</u>	38.5	38.9	38.4	38.8	0.9	
3	K 4	"	38.5	<u>38.7</u>	38.4	<u>38.9</u>	38.6	38.5	38.6	38.6	38.8	30.5	<u>38.9</u>	38.4	38.8	38.5	38.9	0.5	
4	K 7	"	38.3	<u>38.6</u>	38.4	<u>38.8</u>	38.3	38.2	38.2	38.7	<u>38.9</u>	38.1	38.8	38.3	38.6	38.3	38.7	0.6	
5	K 5	"	38.4	<u>38.8</u>	38.3	<u>39.0</u>	38.2	38.2	38.3	38.5	38.7	38.2	38.7	38.2	36.7	38.3	<u>38.6</u>	0.2	
6	K 6	"	38.5	<u>39.1</u>	38.4	<u>39.0</u>	38.5	38.5	38.6	38.8	<u>39.0</u>	38.8	38.8	38.4	38.9	38.5	39.0	0.3	
7	K 15	"	38.4	<u>38.6</u>	38.5	<u>38.9</u>	38.8	38.4	38.6	38.6	<u>38.9</u>	38.5	38.7	38.5	38.9	38.6	38.9	1.0	
8	K 10	"	38.6	<u>38.7</u>	38.6	<u>39.0</u>	38.8	38.6	38.6	38.8	<u>38.9</u>	38.6	38.7	38.6	38.8	38.5	38.8	0.3	
9	K 9	"	38.1	<u>38.5</u>	<u>38.9</u>	<u>38.6</u>	38.2	38.0	38.3	38.5	38.6	38.2	<u>38.8</u>	38.3	38.7	38.4	38.6	0.5	
10	J 1	"	38.7	<u>39.0</u>	38.8	39.0	38.6	38.6	38.7	38.8	<u>39.0</u>	38.7	38.9	38.6	39.0	38.7	38.2	0.2	
Tbc-veraechter Bestand (0.3 ccm Tuberkulin)																			
Bestand 14																			
1	K 4	Jahre	38.6	38.7	38.8	<u>38.9</u>	38.6	38.6	38.7	38.8	<u>39.1</u>	38.3	39.0	38.5	38.8	38.4	38.6	38.4	5.9
2	K 8	"	38.7	<u>39.0</u>	38.8	<u>39.0</u>	38.6	38.7	38.8	39.9	<u>40.3</u>	38.8	39.1	38.7	39.0	38.4	38.9	38.6	16.0
3	K 7	"	38.4	<u>38.7</u>	38.4	38.6	36.5	38.6	38.6	39.5	<u>39.9</u>	38.5	38.8	38.4	38.5	38.5	38.7	38.4	6.7
4	K 3	"	38.6	<u>38.8</u>	38.5	<u>38.9</u>	38.4	38.5	38.5	39.8	<u>40.7</u>	38.9	39.1	38.2	38.6	38.1	38.8	38.3	7.0
5	K 6	"	38.6	<u>38.7</u>	38.4	<u>38.8</u>	38.6	38.6	38.7	38.9	<u>39.0</u>	38.5	39.1	38.6	38.8	38.6	38.7	38.5	8.0
6	K 6	"	38.5	<u>38.8</u>	38.5	<u>38.9</u>	38.4	38.5	38.5	38.7	<u>39.3</u>	38.4	39.0	38.6	39.0	38.5	38.9	38.6	10.3
7	K 5	"	38.7	<u>39.1</u>	38.6	<u>39.2</u>	38.7	38.8	39.1	39.7	<u>41.0</u>	38.9	39.4	39.0	39.1	38.3	39.1	38.6	14.3
8	K 3	"	38.6	<u>39.0</u>	38.5	<u>38.8</u>	38.7	38.7	39.0	39.5	<u>40.6</u>	38.7	39.3	38.7	39.0	38.5	38.9	38.5	12.2
9	K 8	"	38.8	<u>39.1</u>	38.9	<u>39.5</u>	38.7	38.9	39.1	39.2	<u>39.6</u>	39.2	39.8	39.3	<u>39.9</u>	39.2	39.3	38.8	9.0
10	K 2	"	38.5	<u>39.0</u>	38.6	<u>39.3</u>	38.5	38.7	38.7	39.3	<u>40.8</u>	39.4	39.6	39.2	39.2	39.1	39.2	38.7	12.5

(orig)

**Zum Nachweis von Tuberkelbakterien in Milch,
Lungen- und Gebärmuttereschleimproben**

(Vergleich zwischen Kultur und Tierversuch unter
Berücksichtigung des syrischen Goldhamster)

Andreas W u r z e r

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseu-
chenbekämpfung in Schleißheim
Direktor: Prof. Dr. Hugo Grau

Vorgelegt vom Tierhygienischen Institut
der Universität München
Komm. Leiter: Prof. Dr. M. Rolle

ZUM NACHWEIS VON TUBERKEL=
BAKTERIEN IN MILCH, LUNGEN=
UND GEBÄRMUTTERSCHLEIM=
PROBEN
(Vergleich zwischen Kultur und Tierversuch unter
Berücksichtigung des syrischen Goldhamsters).

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Tierärztlichen Fakultät
der
Ludwig - Maximilians - Universität
München
von
Andreas W u r z e r
aus Langenpreising.

München 1951.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München.

Dekan: Geheimrat Prof. Dr. Dr. h. c. D e m o l l.
Referent: Prof. Dr. M. R o l l e.

Tag der Promotion: 20. Juli 1951

Meinen lieben Eltern aus Dankbarkeit
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Schrifttum	3
III. Eigene Untersuchungen	21
A. Material und allgemeine Versuchs- technik	21
1. Nährbodenmaterial	21
2. Impfmateriäl	21
3. Vorbehandlung des Untersuchungs= materials	22
4. Anlegen der Kulturen und Be= obachtungszeit der Nährröhrchen und Versuchstiere	23
5. Tuberkulinprobe beim Goldhamster	23
P. Vorversuche	24
1. Prüfung der Nährmedien	25
a) Kultur aus tuberkulöser Organen des Goldhamsters	25
b) Kultur aus mikroskopisch posi= tiven Lungen- und Gebärmutter= schleimproben	28
c) Kulturversuche mit positiven Lungenschleimproben	29
2. Vergleiche zwischen Kultur- und Tierversuchen	30
a) mit sicher positiven Milch-, Lungenschleim- und Gebärmutter= schleimproben als Ausgangs= material	30
b) mit mikroskopisch teils positi= ven und teils negativen Milch= proben	34
C. Hauptversuche	37
1. Vergleichende Kultur- und Tier= versuche unter Verwendung von Meerschweinchen und Goldhamster als Versuchstiere und der Nähr= boden nach Petraghani und Gebel	

	Seite
jeweils mit und ohne Glycerin	37
2. Vergleichende Kultur- und Tier- versuche mit dem Meerschweinchen als Versuchstier und den Nährböden nach Petraghani ohne Glycerin und Goebel mit Glycerin	41
3. Kulturversuche mit den Nährböden nach Petraghani ohne Glycerin und Goebel mit Glycerin	44
4. Kulturversuche mit den Nährböden nach Petraghani ohne Glycerin und Goebel mit Glycerin unter beson- derer vergleichender Berücksichti- gung des makroskopischen und mik- roskopischen Untersuchungsverfah- rens des flüssigen Nährbodens	49
IV. Besprechung der Ergebnisse	52
V. Zusammenfassung	54
VI. Schriftumsverzeichnis	57
VII. Lebenslauf	63

- 1 -

I. Einleitung

Die Durchführung des staatlich gelenkten, planmäßigen und freiwilligen Bekämpfungsverfahrens der Rindertuberkulose in der Nachkriegszeit brachte an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleißheim eine starke Häufung bakteriologisch - diagnostischer Untersuchungen mit sich. Die Anstalt ist gegenwärtig in Versuchen bestrebt, die raschesten und zugleich sichersten und billigsten Tuberkulose - Nachweismethoden zu ermitteln. Unserer Zeit entsprechend mußte eine der Hauptfragstellungen bei Durchführung der Versuche wirtschaftlicher Natur sein. Es war zu prüfen, inwieweit der kostspielige Tierversuch ohne Einbuße an Sicherheit durch den wesentlich billigeren Kulturversuch zurückzudrängen oder zu ersetzen ist. Ein literarischer Streifzug durch das umfangreiche Schrifttum über die Züchtung des Tuberkuloseerregers seit Robert Koch (1882) ließ zur Auswahl der nachgenannten optimalen Nährböden gelangen. Günstige Berichte aus jüngerer Zeit brachten den Gedanken nahe, auch ein flüssiges Nährsubstrat in die vergleichenden Versuche einzubeziehen. Obwohl eine Überlegenheit der flüssigen Tiefenkultur für diagnostische Zwecke gegenüber den festen Einährböden weder von deutschen noch von ausländischen Autoren festgestellt wurde, haben die flüssigen Nährböden doch in letzter Zeit eine erhebliche Bevorzugung erfahren und scheinen zusätzlich zur festen Kultur im Sinne einer Mehrernte in positiven Fällen brauchbar zu sein.

In Fortführung der Versuche von V i o t s e h k o (51) wurde bei den Impfversuchen der syrische Goldhamster (*Mesocricetus auratus*) mit dem Meeresschweinchen in Vergleich gestellt. Seine hohe

-2-

Fruchtbarkeit, die Einfachheit und Billigkeit
seiner Haltung und die Schnelligkeit des Angehens
der Tuberkuloseinfektion bei ihm waren dafür
maßgebend.

- 3 -

II. S c h r i f t t u m

Rund 70 Jahre sind nun schon seit der Entdeckung des Mycobakterium tuberculosis durch Robert K o c h vergangen. Seine Aufsätze über die Aetiologie der Tuberkulose zeigen eindeutig sein Bemühen für den langsam und auf den gebräuchlichen Nährböden kaum oder überhaupt nicht wachsenden Tuberkuloseerreger ein geeignetes Kulturmedium zu finden.

Obwohl die diagnostische Erstkultur in diesem Anfangsstadium der Tuberkuloseforschung der technischen Unzulänglichkeiten des Kulturverfahrens wegen noch keine Bedeutung haben konnte, hat Robert K o c h (28, 29, 30) doch schon im Rahmen der Tuberkulingewinnung beachtliche Anfangserfolge erzielt. Erstarres sterilisiertes Serum von Rinder - oder Schafblut, Agar - Agar mit Zusatz von Fleischinfus und Pepton, durch Zusatz von Agar - Agar zum Erstarren gebrachtes neutralisiertes Fleischinfus waren die ersten Nährböden, mit denen Robert K o c h arbeitete. Auch die flüssigen Nährsubstrate, die in jüngster Zeit sich steigender Beliebtheit erfreuen, sind eine Erfindung Robert K o c h s. So verwendete er bereits flüssiges sterilisiertes Serum, eine Kulturflüssigkeit aus Infus von Kalbfleisch mit Zusatz von 1% Pepton und 4 - 5% Glycerin. Zahlreiche Tuberkuloseforscher und Bakteriologen beteiligten sich in der Folgezeit an der Verbesserung der Tuberkulosenährböden.

M o c a r d u. R o u x (36) erkannten 1887 die austrocknungshemmende und wachstumsfördernde Wirkung des Glycerins.

S a n d e r (43) betonte 1893 die Be=

- 4 -

deutung der Feuchtigkeit der Nährmedien und stellte eine kräftigere und schnellere Entwicklung der Kulturen in Röhren, die einen Luftwechsel gestatteten, fest.

Neuland für die Züchtung des Tuberkuloseerregers bedeutete es, als Kühne (27) 1893 die erste Kultur auf synthetischer Nährflüssigkeit, die hauptsächlich aus den Bestandteilen des Liebig'schen Fleischextraktes bestand, erzielte.

Durch diese Entdeckung angeregt, stellten 1894 Proskauer u. Beck (41) eine Analyse der Tuberkel - Asche an und stellten auf Grund dieser Ermittlungen ein einfaches vorwiegend aus anorganischen Substanzen und Glycerin bestehendes Nährsubstrat her.

Einen fundamentalen Beitrag für die spätere erfolgreiche Entwicklung der Einährböden leistete Capaldi (5) 1896 durch seine erstmalige Verwendung von Hühnerlei in Form von nicht koaguliertem Dotter.

Dorset (7) stellte 1902 einen für die Erstkultur bestimmten Nährboden aus koaguliertem Gesamtei her, weil er glaubte, daß die Tuberkelbakterien auf Gesamtei üppiger wachsen als auf Eigelb.

In Anknüpfung an die Züchtungserfolge in flüssigen Nährsubstraten von Proskauer und Beck verbesserte Lockemann (31) 1911 in umfassenden ernährungsphysiologischen Versuchen die Züchtung auf synthetischen Nährlösungen.

1912 machte Sauton (44) die Beobachtung, daß die Kulturnusbeute der synthetischen Nährlösung durch geringen Eisenzusatz um das dreifache gesteigert wird. Die Nährlösungen von Proskauer und Beck, Lockemann

- 5 -

und S c u t o n sind unter wechselnden Mengenverhältnissen bezw. Weglassung einzelner Substanzen im wesentlichen folgender Zusammensetzung: $K_2 H_2 P O_4$, $K_2 H P O_4$, $N a H_2 P O_4$, $M g S O_4$, Mg-citrat, $N a$ -citrat, Zitronensäure, Asparagin, Glycerin, Traubenzucker, Ferricitrat, Ferriammonicitrat, Ferriammonsulfat.

1921 entwickelte B e s r e d k a (2) einen flüssigen Eigelbnährboden, den er in der Weise herstellte, daß er reinen Dotter unter 20 facher Verdünnung mit 1% iger Sodalösung transparent machte.

Den ersten Versuch, die primäre bakterielle Verunreinigung der Einährböden durch Zusatz von wachstumshemmenden Farbstoffen auszuschalten, unternahm 1915 P e t r o f f (38). Er verwendete dazu 0,001% Gentianaviolett. P e t r a g n a n i und H o h n setzten ihren zu hoher Bedeutung gekommenen Einährböden Malachitgrün zur Hemmung des Wachstums der Begleitbakterien zu.

L ö w e n s t e i n (33, 34) und S u m i y o s h i (49) kamen als erste auf den Gedanken, die Abtötung der Begleitflora in dem zu kultivierenden und häufig verunreinigten Material durch Behandlung mit 10 bis 12% iger $H_2 S O_4$ zu erreichen. Diese Entdeckung war von grundlegender Bedeutung und kann nicht hoch genug eingeschätzt werden, weil dadurch erst die diagnostische Brauchbarkeit der Erstkultur aus verunreinigtem Material und damit die kulturelle Massenuntersuchung von Milch-, Schleim- und Kotproben besonders in veterinären Untersuchungsanstalten ermöglicht wurde. Mit diesem Stadium der Kulturentwicklung trat zum ersten Mal der Nährboden als beachtlicher Konkurrent des Tierversuches auf, der bisher zur Untersuchung von verunreinigtem Material allein brauchbar war.

- 6 -

Die Beobachtung H o h n s (19), daß das Ei-medium die Fähigkeit hat eine gewisse Menge Säure zu binden, ließ die Auswaschung der Schwefelsäure nach Abtötung der Begleitbakterien überflüssig erscheinen.

Bedeutende Fortschritte und Verbesserungen in der Herstellung geeigneter fester Nährböden haben wir H o h n (20, 21, 22) zu verdanken. Nachdem er seinen Hämatin - Nährboden (Z - Nährboden) verlassen hatte, gelangte er 1933 zum Aminonährboden, einer Kombination von Eimasse mit der synthetischen Flüssigkeit D von L o c k e m a n n. Das jüngste und beste Exemplar der Hohn'schen Nährbodenserie stellt Substrat 4 dar, eine Kombination von Eimasse, Kartoffelkleister und der neuen D-Lösung von L o c k e m a n n. Das Grundsubstrat aus Kartoffeln, Lockemannlösung und Glycerin kann in gebrauchsfertiger, abgemessener Menge vorrätig gehalten werden und ist so stets greifbar zur Herstellung des Eimediums. Auf diese Weise wird die Bereitung einer größeren Menge von Eiröhrchen und zugleich damit die Gefahr des Arbeitens mit überaltetem Substrat vermieden. Nach dem eigenen Urteil H o h n s übertrifft das neue Substrat alle früheren Eimedien an Wirksamkeit und eignet sich auch zur Züchtung des bovinen Typs.

Nach W i t t e (54, 55) unterscheidet sich der Typus bovinus vom Typus humanus in seinem Stoffwechsel besonders durch sein glycerinophobes Wachstumsverhalten. Die ausschließliche Verwendung von glycerinhaltigen Nährböden für die Züchtung von Tuberkelbakterien sei als fehlerhaft anzusehen. Nur einzelne bovine Stämme würden auf glycerinhaltigen Nährböden ebenso gut oder besser als auf solchen ohne Glycerin gedeihen. W i t t e stellt außerdem fest, daß die Tuberkelbakterien des bovinen Typs bei luftdichtem Verschluss der Röhrchen

- 7 -

keiner besonderen Sauerstoffzufuhr bedürfen, wie es verschiedentlich empfohlen worden ist. Von den geprüften Originalnährböden ist nach W i t t e der von P e t r a g n a n i angegebene denjenigen nach H o h n und L ö w e n s t e i n für die Züchtung der Tuberkelbakterien vom Typ bovinus weit überlegen. Durch Ersatz der Hälfte der Milch des Petragnani-Nährbodens durch Fleischwasser ließe sich der Wert des Nährbodens für die Kultur bezw. Tuberkelbakterien erhöhen. Die von ihm vergleichend geprüften Original - Nährböden nach H o h n und P e t r a g n a n i seien der von ihm angegebenen Modifikation unterlegen, soweit die Eignung für die Tuberkelbakterien boviner Herkunft in Frage komme. Er führte mit den bewährten Nährböden, namentlich mit demjenigen nach P e t r a g n a n i und der von ihm empfohlenen Modifikation Reihenuntersuchungen durch, um den praktischen Wert des Kulturverfahrens im Vergleich zum Tierversuch zu bestimmen. Das Ergebnis war hinsichtlich der Brauchbarkeit der Kultur günstig. Kultur und Tierversuch ergänzen sich in wertvoller Weise. In vielen Fällen gestattet die Kultur eine Abkürzung der Zeit bis zur endgültigen Diagnose, wenn die von S i c k m ü l l e r empfohlene mikroskopische Untersuchung der Kulturen angewandt wird. Fehlergebnisse sind durch säurefeste Saprophyten aus dem Untersuchungsmaterial möglich.

Der Hohn'sche Nährboden wurde unter den tierärztlichen Autoren erstmalig von S i c k m ü l l e r (45) mit Erfolg angewandt. Er hat als erster tierärztlicher Autor in Deutschland auf die praktische Verwendbarkeit des Tuberkelbakterienzüchtungsverfahrens hingewiesen und betont, daß letzteres dem Tierversuch in den Fällen deutlich überlegen ist, in denen durch spezifi-

- 8 -

sche Immunitätsvorgänge im Tierkörper geschwächte Tuberkelbakterien zur Verimpfung gelangen. Die Meerschweinchen erkranken in diesen Fällen nicht, während die Kultur positiv verläuft. Als Gesamtergebnis konnte Sickmüller durch die Kultur in 6% der Fälle Tuberkelbakterien nachweisen, während der Tierversuch diesen Nachweis nur zu 4% lieferte.

Wolters (56) berichtet über vergleichende Untersuchungen unter Verwendung des Tierversuches und der Kulturmethoden mit Sammelmilchproben. Von 234 derartig vergleichsweise geprüften Proben war die Kultur 14 mal, der Tierversuch 18 mal positiv. Eine Übereinstimmung beider Verfahren war nur 4 mal vorhanden. Wolters hält deshalb bei der Untersuchung von Gesamtmilchproben den Tierversuch vorläufig für unentbehrlich. Die Versuche wurden mit dem Nährboden nach Petragani durchgeführt, der nach der Meinung Wolters dem Hohn'schen Nährboden überlegen ist.

In jüngster Zeit konnte Gottsacker (10, 11, 12, 13) über bemerkenswerte Fortschritte im Kulturverfahren mit festen Nährböden berichten. Das von ihm beschriebene Sauton-Eisubstrat besteht aus zwei Teilen des Hohn'schen Substrates und einem Teil Sautonflüssigkeit. Sein Vorteil besteht in einem Ersparnis an Eiern bei der Herstellung und außerdem trägt der höhere Wassergehalt des Nährbodens dem stärkeren, aber bisher viel zu wenig berücksichtigtem Feuchtigkeitsbedürfnis des Mycobakterium tuberculosis besser Rechnung und verlangsamt das Austrocknen der Kultur wesentlich, sodaß sie sich üppig entwickeln kann. In seiner Schrift: "Die Bedeutung der Feuchtigkeit und ihre Erhaltung" weist Gottsacker auf die Verschlechterung der Nährböden durch

- 9 -

Feuchtigkeitsentzug beim Koagulieren im Heißluftkasten und bei der Bebrütung hin. Durch Koagulierung der Nährböden im Dampf und durch die Bebrütung der Kulturen in der feuchten Kammer konnte er eine Feuchtigkeitsabgabe der Nährböden verhindern und so das Wachstum der Tuberkelbakterien, die Treibhauspflanzen seien, fördern.

Weiterhin konnte G o t t s a c k e r feststellen, daß die Zusammensetzung unserer gebräuchlichen Tuberkulose - Nährböden wegen ihres Gehaltes an Eiklar unzweckmäßig ist. Die zeitlichen Wachstumsunterschiede zwischen Humanus und Bovinus verringerten sich immer mehr, je höher die Eigelb - Konzentration des verwendeten Nährbodens war. Als besten Nährboden nennt G o t t s a c k e r ein erstarrtes Gemisch von gleichen Raumteilen Sauton - Lösung und Eigelb. Er übertrifft alle bisher von ihm geprüften Nährböden und ist denkbar einfach herzustellen. Bezüglich der Malachitgrünkonzentration, welche P e t r a g n a n i (1 : 2000) und L ö w e n s t e i n (1 : 35000) wählten, ist G o t t s a c k e r der Meinung, daß sie zu hoch ist und nicht nur die Begleitflora, sondern auch die Tuberkelbakterien im Wachstum hemmt. Es ist außerdem zu bedenken, daß beim Bebrüten ohne Verdunstungsschutz mit steigender Austrocknung die Farbstoffkonzentration entsprechend größer wird und damit einen wesentlichen wachstumshemmenden Faktor darstellt.

Bahnbrechende Verdienste um die Entwicklung flüssiger synthetischer Nährmedien hat sich K i r c h n e r (24) erworben. Seine drei Serumnährböden, die ursprünglich in erster Linie zur Prüfung des Einflusses irgendwelcher Substanzen auf den Tuberkelbazillus und sein Wachs-

- 10 -

tum gedacht waren, wurden die Grundlage mehrerer diagnostisch brauchbarer flüssiger Nährböden. K i r c h n e r selbst urteilt über seine Nährböden wie folgt: "Es soll nun hinsichtlich der Verwendung der Tiefenkultur für diagnostische Zwecke nicht etwa empfohlen werden den flüssigen Nährboden an Stelle des Einährbodens für diagnostische Tuberkelbazillenkultur zu gebrauchen. Ihn neben diesen mitgehen zu lassen hat sich uns aber bewährt". Bei guter Tuberkelbazilleneinsaat ist das Tiefenwachstum nach seinen Beobachtungen bereits nach 5 - 10 Tagen makroskopisch erkennbar, bei spärlicher Einsaat dauert es ca 2 - 3 Wochen, bis die Kolonien deutlich sind. Das Wachstum zeigt sich in Form kleiner, stecknadelkopfgroßer, weißgrauer Körnchen, die sich später zu linsengroßen Konglomeraten vereinigen. Die Flüssigkeit bleibt stets völlig klar. Der Bodensatz zerteilt sich beim Schütteln nie homogen unter Trübung der Flüssigkeit, eine Erscheinung, die K i r c h n e r als Kriterium für die Unterscheidung von Tuberkelbakterienreinkulturen von verunreinigten Nährböden benützt.

Ausgehend vom flüssigen Serumnährboden nach K i r c h n e r gelang es G o e b e l, zitiert nach P o t h m a n n (40), nach Erprobung zahlreicher Modifikationen in "Substrat 20" einen geeigneten flüssigen Nährboden zu finden. Die wesentlichen Vorzüge des modifizierten flüssigen Nährbodens sind nach G o e b e l die erhöhte Pufferkapazität auch bei Anwendung von zur Abtötung der Begleitflora höherprozentiger Schwefelsäure, der Ersatz der heute nur schwer beschaffbaren Aminosäuren Asparagin und Alanin mit gutem Erfolg durch Ammoniumchlorid und das schnellere und sichere

- 11 -

Wachstum von bovinen Stämmen, insgesamt aber eine Mehrausbeute an positiven Fällen. Nach P o t h m a n n s Erfahrungen stellt "Substrat 20" eine wesentliche Verbesserung in der Tuberkelbakterienkultivierung dar. Er erreichte bei insgesamt 500 Einsendungen verschiedener Herkunft eine Mehrausbeute von 25 positiven Diagnosen (20%) durch Hinzuziehung des flüssigen Nährsubstrates zu dem festen "Substrat 4" nach H o h n. P o t h m a n n modifizierte das "Substrat 20" durch Herabsetzung der von G o e b e l angegebenen Malachitgrünkonzentration von 1 : 50000 auf 1 : 75000. Die frühesten positiven Ergebnisse konnte P o t h m a n n bereits nach 12 - 14 Tagen beobachten, die Mehrzahl der Kulturen zeigte das beste Wachstum nach 3 - 4 Wochen. Zur Unterscheidung pathogener und apathogener Formen soll der Nährboden durchaus geeignet sein. Die apathogenen Mycobakterien wachsen ausser im Sediment auch an der Oberfläche in groben häutigen Fetzen nach Art von Gewebsteilen. Die mikroskopische Kontrolluntersuchung während und am Ende der 6 - 8wöchigen Bebrütungsdauer wird mit Ausnahme der Fälle von mehr oder weniger starker Verunreinigung, in denen die Tuberkelkolonien auch für den geübten Untersucher sicher aus der homogenen Trübung heraus zu erkennen sind, abgelehnt. Die Gefahr einer Verwechslung durch apathogene säurefeste Bakterien bei der mikroskopischen Kontrolluntersuchung ist nach Ansicht P o t h m a n n s gering, wenn man für die endgültige Beurteilung von der Voraussetzung ausgeht, daß nur die für flüssige Nährböden ganz typisch in zopfartiger Anordnung liegenden Tuberkelbakterien als positiv angesehen werden können. Bei vergleichender Beurteilung mit dem Tierversuch stellt P o t h m a n n fest, daß

- 12 -

die kulturelle Untersuchung schneller zum Ergebnis führt als der Tierversuch und daß in einem Teil der Fälle die Kultur positiv war bei negativem Tierversuch. Abschließend wird betont, daß vorläufig der flüssige Nährboden noch keinen vollkommenen Ersatz für den Einährboden darstellt, da sich dieser zweifellos manchmal noch als überlegen erweist. Dagegen hat derselbe sich aber als Ergänzung zum festen Nährboden bei Einsparung mindestens der Hälfte der Einährböden durch seine zusätzliche beträchtliche Mehrausbeute bewährt.

M e y n (35) arbeitete mit einem von H e r r m a n n entwickelten Substrat 30, das in seiner Zusammensetzung von dem von P o t h m a n n angegebenen Substrat 20 von G o e b e l und H e r r m a n n nicht abweicht. Um jedoch auch glycerinempfindlichen bovinen Stämmen eine optimale Entwicklungsmöglichkeit zu bieten, empfiehlt er, auch Kulturen in dem gleichen Substrat ohne Glycerin, seinem Substrat 30 a, mitlaufen zu lassen. Beim Vergleich des flüssigen Nährbodens mit dem festen Petragani - Nährboden mit und ohne Glycerin stellt er die Überlegenheit der Tiefenkultur auch bei keimarmem Material fest. In der Tiefenkultur sei oft noch Vermehrung und Koloniebildung aus einem Material eingetreten, aus dem in der Oberflächenkultur keine Kolonien mehr gewachsen seien. Die Tiefenkultur könne daher erfolgreich zum Nachweis aller Tuberkelbakterientypen herangezogen werden. Sie sei einfach, preiswert und übertreffe die anderen Züchtungsverfahren vielfach an diagnostischer Leistungsfähigkeit. Eine Typendifferenzierung ließe sich mit Hilfe der Tiefenkultur nicht durchführen.

W a g e n e r und M i t s c h e r l i c h

- 13 -

(52) dagegen halten die Bildung eines Oberflächenhäutchens auf dem flüssigen Nährboden nach H e r r m a n n mit Glycerin für ein typentrennendes Merkmal. Sein in 64% der Kulturen beobachtetes Auftreten deutet auf den Typus humanus hin. Sein Ausbleiben sagt jedoch nicht, daß nicht doch Typus humanus vorliegt.

C o r p e r, C o h n und F r e y (6) prüften mehrere flüssige Nährböden und stellten fest, daß der Zusatz von "Tween 80", einem synthetischen Ester der Ölsäure (polyoxethylene derivative of sorbitan monooleate), Plasma oder Serum das Wachstum der Tuberkelbakterien nicht wesentlich fördert. In einfachen proteinfreien flüssigen Substraten ist das Wachstum ebensogut. Die diagnostische Auswertung der Kulturen ist infolge des makroskopisch schwer zu erkennenden Wachstums schwierig und selbst die mikroskopische Kontrolle gestattet oft wegen Verwechslungsmöglichkeiten mit säurefesten Saprophyten keine einwandfreie Diagnose. Abschließend raten die Verfasser weiterhin die gebräuchlichen festen Nährböden zur bakteriologisch - diagnostischen Untersuchung der Tuberkulose beizubehalten.

In jüngster Zeit berichtet K ü n z e l (25) über vergleichende Kulturversuche mit dem festen Nährboden nach P e t r a g n a n i und einem flüssigen Nährsubstrat nach S c u l a mit Menschenserumzusatz. Bereits nach 4 Wochen werden die Kulturen abgelesen, da sich eine längere Beobachtungszeit nicht als notwendig erwiesen hat. Von 93 positiven Materialien waren 78,5% auf den flüssigen Nährböden gewachsen und 56% auf den festen Kulturen; das bedeutet, daß der flüssige Nährboden ca 50% mehr positive Ergebnisse brachte als der feste.

- 14 -

Eine optimale Ausbeute ist nur durch die parallele Verwendung beider Medien zu erreichen. Als Nachteile des flüssigen Nährbodens nennt K ü n z e l seine Verunreinigungsneigung und den erhöhten Arbeitsaufwand. Zum Schutze gegen Verunreinigungen, vor allem gegen Luftsporen, wurden diese Kulturen grundsätzlich in einem besonderen gekachelten Raum, einem Impfraum, angelegt. Hier wurde täglich Triätylenglykol verdampft. Durch diese Maßnahmen konnte der Prozentsatz der Verunreinigungen in einem Bereich bis zu 10 % für die flüssigen Kulturen gehalten werden.

Über umfangreiche Vergleichsuntersuchungen über Tuberkulose, die sich auf Kultur und Tierversuch erstreckten, berichten A n s o n, H o l z w a r t, K u n t z n e r und F i s k (1) aus Californien. Als Material dienten: Sputum, Harn, Stuhlproben, Eitersekretmaterial, Liquor, Pleura - und Peritonealexudat. Es wurde ein Eigelb - Agar - Nährboden nach H a r r o l d verwendet und das Meerschweinchen als Versuchstier.

Die Untersuchungen wurden mit 2439 Proben im Laufe von 6 Jahren angestellt. Als Resultat ergab sich:

Tierversuch positiv	301 (57 %)
Kultur positiv	242 (70 %)
Tierversuch u. Kultur pos.	198 (57 %)
Tierversuch pos. Kultur neg.	103 (30 %)
Tierversuch neg. Kultur pos.	44 (13 %)

Es geht daraus hervor, daß weder der Tierversuch noch die Kultur einen absoluten Wert besitzen; beide Untersuchungen müssen immer parallel vorgenommen werden. Im allgemeinen waren positive Ergebnisse mit der Kultur schneller zu

- 15 -

erzielen als mit dem Tierversuch.

V a n n f ä l t (50) vertritt auf Grund seiner vergleichenden Untersuchungen zwischen Meerschweinchenimpfung und Züchtung auf Substraten nach H o h n oder L ö w e n s t e i n eine ähnliche Meinung. Er hebt hervor, daß die Züchtung nach der Methode von H o h n oder L ö w e n s t e i n ein einfaches und effektives Vorfahren zum Nachweis von Tuberkulose ist. Vorteilhafter sei es jedoch, neben der Züchtung auch die Meerschweinchenimpfung auszuführen.

Die neuerdings erschienenen Arbeiten über den syrischen Goldhamster als Tuberkuloseversuchstier seien im folgenden kurz angeführt.

R o l l e (42) setzt sich für die Verwendung des Goldhamsters als Tuberkuloseversuchstier ein. Er ist nach seinen Versuchsergebnissen mit dem Meerschweinchen vollständig gleichwertig; bezüglich zeitlicher Feststellung der Diagnose konnte er sogar eine Überlegenheit des Goldhamsters feststellen, da er bei gleich hoher Infektionsdosis 2 Wochen früher verendete als das Meerschweinchen. Dagegen ist die Tuberkelbildung beim Goldhamster nicht so ausgeprägt wie beim Meerschweinchen trotz rascher Verbreitung der Tuberkelbakterien im Körper. So sind schon 10 Tage nach der subkutanen Infektion in der Achselgegend Tuberkelbakterien in den makroskopisch noch unveränderten Organen und an der Infektionsstelle gefunden worden, nach 29 Tagen bereits regelmäßig. Eine Vergrößerung der Lymphknoten ist gewöhnlich nach 20 Tagen festzustellen.

Der Goldhamster ist sowohl für Tuberkelbakterien des Typus bovinus als auch für die des Typus humanus gleich empfänglich. Dagegen waren Hamster mit einer Kultur des Typus gallinaceus nicht zu infizieren.

- 16 -

K u n z e (26), der ebenfalls mit allen drei Typen von Tuberkelbakterien seine Versuche anstellte, kommt dagegen zu dem Schluß, daß der Goldhamster für die drei verschiedenen Typen empfänglich ist und zwar am stärksten für Tuberkelbakterien des Typus bovinus, etwas geringer für die des Typus humanus und am schwächsten für die des Typus gallinaceus. Zum Nachweis der tuberkulösen Natur der Veränderungen ist die mikroskopische Feststellung von Tuberkelbakterien in einem Sammelausstrich aus den Lymphknoten erforderlich, die wegen des Bakterienreichtums bei Infektionen mit dem Typus humanus und gallinaceus leicht, mit dem Typus bovinus wegen des mäßigen Bakteriengehaltes etwas schwieriger zu erbringen ist. Histologisch ist die Tuberkulose des Goldhamsters durch ihren produktiven Charakter gekennzeichnet und steht damit im Gegensatz zu der in der Regel exsudativ verlaufenden Tuberkulose des Meerschweinchens.

V i a t s c h k o (51) stellt in seinen Versuchen mit 310 Goldhamstern und 90 Meerschweinchen fest, daß sich der syrische Goldhamster als Versuchstier zum Nachweis der Tuberkulose mindestens ebensogut wie das Meerschweinchen eignet. Die Applikation des Impfmaterials hat intramusculär zu erfolgen, weil sich bei subcutaner Einverleibung tuberkulöse Hautnekrosen mit Schorfbildung an der Injektionsstelle bildeten. Der Nachteil der fehlenden Palpationsmöglichkeit der tuberkulös veränderten und vergrößerten Kniefaltelymphknoten beim Goldhamster intra vitam wird durch ein gleichmäßiges rasches und sicheres Angehen der Infektion ausgeglichen. Die maximale Sicherheit für die Erfassung positiver Impftuberkulose liegt nach V i a t s c h k o beim Hamster zwi-

- 17 -

schen dem 25. und 28. Tag gegenüber 42 und mehr Tagen beim Meerschweinchen. Eine Generalisation, die häufig und in hochgradiger Form beobachtet wurde, kann bereits nach 29 Tagen auftreten. Der Verlust durch interkorrekte Todesfälle betrug beim Hamster rund 6 %, dagegen beim Meerschweinchen rund 41 %. Zusammenfassend stellt V i a t s c h k o fest, daß der syrische Goldhamster das Meerschweinchen im Tuberkulose - Impfversuch ersetzen kann. Bezüglich der zeitlichen Feststellungsmöglichkeit scheint er es etwas zu übertreffen.

G l o v e r (9) fand bei Versuchen, bei denen die Minimaldosis virulenter humaner und boviner Tuberkelbakterien ermittelt werden sollte, daß der Goldhamster ebenso für Tuberkulose empfänglich ist wie das Meerschweinchen. Käsigte Herde treten selten auf, häufig sind dagegen Drüsenschwellungen, in denen die Stäbchen reichlich zu finden sind.

H a n d u r o y und R o s s e t (15) stellten fest, daß der Goldhamster gegen eine subcutan oder intraperitoneal verabreichte hohe Dosis von Tuberkelbakterien vom Stamm B C G empfänglich ist. Die so infizierten Tiere starben nach 3 Monaten bis zu einem Jahr an Tuberkulose. Die pathologisch - anatomisch - makroskopischen und mikroskopischen Untersuchungen der Organe zeigten disseminierte tuberkulöse Veränderungen in der Leber, Milz und Lunge. In allen Organen der gestorbenen Tiere konnten säurefeste Bakterien nachgewiesen werden.

Weiterhin berichten B o l l e und M e e r k a m p (3) über Versuche mit dem syrischen Goldhamster. Zuerst werden Angaben über Unterbringung, Fütterung und Kennzeichnung gemacht. Die Tiere mußten nach Geschlechtern getrennt

- 18. -

werden, weil das Weibchen in Zusammenhang mit der Brunst oder nach dem Deckakt das Männchen beißen und nicht selten töten kann. Um das gegenseitige Auffressen der Tiere zu verhüten, wurde wöchentlich einmal Abfallfleisch gefüttert. Die Versuche wurden mit 202 Goldhamstern durchgeführt. Da eine Palpation der veränderten Lymphknoten intra vitam nicht möglich ist, mußte ein optimaler Tötungstermin festgelegt werden. Da in situ erst eine 3 - 4 fache Vergrößerung der Lymphknoten sinnfällig ist, die nach den Angaben der Verfasser bei Tuberkulose vom 18. Tage ab auftritt, wird dieser Termin von ihnen als optimal angesehen. (Quantitative Angaben über die Injektionsdosis, die immerhin das zeitliche Angehen der Infektion etwas verschieben dürften, werden nicht gemacht. Da zwei infizierte Tiere, die schon am 13. Tage p.i. getötet worden sind, negativen Zerlegungsbe fund zeigten, dürfte es etwas gewagt sein, den 18. Tag p.i. bereits als optimalen Termin anzugeben).

In ihren Versuchen über die Wirksamkeit des Streptothricins als Antibiotikum bei Tuberkulose kommen S t e e n k e n und W a g l e y (46, 47) zu der Feststellung, daß die Resistenz des Hamsters gegen Einimpfung höherer Dosen virulenter Tuberkelbakterien auffallend ist. Eine Anzahl Meerschweinchen und Hamster wurden jeweils mit 30000 Tuberkelbakterien vom virulenten Stamm H 37 RV subcutan geimpft. Der Grad der tuberkulösen Veränderungen bei der nach 126 Tagen vorgenommenen Sektion war bei den Meerschweinchen nahezu dreimal so stark ausgeprägt als bei den Hamstern. Außerdem zeigte die bei den Hamstern 24 Tage p.i. vorgenommene Tuberkulinhautprobe mit 5 mg Alttuberkulin

- 19 -

keine Reaktion, während die bei den Meerschweinchen 44 Tage p.i. vorgenommene Tuberkulinprobe eine positive Reaktion in Form von Rötung, Oedem und Nekrose der Haut ergab.

Giroux (8) kommt in seinen Versuchen über experimentelle Tuberkulose bei Goldhamstern zu der Ansicht, daß der syrische Goldhamster für Versuche mit Tuberkelbakterien nicht den gleichen Wert wie das Meerschweinchen hat, doch vielleicht mit Erfolg zur Differenzierung des Typus humanus und bovinus verwendet werden könnte. Bei subcutaner Verabreichung von 0,1 mg Tuberkelbakterien vom Typ humanus beobachtete er erst nach 5 Monaten eine Generalisation. Auch bei Erhöhung der Infektionsdosis auf 0,5 mg humaner Tuberkelbakterien entwickelte sich die Tuberkulose sehr langsam. Dagegen zeigte sich bei 5 Hamstern, die mit 0,5 mg Tuberkelbakterien vom Typ bovinus infiziert waren, eine schnelle Entwicklung der Tuberkulose.

Nach Westphal (53) ist der Goldhamster zum Nachweis der Tuberkulose des bovinen Typus nicht in der Lage das Meerschweinchen zu ersetzen. Er empfiehlt diesen für den praktischen Untersuchungsbetrieb eines veterinären Untersuchungsamtes nicht, weil er nach seinen Versuchsergebnissen eine stärkere Resistenz gegen Tuberkelbakterien bovinen Typs entwickelt als gegen diejenigen humanen Ursprungs, gegenüber denen er ähnlich empfänglich wie das Meerschweinchen ist. Die am 28. Tage p.i. getöteten mit humanen Tuberkelbakterien infizierten Goldhamster zeigten generalisierte tuberkulöse Prozesse in Leber, Milz und Niere, während die mit Bakterien bovinen Typs infizierten Tiere in keinem Falle eine Generalisation entwickelt hatten. Mikroskopisch wurden in den Lymphknoten mittel-

- 20 -

gradig, in den Milzen vereinzelt Tuberkelbakterien festgestellt.

Endlich berichtet H u s s e l (23) über einen Vergleichsversuch zwischen Goldhamster und Meerschweinchen. Er kam zu dem Schluß, daß der Goldhamster nicht als ein dem Meerschweinchen gleichwertiges oder gar überlegenes Versuchstier für die Tuberkulose - Diagnostik bezeichnet werden kann.

III. Eigene Untersuchungen.A. Material und allgemeine Versuchstechnik.1.) Nährbodenmaterial

Neben dem bisher in der Anstalt verwendeten Petragmani - Nährboden ohne Glycerin kamen die festen Nährböden nach H o h n (Substrat 4) und nach W i t t e, sowie ein flüssiger Nährboden nach H e r r m a n n und G o e b e l (Substrat 20) in die vergleichende Prüfung.

Dieses flüssige Nährmedium stellt eine Modifikation des flüssigen Serumnährbodens nach K i r c h n e r (24) dar. (Seine Zusammensetzung ist ersichtlich im Zbl. f. Bakt. I. Orig. 154, 152 (1949)). Die wesentlichsten Vorzüge des modifizierten flüssigen Nährbodens sind nach G o e b e l das schnelle und sichere Wachstum von bovinen Stämmen. Da nach Feststellungen verschiedener Autoren der Typus bovinus beim Herauszüchten aus dem tuberkulösen Material auf glycerinfreien Nährböden bessere Wachstumsbedingungen findet, wurde ein Teil des "Substrat 4" sowie des "Substrat 20" ohne Glycerin hergestellt.

2.) Impfmateri al

Als Impfmateri al wurden zu den Versuchen tuberkulöse Organe des Goldhamsters und von Kühen stammende mikroskopisch positive Milch-, Lungenschleim- und Gebärmuttereschleimproben verschiedenen Alters und damit gradmäßig abgestufter Virulenz und Vitalität der enthaltenen Bakterien verwendet. Ältere bereits durch Säuerung des Materials geschädigte Tuberkelbakterien zeigen im Kultur- als auch im Tierversuch erheblich schwer an und sind deshalb geeignet derartigen Versuchen Feinheits-

- 22 -

charakter zu verleihen.

Zu den Hauptversuchen dienten die täglich einlaufenden Milch- sowie Lungen- und Gebärmutterschleimproben als Impfmateri- al, um die zu prüfenden Nährmedien auch unter den Verhältnissen der Laboratoriumspraxis bewerten zu können.

3.) Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials

Die für die Anzucht vorgesehene Milch wurde in einer Menge von 10 ccm in Zentrifugenspitzenröhrchen abgefüllt, 10 - 20 Minuten lang zentrifugiert und anschließend bis auf den Bodensatz abgegossen. Der Bodensatz wurde nach Versetzen mit 10 % iger Salzsäurelösung kräftig bis zur völligen Durchmischung geschüttelt. Nach weiterem 10 - 20 Minuten langem Zentrifugieren wurde die Salzsäure abgegossen und der Bodensatz ohne Auswaschung der restlichen Salzsäure angezchtet. Die Vorbehandlung der Lungen- und Gebärmutterschleimproben erfolgte in gleicher Weise, aber mit 10 Minuten langem Brutschrankaufenthalt nach dem Säurezusatz.

Für die Impfung der Meerschweinchen und Goldhamster wurden 10 ccm Milch in ein Zentrifugenspitzenröhrchen abgefüllt. Nach 20 Minuten langem Zentrifugieren wurde Rahm und Bodensatz zur Verimpfung verwendet. Die Lungen- und Gebärmutterschleimproben wurden zur Abschwächung der Begleitbakterien vor der Verimpfung mit Kaliumbichromat (1:500) H_2SO_4 versetzt und 20 Minuten in den Brutschrank gestellt. Bei der Verwendung von Organproben zu Kulturversuchen erfolgte zunächst eine Zerkleinerung im sterilen Mörser. Hierauf wurde das Ganze unter Zugabe von 10 % iger Salzsäure möglichst fein zerrieben, zentrifugiert und der Bodensatz angezchtet.

- 23 -

4.) Anlegen der Kulturen und Beobachtungszeit der Nährröhrchen und Versuchstiere

Die Anzucht der festen Nährböden erfolgte in üblicher Weise mit der Öse durch gutes Einmassieren des Materials unter gleichzeitiger Vermeidung von Verletzungen der Nährbodenoberfläche. Beim Anzichten der flüssigen Nährböden ist darauf zu achten, daß nicht zuviel Material eingeschwenkt wird, weil der dadurch entstehende Bodensatz später bei der Beobachtung auf makroskopisch sichtbares Tiefenwachstum zu Irrtümern führen könnte. Der Verschluss der Nährbodenröhrchen mit Watte- und Gummistopfen, der sich seit 1948 in der Anstalt bestens bewahrt hat, wurde beibehalten. Neuerdings kam G o t t s a c k e r in seinen Versuchen über die Bedeutung der Feuchtigkeit und ihrer Erhaltung für die Tuberkulose - Kultur auf einen ähnlichen Verschluss. (Gottsacker, E., Zbl. Bakt. I. Orig. 154, 347 (1949)). Das Wachstum der Kulturen wurde laufend jeden 3. bis 4. Tag kontrolliert. Die Versuchstiere wurden ab 10. Tag nach der Infektion jede Woche gemustert.

5.) Tuberkulinprobe beim Goldhamster

Die Brauchbarkeit eines Versuchstieres zum Tuberkulosenachweis ist umso größer je geringer seine Resistenz gegen künstliche und je höher sie gegen natürliche Infektion ist. Die Möglichkeit oder sogar Häufigkeit des Auftretens einer natürlichen Ansteckung (sog. Spontaninfektion) würde den diagnostischen Wert des betreffenden Versuchstieres bis zur Unbrauchbarkeit herabmindern. Aus diesen Erwägungen heraus und aus der Tatsache, daß auch nicht im Versuch stehende und mit geimpften Tieren nie in Kontakt gekommene Goldhamster in bisher sieben Fällen mit Tu-

- 24 -

berkulose behaftet befunden wurden, versuchte ich mit Hilfe der intrakutanen Tuberkulinprobe allenfalls spontan infizierte Tiere vorher zu ermitteln. Die bei unvorbehandelten Goldhamstern durchgeführte Injektion von 0,1 ccm 50 %igen Alttuberkulins oder Rindertuberkulins brachte kein eindeutiges Ergebnis. Trotz Verwendung feinsten kapillarer Injektionsnadeln und Ruhigstellung der Hamster durch Pernoktonnarkose (P f e i f e r (39)) traten häufig an der Injektionsstelle umschriebene Rötungen, Hautverdickungen und Verkrustungen auf, die leicht eine positive Tuberkulinreaktion vortäuschen können. Die probeweise bei einzelnen Tieren vorgenommene Sektion und Mikroskopie solcher Pseudoreagenten ergaben durchwegs negativen Befund. Auch bei tuberkulösen Hamstern zeitigte die Tuberkulinisierung kein eindeutig verwertbares Bild. Nach einem amerikanischen Bericht von S t e e n k e n und W a g l e y (47) ergab die bei 20 Goldhamstern 24 Tage nach der Injektion mit virulenten Tuberkelbakterien vorgenommene Tuberkulinhautprobe mit 0,1 ccm einer 5 %igen und 10 %igen Alttuberkulinlösung keine makroskopischen Veränderungen der Haut. Danach dürfte die Brauchbarkeit der Tuberkulin-Hautprobe beim Goldhamster in Frage gestellt sein.

B. Vorversuche

Zur Schaffung eingehender Übersichtsverhältnisse dienten die im folgenden aufgeführten Vorversuche. Nährmedien und Versuchstiere wurden dabei mit bekannt positivem Material geprüft und konnten so nach ihrer daraus sich ergebenden Eigenschaft wertmäßig für die unter praktischen Verhältnissen durchgeführten Hauptversuche eingestuft

- 25 -

werden. Bis zum Abschluß der Vorversuche wurden insgesamt 51 Meerschweinchen, 34 Hamster und 395 Nährröhrchen benötigt.

1.) Prüfung der Nährmedien

a) Kultivierung aus tuberkulösen Organen des Goldhamsters

Die verwendeten Nährböden erfuhren durch die kulturelle Verarbeitung tuberkulöser Organe des Goldhamsters eine Vorprüfung. Es wurden 3 Hamsterlungen und zweimal Lymphknoten verwendet. Die mikroskopischen Präparate der drei Lungen waren stark positiv, das eine Lymphknotenpräparat zeigte wenig Tuberkulosestäbchen, das andere sehr wenig. Von zwei Lungen wurden je zwei Röhrchen der Nährbodenart angezüchtet, von den übrigen Organen je ein Röhrchen.

In allen Röhrchen ergab sich spätestens nach 4 Wochen makroskopisch sichtbares Wachstum von Tuberkelbakterien, das ausnahmslos mikroskopisch bestätigt werden konnte.

Erscheinen makroskopisch sichtbaren Wachstums:

	frühestens nach Tagen	im Durchschnitt nach Tagen	maximal nach Tagen
Petragnani ohne Glycerin	13	16	37
Witte	13	17	35
Hohn ohne Glyc.	12	16	34
Hohn mit Glyc.	13	17	38
Goebel ohne Glyc.	10	12	24
Goebel mit Glyc.	10	13	24

Danach könnte man annehmen, daß
1. eine offensichtliche Überlegenheit des flüssigen Nährbodens gegenüber dem festen hinsicht-

- 26 -

lich vorzeitigen makroskopisch sichtbaren Wachstums besteht,
 2. sich die Petragani - Kultur ohne Glycerinzusatz von den festen Nährböden am besten eignet. (Der Nährboden nach H o h n scheidet wegen zu schwacher Hemmungswirkung auf die Verunreinigungскеime, wie an anderer Stelle gezeigt wird, aus),
 3. eine wesentliche Beeinflussung des Wachstums durch Glycerinzusatz nicht zu erreichen ist (glycerinophile und glycerinophobe Stämme innerhalb des bovinen Typs).

Quantitativ am ergiebigsten gedeihen die Kolonien auf dem Nährboden nach W i t t e. Sie waren von weißgelber Färbung, stark abgesetzt von der Oberfläche und bildeten später einen reliefartigen Rasen. Ähnlich waren die Verhältnisse in den Petragani - Röhrrchen. Der Nährboden nach H o h n zeigte infolge seines wesentlich geringeren Gehaltes an Malachitgrün eine gelbgrüne Färbung, sodaß das Anfangswachstum, sehr kleine gelbe punktförmige Kolonien, oft schwer zu erkennen ist. In der Beurteilung des Wachstums der flüssigen Nährböden mußte sehr vorsichtig vorgegangen werden, weil hier noch keine Erfahrung vorlag. Eine ständige Beobachtung auf Farbveränderungen des hellgrünen durchsichtigen Nährsubstrates, wiederholte mikroskopische Überprüfung einzelner Röhrrchen sowie öfteres Aufwirbeln des Bodensatzes durch rotierendes Schütteln der Röhrrchen führten zur Auffassung, daß griesige, stecknadelkopfgroße, weißgraue Körnchen am Grund der Röhrrchen makroskopisches Wachstum anzeigen. Durch Schütteln sind die aufwirbelnden Bakterienklumpchen im durchfallenden Licht deutlich zu erkennen. Im späteren Wachstumsstadium tritt

- 27 -

vornehmlich in dem glycerinhaltigen Substrat eine fortschreitende Verklumpung der Körnchen ein, sodaß es oft zur Bildung größerer Bakterienhaufen kommt. Die beobachtete allmähliche Entfärbung des Nährbodens kann nach meinen Erfahrungen für die Beurteilung des Wachstums nicht herangezogen werden, weil Verunreinigungen keine ebenfalls eine Entfärbung verursachen. Auch zeigten manchmal Röhren mit charakteristischem körnigen Bodensatz wenig Entfärbung. Bei der mikroskopischen Kontrolle wurden einzelne Stäbchen nicht als Wachstumsnachweis gewertet, da sie ebenso gut vom Ausgangsmaterial stammen können. Das mikroskopische Bild des Bodensatzes der flüssigen Kultur ist charakterisiert durch das Auftreten gewaltiger Bakterienhaufen und oft zopfartig verflochtener breiter Bakterienketten. Bei der vorzeitigen mikroskopischen Überprüfung einzelner Nährröhren wurde eine besondere Technik geübt, um das weitere Wachstum nicht erheblich zu beeinträchtigen: Es wurde unter sterilen Kautelen mit einer durch Fingerdruck verschlossenen sterilen 0,4 ccm Pipette in das flüssige Nährröhrchen eingegangen, ein Teil des Bodensatzes durch Abheben des Fingers angesaugt und auf den Objektträger gebracht. Sicherer, aber unter Verzicht auf weitere Färbung und Beobachtung, gelangt man durch Zentrifugieren der Röhren zum Ziel.

Beim Durchmustern der Präparate bedeutet die Verwendung zuerst einer schwachen Vergrößerung eine wesentliche Erleichterung zum Auffinden der Tuberkelbakterien. Auf blauem Grunde fallen verschieden große rote Inseln sichtlich ins Auge (Sicht - Nelson - Färbung). Bei Ölimmersion offenbaren sich diese roten Inseln als ein zopfartig verflochtener Haufen von Tuberkelbakterien.

- 28 -

b) Kultur aus mikroskopisch positiven Lungen - und Gebärmuttereischleimproben

Das in veterinären Untersuchungsanstalten kulturell zu verarbeitende Material ist in der Regel stark verunreinigt und stellt deshalb besonders hohe Anforderungen an die Hemmungswirkung des Nährbodens auf das Begleitbakterienwachstum. Deshalb erschien es angebracht, die Nährböden auch nach dieser Richtung hin auf ihre Eignung zu prüfen. Zu dem Zweck wurden vier positive Lungen- und zwei positive Gebärmuttereischleimproben, die nur einer ungenügenden Säurevorbehandlung unterworfen waren, auf die zu prüfenden Nährböden verimpft. Insgesamt wurden 72 Nährröhrchen angezchtet, pro Material und Nährbodenart je 12 Röhrchen. Die Ergebnisse waren folgende:

Eine Verunreinigung durch Begleitbakterienwachstum zeigte sich beim Nährboden

nach Petragiani ohne Glycerin	in 66 % der Röhrchen
" Witte	" 50 % " "
" Hohn ohne Glycerin	" 100 % " "
" Hohn mit Glycerin	" 100 % " "
" Goebel ohne Glycerin	" 25 % " "
" Goebel mit Glycerin	" 41 % " "

Danach ist der Nährboden nach H o h n mit und ohne Glycerin am empfindlichsten gegen Verunreinigungskeime und scheidet deshalb für die Verwendung in veterinären Untersuchungsanstalten aus. Dieser Nachteil des Nährbodens dürfte eine Folge seines geringen Malachitgrüngehaltes (0,015%) sein. Die günstigsten Ergebnisse hinsichtlich Verunreinigung und Wachstumsbilanz zeigte der flüssige Nährboden nach G o e b e l. Die Verun-

- 29 -

reinigung in den flüssigen Nährröhrchen äußert sich in starker Bodensatzbildung, später in diffuser Trübung der Flüssigkeit mit Entfärbung und manchmal auch durch Häutchenbildung auf der Oberfläche. Nur in wenigen Fällen ergibt die mikroskopische Kontrolle des verunreinigten Nährbodens trotzdem noch ein positives Tuberkulose - Wachstumsergebnis.

c) Kulturversuche mit positiven Lungenschleimproben

Durch diese mit 12 schwach positiven Lungenschleimproben angelegte Versuchsreihe konnte ein weiteres aufschlußreiches Vergleichsergebnis hinsichtlich der Eignung der einzelnen Nährböden erzielt werden. Da es sich hierbei um den Verbrauch des Restbestandes einer Nährbodenherstellungsserie handelte, litt die Einheitlichkeit des Versuchs insofern, als nicht für jedes Ausgangsmaterial genügend Nährröhrchen jeder Art vorhanden waren. Ein makroskopisch sichtbares Wachstums- sowie mikroskopisches Kontrollergebnis wurde erzielt beim Nährboden nach

Petragnani ohne Glycerin	in 58 %	der Röhrchen
Witte	" 25 %	" "
Hohn ohne Glycerin	" 56 %	" "
Goebel ohne Glycerin	" 67 %	" "
Goebel mit Glycerin	" 63 %	" "

In zwei Fällen brachte nur der flüssige Nährboden nach Goebel ohne Glycerin ein positives Wachstumsergebnis. Das würde also bedeuten, daß von 12 Proben zwei positive Diagnosen ohne Mitverwendung des flüssigen Nährsubstrats nicht gestellt worden wären.

- 30 -

2.) Vergleiche zwischen Kultur- und Tierversuchen

a) Mit sicher positiven Milch- Lungenschleim- und Gebärmutterschleimproben als Ausgangsmaterial

Es wurden vier Milchproben, vier Lungen- und zwei Gebärmutterschleimproben auf je zwei Röhren der sechs zu erprobenden Nährbodenarten verimpft. Mit dem gleichen Material wurden je zwei Meerschweinchen und zwei Goldhamster geimpft. Insgesamt waren zur Durchführung des Versuches 120 Nährröhrchen, 20 Meerschweinchen und 22 Goldhamster (zwei Hamster zur Nachimpfung) notwendig. Zum besseren Verständnis sei kurz das Ausgangsmaterial erläutert:

- Milch I: Gemisch mehrerer drei Monate alter mikroskopisch sehr schwach positiver Milchproben.
- Milch II: Gemisch mehrerer zwei Monate alter mikroskopisch schwach positiver Milchproben.
- Milch III: Gemisch mehrerer frischer mikroskopisch positiver Milchproben.
- Milchkontrolle: Gemisch mehrerer frischer und älterer mikroskopisch stark positiver Milchproben.
- Lungenschleim a: Gemisch mehrerer drei Monate alter mikroskopisch sehr schwacher Lungenschleimproben.
- Lungenschleim b: Gemisch mehrerer zwei Monate alter mikroskopisch schwach positiver Lungenschleimproben.
- Lungenschleim c: Gemisch mehrerer frischer mikrosko-

- 31 -

pisch positiver Lungenschleimproben.

Lungen=
schleim=

kontrolle: Gemisch mehrerer frischer und älterer mikroskopisch stark positiver Lungenschleimproben.

Gebärmutter=

terschleim: Gemisch mehrerer bis drei Monate alter mikroskopisch positiver Gebärmuttererschleimproben.

Gebärmutter=

terschleimkontrolle : Gemisch mehrerer frischer und älterer mikroskopisch stark positiver Gebärmuttererschleimproben.

Die Beobachtung der Kulturen wurde über acht Wochen ausgedehnt. Die Tötung der Versuchstiere erfolgte fünf Wochen p.i., nachdem sämtliche Meerschweinchen dem Palpationsergebnis der regionalen Lymphknoten nach zu schließen ein positives Ergebnis erwarten ließen. Die kulturellen Ergebnisse sind folgender Aufstellung zu entnehmen:

Erscheinen makroskopisch sichtbaren Wachstums:

	frühestens nach Tagen:	im Durchschnitt nach Tagen:
Petragnani ohne Glycerin	16	24
Witte	21	31
Hohn ohne Glycerin	15	28
Hohn mit Glycerin	24	31
Goebel ohne Glycerin	11	25
Goebel mit Glycerin	12	23

- 32 -

Von 20 Nährröhrchen waren	positiv	verunreinigt
Petragnani ohne Glycerin	18 = 90 %	0 = 0 %
Witte	16 = 80 %	2 = 5 %
Hohn ohne Glycerin	18 = 90 %	5 = 25 %
Hohn mit Glycerin	18 = 90 %	4 = 20 %
Goebel ohne Glycerin	16 = 80 %	0 = 0 %
Goebel mit Glycerin	14 = 70 %	0 = 0 %

Die kulturelle Bilanz dieser Versuchsreihe zeigt unter Berücksichtigung aller positiven und negativen Faktoren die optimale Eignung der Petragmani - Kultur unter den festen Nährböden. Die flüssige Kultur reicht an diagnostischer Sicherheit nicht ganz an die Petragmani - Kultur heran, verdient aber unter Berücksichtigung des zeitlichen Faktors und der Verunreinigungsbilanz wohl Beachtung. Bezeichnend ist auch die aus obiger Aufstellung nicht ersichtliche Tatsache, daß im Falle der mikroskopisch sehr schwach positiven Milch I sämtliche Nährböden mit Ausnahme des flüssigen (ohne Glycerin) versagten. Von 10 kulturellen Diagnosen wäre also eine ohne Verwendung des flüssigen Nährsubstrats nicht gestellt worden. Der Nährboden nach Witte zeigt sich dem nach Petragmani unterlegen. Wie bereits erwähnt, scheidet der H o h n' sche Nährboden wegen zu starker Verunreinigungseigung aus.

Im Vergleich hierzu seien die Ergebnisse des Tierversuchs dargetan: Von den 20 infizierten Meerschweinchen erkrankten alle an Tuberkulose. Bei 17 von ihnen wurde bereits am Ende der dritten Woche p.i. durch Palpation eine Vergrößerung der regionalen Kniefaltenlymphknoten beobachtet. Von den 20 Goldhamstern wurden nur 18 als Tuberkulose - positiv ermittelt. Zwei Hamster, von denen der eine mit Milch I und der andere mit Lungenschleim a infiziert waren, zeigten weder

makroskopisch tuberkulöse Veränderungen noch fiel die mikroskopische Kontrolle, die sicherheitshalber durch Zerreiben und Zentrifugieren sämtlicher Körperlymphknoten durchgeführt wurde, positiv aus. Das mikroskopisch sehr schwache und durch die lange Aufbewahrung in seiner Virulenz geschwächte Ausgangsmaterial war demnach in den beiden Fällen nicht in der Lage, die Resistenz des Hamsters zu durchbrechen. In Übereinstimmung mit ausländischen Berichten (46, 47, 8) konnte die höhere Resistenz des Goldhamsters gegenüber dem Meerschweinchen auf künstliche Tuberkulose - Infektion auch an Hand der Tatsache festgestellt werden, daß die Ausbreitung der tuberkulösen Prozesse in Milz, Leber, Lunge, Niere und Darm beim Goldhamster viel langsamer und weniger ausgeprägt von staten geht als beim Meerschweinchen. Dabei sei offen gelassen, ob ein frühes lokalisiertes Auftreten tuberkulöser Veränderungen im regionären Lymphknoten nicht doch zumindest eine frühzeitige mikroskopische Diagnose ermöglicht. Bedauerlicherweise aber ist die Palpation der Kniealtenlymphknoten, die beim Meerschweinchen verhältnismäßig sichere und oft frühzeitige Hinweise für das Angehen der Infektion bietet, beim Hamster nicht möglich. Zur Gewährleistung eines vollständigen und sicheren diagnostischen Ergebnisses hat sich demnach der Zeitpunkt der Tötung der infizierten Goldhamster theoretisch nach dem Tier zu richten, das entweder auf Grund seiner individuellen Resistenz oder auf Grund des geringen Tuberkulobakteriengehaltes des Ausgangsmaterials zuletzt auf die Infektion anspricht. Im Durchschnitt der Fälle gesehen dürfte damit der Hamsterversuch gegenüber dem Meerschweinchenversuch auch hin-

- 34 -

sichtlich zeitlicher Dauer der Diagnosestellung
nicht wesentlich günstiger abschneiden.

Auch die Tatsache, daß Goldhamster auf die Infektion hin interkurrent eingehen, ist vergleichend zu berücksichtigen. Von den 20 Hamstern starben 4, von den 20 Meerschweinchen keines interkurrent.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, daß der Meerschweinchenversuch nach wie vor das empfindlichste Kriterium für das Vorhandensein kleiner Mengen von Tuberkelbakterien darstellt. Über den evtl. Ersatz des Meerschweinchens durch den Goldhamster kann an Hand dieses kleinen Versuchs kein endgültiges Urteil gefällt werden. Der Kulturversuch führt in vielen Fällen schneller zum Ziel als der Tierversuch, reicht aber in seiner Sicherheit nicht ganz an den Tierversuch heran. Wenn auch im vorliegenden Versuch durch die große Anzahl der pro Material angezüchteten Nährböden in jedem Fall der positive Charakter des Ausgangsmaterials ermittelt wurde, so ist doch zu bedenken, daß man sich in der Praxis in der Regel auf eine Nährbodenart beschränken muß, und daß damit die prozentuale Ausbeute an positiven Diagnosen gegenüber der im Tierversuch ermittelten zurücksteht. Es ist Aufgabe weiterer Versuche, diese Verhältnisse noch näher zu beleuchten.

b) Mit mikroskopisch teils positiven und teils negativen Milchproben

Zur Erweiterung und Erhärtung der vorgenannten Ergebnisse wurde ein weiterer ähnlich angelegter Vergleichsversuch angeschlossen. Das Ausgangsmaterial bestand aus sechs Milchproben:

Milch I: Mikroskopisch positiv
Milch II: " "

- 35 -

Milch III: mikroskopisch positiv
 Milch IV: mikroskopisch negativ, Kultur und Meerschweinchen positiv
 Milch V: mikroskopisch negativ, Kultur negativ, Meerschweinchen positiv
 Milch VI: mikroskopisch stark positiv

Es wurden 18 Nährböden pro Material angezchtet; von den festen zwei und von den flüssigen vier Röhren jeder Art. Zu den bisher genannten Nährböden kam noch der Petraghani - Nährboden mit Glycerin hinzu. Die Menge des zugesetzten Glycerins wurde aber nur auf die Hälfte der vorgeschriebenen Menge beschränkt in der Annahme, daß dadurch sowohl für die glycerinophilen wie auch für die glycerinophoben Stämme bestmögliche Wachstumsbedingungen gesichert seien. Insgesamt wurden 108 Nährböden, 11 Meerschweinchen (1 zur Nachimpfung) und 12 Goldhamster (2 zur Nachimpfung) zur Durchführung des Versuchs benötigt. Mit Milch I, II, IV und V wurden je zwei Meerschweinchen und zwei Goldhamster geimpft, mit Milch III und VI nur je ein Meerschweinchen und ein Goldhamster.

Ergebnisse dieser Versuchsreihe:

Der positive Charakter der Milchproben wurde mit Ausnahme der Milch IV sowohl durch die Kultur als auch durch den Tierversuch bestätigt. Milch IV war im Kultur- als auch Tierversuch negativ.

Von den 10 Meerschweinchen sowie von den 10 Hamstern erkrankten je 7 an Tuberkulose. Ein Meerschweinchen und zwei Hamster gingen interkurrent ein.

Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbakterien in der Milch V gelang nur mit dem flüssigen

- 36 -

gen Nährboden (ohne Glycerin) und zwar innerhalb 25 Tagen, sämtliche anderen Nährböden waren unbewachsen. Die mit Milch V infizierten Meerschweinchen und Hamster zeigten positiven Befund.

Die mit Milch I beschickten Nährböden und Versuchstiere brachten ausnahmslos positive Ergebnisse. Die Kniefaltelymphknoten der Meerschweinchen waren am 25. Tage p.i. deutlich vergrößert. Bereits innerhalb von 18 Tagen zeitigten die flüssigen Nährböden und der Petragnanin-Nährboden ohne Glycerin makroskopisch sichtbares Wachstum. Die Nährböden der Milch II ließen ein nur sehr spärliches und spät auftretendes Wachstum erkennen. Das früheste positive Ergebnis brachte der flüssige Nährboden ohne Glycerin innerhalb 25 Tagen. Einer von den zwei mit Milch II infizierten Goldhamstern erwies sich als tuberkulosenegativ.

Der kulturelle Nachweis von Tuberkelbakterien in der Milch III gelang nur mit dem Nährboden nach H o h n (mit Glycerin). Sämtliche anderen Nährböden waren unbewachsen. Das dazugehörige Meerschweinchen zeigte negativen, der dazugehörige Hamster positiven Befund.

Milch VI zeitigte nur auf den glycerinfreien Nährböden makroskopisch sichtbares Wachstum (glycerinophobe Stämme). Meerschweinchen und Hamster waren positiv.

- 37 -

C. Hauptversuche

Auf Grund der Ergebnisse der Vorversuche erschienen für eine weitere vergleichende Beurteilung nur noch die Nährböden nach P e t r a g n a n i und G o e b e l jeweils mit und ohne Glycerin von Interesse. Der Tierversuch erstreckte sich wie in den Vorversuchen zum Teil auch auf Meerschweinchen und Goldhamster. Die Auswahl des Untersuchungsmaterials konnte nicht beliebig den täglichen Einläufen der Anstalt entnommen werden, da ja erfahrungsgemäß der Großteil davon ein negatives Untersuchungsergebnis liefert und damit für die vergleichende Leistungsbewertung der Nährböden und Versuchstiere nutzlos gewesen wäre.

An Milchproben wurden nur eingesandte Verdachtsproben genommen und davon wieder nur solche, die zwar mikroskopisch negativ waren, die aber dem mikroskopischen Zellbild nach zu urteilen mit einiger Wahrscheinlichkeit ein positives Ergebnis erwarten ließen.

1.) Vergleichende Kultur- und Tierversuche unter Verwendung von Meerschweinchen und Goldhamster als Versuchstiere und der Nährböden nach P e t r a g n a n i und G o e b e l jeweils mit und ohne Glycerin

Von den insgesamt 85 in dieser Hinsicht für diesen Versuch ausgewählten Milch-, Lungen- schleim- und Gebärmuttereschleimproben erwiesen sich trotzdem nur 28 = 33% als positiv und damit für den Versuch zweckdienlich. Die Meerschweinchen sowohl wie die Goldhamster wurden nach acht Wochen getötet. Ein früherer Tötungstermin für die Goldhamster wäre nach V i =

- 38 -

a t s c h k o wohl begründet gewesen, hätte aber nach inzwischen gemachten Erfahrungen einer objektiven Vergleichsbeurteilung Anlaß zu Einwänden gegeben. Der Faktor Zeit wurde im Hauptversuch zugunsten der Sicherheit der Diagnose mehr in den Hintergrund gestellt. Die Nährböden wurden, wie es in der Anstalt üblich ist, nach sechs- bis achtwöchiger Bebrütung und Beobachtung einer makroskopischen Kontrolle unterzogen. Bei frühzeitigem Ablesen wurde bei Nachkontrollen immer wieder auch noch späteres Angehen festgestellt. In der Herstellung und Untersuchung des flüssigen Nährbodens konnte der Arbeitsgang für diesen und die folgenden Versuche insofern vereinfacht werden, als das Nährsubstrat nicht mehr in Reagenzröhrchen, sondern von vorneherein in ungraduierte Zentrifugenspitzenröhrchen abgefüllt wurde. Diese Arbeitsweise ersparte das Umfüllen der flüssigen Kulturen am Ende der Beobachtungszeit zum Zwecke des Zentrifugierens bei zweifelhaften Kulturen. Die Technik der Vorbehandlung des Untersuchungsmaterials und des Verschlusses der Nährröhrchen wurde wie bereits beschrieben gehandhabt. Die Ergebnisse des Versuchs leiten sich aus folgender Zusammenstellung ab:

28 Fälle positiv	=100 %	
Meerschweinchen positiv	82%	(23 Fälle)
Hamster positiv	75%	(21 ")
Petragnani ohne Glyc. positiv	82%	(23 ")
Petragnani mit Glyc. positiv	36%	(10 ")
Goebel ohne Glyc. positiv	61%	(17 ")
Goebel mit Glyc. positiv	32%	(9 ")
Nur Meerschweinchen positiv	3,6%	(1 Fall)
" Hamster positiv	3,6%	(1 ")
" Petragnani ohne Glyc. positiv	3,6%	(1 ")
" Petragnani mit Glyc. positiv	0,0%	

- 39 -

Nur Geobel ohne Glycerin positiv	3,6% (1 Fall)
" Geobel mit Glycerin positiv	0,0%
" Tierversuch (Hamster bzw. Meerschweinchen positiv	7,2% (2 Fälle)
" Kultur positiv	14,4% (4 Fälle)

Als resultierende Beurteilung dieses Vergleichsversuches ergibt sich:

1. Eine leichte Überlegenheit des Meerschweinchens gegenüber dem Hamster.
2. Eine Überlegenheit der Petragani - Kultur gegenüber dem flüssigen Nährboden.
3. Eine Überlegenheit der glycerinfreien gegenüber den glycerinhaltigen Nährböden.
4. Ein optimales diagnostisches Ergebnis läßt sich nur durch gleichzeitige Durchführung des Kultur- und Tierversuches erreichen.
5. Die Weglassung des Tierversuches (Hamster bzw. Meerschweinchen) würde im vorliegenden Versuch ein Fehlergebnis von 7,2% bedeuten.

Es ließe sich darüber streiten, ob eine Mehrausbeute an positiven Diagnosen um 7,2% die Kostspieligkeit des doppelten Tierversuches rechtfertigen würde:

Auffällig ist hier gegenüber den Ergebnissen der Vorversuchsreihen die plötzliche starke Überlegenheit der glycerinfreien Nährböden, der festen sowohl der flüssigen. Diese Erscheinung kann nur so gedeutet werden, daß es sich bei den in den 28 positiven Proben gefundenen Bakterien um vorwiegend glycerinophobe Stämme gehandelt hat.

Die Überlegenheit oder zumindest Gleichwertigkeit des Meerschweinchens gegenüber dem

- 40 -

Hamster als Tuberkuloseversuchstier wurde bereits in den Vorversuchen festgestellt und konnte durch das vorliegende Ergebnis erhärtet werden.

Die alleinige Verwendung des Kulturversuches unter Weglassung des Tierversuches hätte im vorliegenden Fall eine verhältnismäßig hoch erscheinende Sicherheit in der Diagnose ergeben. Die Mitverwendung des Tierversuches ist aber bei der bisweilen schwierigen Unterscheidung säurefester saprophytischer Keime von den Tuberkelbakterien nicht völlig zu entbehren. Diese Schwierigkeiten der Unterscheidung beginnen schon beim grobsinnlichen Ablesen der Kulturen besonders im flüssigen Nährmedium und sind noch erheblicher bei ihrer mikroskopischen Kontrolle. Die morphologische Differenzierung säurefester Stäbchen ist nach den bis zum Abschluß der Versuche an einem umfangreichen und vielfältigen Material erprobten Erfahrungen in manchen Fällen ohne Zuhilfenahme der klinischen Gegebenheiten oder des parallelen Tierversuches nicht möglich. Die unter künstlichen Bedingungen, wie sie nun einmal jeder Nährboden darstellt, gewachsenen Tuberkelbakterien sind morphologisch nicht einheitlich geartet und nicht in eine schulmäßige Norm zu bringen. Diese morphologische Variabilität ist offenbar nicht nur typenbedingt, sondern mag auch durch Altersunterschiede der Bakterien, Nährbodgegebenheiten, Temperatur- und Umwelteinflüsse bei der Bebrütung der Kulturen entstehen. Aus diesen Erwägungen heraus und aus der Tatsache, daß beim Tier mit dem Futter und Kot stets säurefeste Bakterienarten in die Proben gelangen, die den erwähnten morphologischen Varianten der Tuberkelbakterien in gewissen

- 41 -

Entwicklungsstadien bis zur Unmöglichkeit einer Unterscheidung ähneln, erhellt, wie schwer es für den verantwortlichen Veterinärbakteriologen im Laboratorium ist, eine für die Praxis brauchbare eindeutig positive oder negative Entscheidung allein auf Grund der Kulturen zu treffen. Diese erschwerenden Tatsachen entfallen bei der Humanbakteriologie. Der im Zweifelsfall anzuschließende Tierversuch bedeutet aber einen wesentlichen zeitlichen und finanziellen Verlust. Freilich schließt auch der Tierversuch nicht die Möglichkeit einer Fehldiagnose aus, wenn er auch die sicherste Nachweismethode der Tuberkulose darstellt. Die Virulenz und das Wachstumsvermögen von Tuberkelbakterien auf Nährböden dürften nicht unbedingt zwei gekoppelte Faktoren sein, sodaß es ohne weiteres denkbar ist, daß einmal in ihrer Virulenz stark geschwächte und damit für den Tierversuch unbrauchbare Bakterien wohl noch ein positives Kulturergebnis liefern können.

2. Vergleichende Kultur- und Tierversuche mit dem Meerschweinchen als Versuchstier und den Nährböden nach Petragani ohne Glycerin und Gobeil mit Glycerin

Die im vorhergehenden Versuch erzielten Ergebnisse gestatteten nun eine weitere Einengung des Tierversuchs- und Nährbodenmaterials. Da der Goldhamster das Meerschweinchen als Tuberkuloseversuchstier nicht zu übertreffen, ja nicht einmal vollwertig zu ersetzen erscheint, schied ersterer für die weiteren Untersuchungen aus.

Bei der Auswahl der Nährböden wurde von dem

- 42 -

Gedanken ausgegangen, daß wohl die Mehrzahl der bovinen Tuberkulobakterien das glycerinfreie Nährmedium bevorzugt, daß aber doch das Glycerinbedürfnis mancher Stämme berücksichtigt werden muß. Aus diesem Grunde fiel die Auswahl auf die Nährböden nach P e t r a g n a n i ohne Glycerin und nach G o e b e l mit Glycerin. Die damit von vorneherein wegen seiner Glycerinhaltheit verbundene Benachteiligung des flüssigen Nährbodens bei vergleichender Gütebeurteilung wurde in Kauf genommen. Sämtliche Nährröhrchen wurden nach Ablauf des 6 - 8wöchigen Brutschrankaufenthaltes zuerst grobsinnlich oder im Bedarfsfall mit der Lupe auf evtl. Wachstum geprüft. Bei den makroskopisch verdächtig befundenen Nährböden erfolgte erst nach sorgfältiger mikroskopischer Kontrolle die Schlußbeurteilung. Diese Arbeitsweise bei der Auswertung der Kulturen war ganz den praktischen Verhältnissen angeglichen, da es bei der großen Zahl der täglich an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleißheim zu untersuchenden Proben ganz unmöglich und nach Ansicht verschiedener Autoren bei genügender Übung auch gar nicht nötig ist, sämtliche Kulturen mikroskopisch zu prüfen. Die dadurch in Kauf genommene Fehlerquelle bei den flüssigen Kulturen wird in einem späteren Versuch erläutert.

Es sei noch zu bemerken, daß wohl die meisten Beurteilungen eines neuen Nährbodens mit Tuberkulosestämmen erfolgten, die sich bereits längere Zeit in den Labors befanden, sich an ihre Nährböden gewöhnt hatten, und in ihrem Verhalten bekannt waren. Um aber einen Nährboden für praktische Verhältnisse beurteilen zu können, muß man denselben in Reihenversuchen mit unbekanntem Material aus eingesandten Proben zur Diagnose-stellung überprüfen neben einem in seiner Ergie-

- 43 -

bigkeit bekannten Nährboden, wie es in meinen Versuchen geschieht.

Die 108 positiven Fälle, die auf diese Weise aus 211 Proben ermittelt werden konnten, setzen sich aus 94 Milchproben, 6 Lungenschleimproben und 8 Uterusproben zusammen. Je Material wurden ein Meerschweinchen, ein fester und ein flüssiger Nährboden verwendet.

Das Ergebnis der Versuchsreihe soll die folgende Aufstellung wiedergeben:

Meerschweinchen positiv	62%	(73 Fälle)
Petragnani ohne Glycerin posit.	58,3%	(63 ")
Goebel mit Glycerin positiv	39,8%	(43 ")
Nur Meerschweinchen positiv	28,7%	(31 ")
" Petragn. ohne Glyc. positiv	13,9%	(15 ")
" Goebel mit Glycerin positiv	7,3%	(8 ")
Kultur positiv (Petragnani und Goebel) bei neg. Tierversuch	11%	(12 ")

Eine Übereinstimmung des Tier- und doppelten Kulturversuches war nur in 17 von den 108 positiven Proben = 15,7% gegeben, während das Meerschweinchen und die Petragnani - Kultur für sich betrachtet in 36 Fällen = 33,3% eine übereinstimmende positive Diagnose erbrachten. Die Nährböden zeigten in 29 Fällen = 26,8% ein übereinstimmendes positives Ergebnis. Diese Zahlen offenbaren deutlich die Fehler und Unzulänglichkeiten, die bei Anwendung nur eines Untersuchungsverfahrens auftreten würden. Die Weglassung des Meerschweinchenversuches würde ein Fehlergebnis von 28,7% bedeuten. Wenn auch dieser Prozentsatz nach den sonstigen Erfahrungen ausnahmsweise hoch ist, so ist doch damit klar erwiesen, daß das Kulturverfahren

- 44 -

den Tierversuch noch nicht vollwertig zu ersetzen vermag, wie manche Autoren annehmen.

Die Technik des Kulturverfahrens ist nicht einfach und erfordert gewissenhafte und peinlich sterile Arbeit, die nur gut geschultem Personal überantwortet werden darf. Bereits bei der Herstellung der Nährböden, ihrer Koagulierung und Sterilisierung können Fehler unterlaufen, die den folgenden Arbeitsgang illusorisch machen. Allein schon die Probeentnahme im Stall ist ausschlaggebend, nicht nur die Bearbeitung des Materials im Laboratorium wie z.B. das Zentrifugieren, die Säurevorbehandlung und die Anzucht der Nährböden.

Bei dem folgenden Versuch wurde nur noch das Kulturverfahren allein angewandt.

3. Kulturversuche mit den Nährböden nach Petragagnani ohne Glycerin und Goebel mit Glycerin

Auf Grund der vorgenannten Ergebnisse war es von vorneherein klar, daß die alleinige Anwendung des Kulturversuches kein optimales Ergebnis liefern würde. Dieser Schritt mußte aber unternommen werden, weil er auch im praktischen Massenuntersuchungsbetrieb eines veterinären Instituts unumgänglich ist und zwar der zu hohen Kosten des Tierversuches halber und nicht selten auch wegen absoluten Mangels an Versuchstieren.

Als Untersuchungsmaterial wurden die im Verlauf von 4 Monaten an die Bayerische Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung eingesandten und kulturell zu prüfenden Milch- Lungenschleim- und Gebärmuttereschleimproben verwendet. Der Arbeitsgang des Kulturverfahrens wurde bis auf kleine Abän-

- 45 -

derungen wie bereits geschildert beibehalten. Die Anfertigung der mikroskopischen Präparate aus dem flüssigen Nährsubstrat wurde in der Weise vorgenommen, daß die grobsinnlich als verdächtig erkannten Nährböden 10 Minuten lang zentrifugiert und dann der Bodensatz mit einer Öse auf den Objektträger ausgestrichen wurde. Bei Röhrchen mit wenig Bodensatz wurde der nach dem Abgießen verbleibende Rest von Flüssigkeit mit der Öse aufgewirbelt und im ganzen auf den Objektträger gegossen.

Angeregt durch die Berichte G o t t s a c k e r s über die Bedeutung der Feuchtigkeit der Tuberkulose - Nährböden versuchten wir der Austrocknung des Petraghani - Nährbodens beim Kogulieren im Heißluftkasten dadurch entgegenzuwirken, daß wir mehrere Schalen mit Wasser darin aufstellten. Die weitere Sterilisierung wurde danach im Dampftopf vorgenommen. Vor einem Feuchtigkeitsentzug während der Bebrütungszeit wurden die Nährröhrchen wie bereits erwähnt durch den luft- und wasserdichten Gummistopfenverschluß geschützt. Der Sauerstoffbedarf der Tuberkulosekultur scheint nicht so stark zu sein, daß die Wachstumsintensität der Bakterien in einem derart luftdicht verschlossenen Röhrchen beeinflußt wird. Der frühere Streit über den Sauerstoffbedarf der Tuberkelbakterienkultur scheint überhaupt erheblich an Wichtigkeit zu verlieren, wenn man bedenkt, daß durch einen luftdichten Verschluß der Röhrchen eben auch der Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens als sehr wesentlicher Faktor erhalten wird.

Das in diesem Versuch insgesamt verwendete Material belief sich auf die ansehnliche Zahl von 5 758 Proben, die sich aus 5 302 Milchproben und 456 Lungen- und Gebärmuttereschleimproben

- 46 -

zusammensetzten. Insgesamt wurden daraus 489 positive Fälle = 8,49 % ermittelt.

Da in einzelnen Fällen das mikroskopisch - morphologische Bild der Bakterienkulturen nicht typisch war und daher keine eindeutige diagnostische Entscheidung getroffen werden konnte, sahen wir uns gezwungen für Zweifelsfälle Kompromißzeichen einzuführen, die im folgenden erklärt werden:

- + = positiv (Stäbchen nach Farbe, Form, Lagerung und Granulierung typisch)
- +? = mit Wahrscheinlichkeit positiv (Stäbchen nach Farbe, Form und Lagerung wie Tuberkelbakterien, jedoch keine typische Granulierung)
- ? = zweifelhaft (Stäbchen, die in Farbe, Form, Lagerung und Granulierung nicht restlos entsprachen).

War das Ergebnis der kulturellen Untersuchung zweifelhaft (?), dann wurde eine nochmalige Einsendung der Probe erbeten. Die mit Wahrscheinlichkeit positiver Fälle (+?) konnten, sofern die klinischen Erscheinungen für das Vorhandensein von Tuberkulose sprachen vom Kliniker als positiv gewertet werden. In den klinischen Zweifelsfällen wurde ebenfalls dem Tierarzt eine Wiederholung der Einsendung angeraten.

Die mikroskopische Kontrolle der Nährböden konnte in Anbetracht des umfangreichen Materials nur bei den grobsinnlich verdächtig erachteten Kulturen vorgenommen werden. Dabei stellte sich heraus, daß der feste Petraghani - Nährboden der grobsinnlichen Beurteilung viel sicherer zugänglich ist als das flüssige Nährsubstrat. Die

- 47 -

im Vorversuch festgestellte geringe Verunreinigungseignung des flüssigen Nährbodens konnte im Massenuntersuchungsbetrieb nicht bestätigt werden. Die häufig beobachteten Verunreinigungen, die sich in Form von milchiger Trübung und flockigem Bodensatz oder Häutchenbildung an der Oberfläche zeigten, erschwerten die grobsinnliche Wachstumskontrolle erheblich und wirkten sich auch erschwerend bei der Mikroskopie der flüssigen Kulturen aus.

Die Ergebnisse des Versuches sind folgender Tabelle zu entnehmen. (Siehe nächstes Blatt)

Der Kulturversuch verlief somit bei 489 von insgesamt 5858 Proben positiv (+, +?, ?) = 8,45 %. Der Prozentsatz der positiven Milchproben ist erheblich geringer als der bei Lungen- und Gebärmutterschleim ermittelte. Der flüssige Nährboden ist nur in Verbindung mit den festen von Wert. Seine alleinige Anwendung würde eine erhebliche Fehlerquelle bedeuten und kann unter keinen Umständen ergeten werden. Die durch die Mitverwendung des flüssigen Nährbodens gewonnene Mehrausbeute an positiven Fällen um 15,9 % bei Milch, um 8,1 % bei Lungen- und Gebärmutterschleim und um 13,9 % insgesamt stand nach den Ergebnissen der Vorversuche zu erwarten und ist Beweis für seine Eignung. Auffallend ist, daß die beiden Nährböden in 45,8 % der insgesamt ermittelten positiven Fälle eine Übereinstimmung zeigten. Daraus könnte man schließen, daß ein Großteil der Tuberkulose-Stämme gegen Glycerin ein indifferentes Verhalten zeigt.

T a b e l l e

Art des Ausgangsmaterials und Anzahl der untersuchten Proben	Prozentsätze aus den Summen der untersuchten Proben ermittelt Mit beiden Nährböden insgesamt ermittelte positive Fälle (+, +?, ?)	Prozentsätze aus den Summen der positiven (positiven und fraglich positiven) Proben		
		Auf dem festen u. flüssigen Nährboden übereinstimmend positiv (+, +?, ?)	positiv (+, +?, ?) auf dem festen Nährboden	in flüssigen Nährboden
5 302 Milchproben	365 = 6,8 %	154 = 42,2 %	307 = 84,6% zusammen- gesetzt aus 185 81 41 + +? ?	210 = 57,5% zusammen- gesetzt aus 132 32 46 + +? ?
456 Lungen- und Gebärmutter-schleimproben	124 = 27,2 %	70 = 56,4 %	114 = 91,9% zusammen- gesetzt aus 105 3 6 + +? ?	80 = 65,5% zusammen- gesetzt aus 72 6 2 + +? ?
5 858 Proben ins- gesamt	489 = 8,45%	224 = 45,8%	421 = 86,1%	289 = 59,3%

Tabelle

Art des Ausgangsmaterials und Anzahl der untersuchten Proben	Prozentsätze aus den Summen der untersuchten Proben ermittelt Mit beiden Nährböden insgesamt ermittelte positive Fälle (+, +?, ?)	Prozentsätze aus den Summen der positiven positiven und fraglich positiven) Proben		
		Auf dem festen u. flüssigen Nährboden übereinstimmend positiv (+, +?, ?)	positiv (+, +?, ?) auf dem festen Nährboden	im flüssigen Nährboden
5 302 Milchproben	365 = 6,8 %	154 = 42,2 %	307 = 84,6% zusammen=gesetzt aus 185 81 41 + +? ?	210 = 57,5% zusammen=gesetzt aus 132 32 46 + +? ?
456 Lungen- und Gebärmutter= schleimproben	124 = 27,2 %	70 = 56,4 %	114 = 91,9% zusammen=gesetzt aus 105 3 6 + +? ?	80 = 55,5% zusammen=gesetzt aus 72 6 2 + +? ?
5 858 Proben ins=gesamt	489 = 8,45%	224 = 45,8%	421 = 86,1%	289 = 59,3%

Tabelle

Prozentsätze aus den Summen der untersuchten Proben ermittelt	Prozentsätze aus den Summen der positiven (wahrscheinlich positiven und fraglich positiven) Proben ermittelt.				
	Auf dem festen u. flüssigen Nährboden übereinstimmend positiv (+, +?, ?)	positiv (+, +?, ?)		positiv (+, +?, ?)	
Mit beiden Nährböden insgesamt ermittelte positive Fälle (+, +?, ?)	auf dem festen Nährboden	auf dem flüssigen Nährboden	nur auf dem festen Nährboden	nur im flüssigen Nährboden	nur im flüssigen Nährboden
55 = 6,8 %	154 = 42,2 %	307 = 84,6% zusammen=gesetzt aus 185 81 41 + +? ?	210 = 57,5% zusammen=gesetzt aus 132 32 46 + +? ?	155 = 42,5% zusammen=gesetzt aus 77 58 20 + +? ?	58 = 15,9 % zusammen=gesetzt aus 34 15 9 + +? ?
24 = 27,2 %	70 = 56,4 %	114 = 91,9% zusammen=gesetzt aus 105 3 6 + +? ?	80 = 65,5% zusammen=gesetzt aus 72 6 2 + +? ?	44 = 35,5% zusammen=gesetzt aus 38 3 3 + +? ?	10 = 8,1% zusammen=gesetzt aus 6 3 1 + +? ?
89 = 8,45%	224 = 45,8%	421 = 86,1%	289 = 59,3%	198 = 40,7%	68 = 13,9%

- 49 -

4. Kulturversuche mit den Nährböden nach P e t r a g=
n a n i ohne Glycerin und G o e b e l mit Glyce=
rin unter besonderer vergleichender Berücksichti=
gung des makroskopischen und mikroskopischen Un=
tersuchungsverfahrens des flüssigen Nährbodens

Die schon erwähnte starke Verunreinigungenei= gung des flüssigen Nährbodens und die damit beim grobsinnlichen Prüfen möglichen Irrtümer ließen es angebracht erscheinen, einmal durch eine durch= gehende mikroskopische Kontrolle aller flüssigen Nährböden diesen Verhältnissen auf den Grund zu gehen. Es sollte sich also herausstellen, ob die grobsinnlich negativ erachteten flüssigen Nähr= böden der mikroskopischen Kontrolle standhielten. Zu diesem Versuch wurde ein ganzer Monatsanfall (Dezember 1950) an Milch- Lungenschleim- und Ge= bärmutterschleimproben beigezogen. Die im vorher= gehenden Versuch eingeführten Zwischenzeichen (+, +?, ?) wurden beibehalten. Von jeder Unter= suchungsprobe wurde ein fester und ein flüssi= ger Nährboden angelegt. Mit Hilfe dieses doppel= ten Kulturverfahrens wurden von den 1 546 unters= suchten Milch-, Lungenschleim- und Gebärmutter= schleimproben insgesamt 84 Fälle = 5,4 % als positiv (+, +?, ?) ermittelt.

Die Ergebnisse und das Verfahren der Auswer= tung der flüssigen Nährböden seien hier der Übersichtlichkeit halber vorweggenommen. Alle flüssigen Kulturen wurden zuerst wie schon bei den vorhergehenden Versuchen grobsinnlich auf Tuberkelbakterienwachstum geprüft. Die dabei als verdächtig erkannten Fälle wurden dann nach dem bereits geschilderten Verfahren mikroskopisch kontrolliert. Alle bei der grobsinnlichen Aus= wertung negativ beurteilten Nährböden wurden

- 50 -

nun erst nachträglich durchgehend mikroskopisch geprüft. Setzt man die insgesamt 84 als positiv ermittelten Fälle gleich 100 %, dann ergibt sich:

Gesamtzahl der untersuchten flüssigen Nährböden - - - - -	1546
Gesamtzahl der makroskopisch verdächtigen Fälle - - - - -	333
Davon nach mikroskopischer Kontrolle positiv - - - - -	36 = 42,8 %
Gesamtzahl der makroskopisch negativ beurteilten Fälle - - - - -	1213
Davon nach mikroskopischer Kontrolle positiv - - - - -	20 = 23,8 %

Die 20 mikroskopisch positiven Fälle, die trotz sorgfältigster Überprüfung makroskopisch nicht erkannt werden konnten, zeigen deutlich, daß die grobsinnliche Beurteilung der flüssigen Nährböden unzuverlässig ist. Die große Zahl der makroskopisch verdächtigen Fälle erklärt sich daraus, daß auch alle verunreinigten Nährböden als verdächtig beurteilt werden müssen.

Mit Einbeziehung des festen Nährbodens im gleichen Versuch ergeben sich folgende Zahlen:

Petragnani ohne Glycerin pos.	59 Fälle = 70,2 %
Nur Petragani ohne Glyc. pos.	28 " = 33,3 %
Nur Gcebel mit Glycerin pos.	25 " = 29,8 %
Beide Kulturen positiv	35 " = 41,7 %

- 51 -

Durch die mikroskopische Untersuchung sämtlicher flüssiger Nährböden wird also insgesamt ein positives Mehrergebnis von 29,8 % erreicht, wobei aber offen bleibt, ob sich unter den makroskopisch mangels Klümpchenbildung nicht erkannten Fällen nicht doch auch apathogene Säurefeste in einem dem Tuberkelbakterium gerade sehr typisch ähnelndem Entwicklungsstadium befanden.

Ungeachtet dieses Einwandes würden diese Zahlen dafür sprechen, daß eine durchgehende mikroskopische Kontrolle aller makroskopisch negativen flüssigen Nährböden ohne spürbare Einbuße an positiven Diagnosen nicht zu umgehen wäre.

Zieht man aber den Zeit- und Arbeitsaufwand einerseits und die bei fehlendem makroskopischem Wachstum in der flüssigen Kultur möglichen Fehlerquellen andererseits in Betracht, so dürfte nur bei makroskopisch verdächtigen flüssigen Kulturen eine mikroskopische Kontrolle lohnend sein. Im anderen Falle müßte jede makroskopisch negative flüssige Kultur bei mikroskopischer Anwesenheit von säurefesten Stäbchen zudem noch im Tierversuch nachgeprüft werden. Die gleiche Forderung stellt auch H e r m e l i n k (16), der auf Grund seiner Beobachtungen bezüglich der Differenzierung säurefester Saprophyten von den Tuberkelbakterien zusammenfassend zu dem Ergebnis kam, daß die Tuberkelbakterien sich färberisch und kulturell nicht mit absoluter Sicherheit von diesen Saprophyten abtrennen lassen.

Eine durchgehende mikroskopische Untersuchung aller Petraghani - Nährböden dürfte sich erübrigen, weil auf ihnen in der Regel ein Wachstum grobsinnlich wenigstens angedeutet und auch leichter erkenntlich ist und daher Fehlergebnisse seltener sind.

- 52 -

Wie schon in den vorhergehenden Versuchen läßt sich auch hier wieder feststellen, daß die Anwendung nur eines Nährbodens eine beachtliche Fehlerquelle in sich schließen würde. In 41,7 % der positiven Fälle wurde ein übereinstimmendes Ergebnis auf beiden Nährböden erzielt. Die restlichen 58,3 % der nicht übereinstimmenden Kulturergebnisse können nicht nur mit den allenfalls verschiedenen Wachstumserfordernissen der einzelnen Tuberkulose - Stämme und der daraus sich ergebenden Bevorzugung des einen oder des anderen Nährbodens zu erklären sein, sondern ganz einfach auch damit, daß durch die Verwendung mehrerer Nährböden je Ausgangsmaterial die Sicherheit steigt.

IV. Besprechung der Ergebnisse.

Die Arbeit sollte einen Beitrag dafür liefern, inwiefern der Tierversuch zum Nachweis von Tuberkelbakterien in Milch, Lungen- und Gebärmuttereschleimproben zugunsten des billigeren Kulturversuches zurückgedrängt werden kann. Außerdem sollte geprüft werden, ob der syrische Goldhamster, der in jüngster Zeit verschiedentlich als günstiger und billiger Ersatz für das Meerschweinchen empfohlen wurde, in der Lage ist, diesen Ansprüchen gerecht zu werden. Die zahlreichen Untersuchungsproben, die im Rahmen des "Rindergesundheitsdienstes in Bayern" durch das staatlich gelenkte, planmäßige und freiwillige Bekämpfungsverfahren der Rindertuberkulose lediglich an der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleißheim einlaufen, haben es er-

- 53 -

möglichst die Versuche in großem Stil durchzuführen und eine Klärung dieser Verhältnisse zu schaffen.

Zur Einarbeitung in die Technik und zur Schaffung grober Übersichtsverhältnisse dienten Vorversuche, die größtenteils mit bekannt positivem Material durchgeführt wurden. Im Rahmen dieser Vorversuche konnte im einzelnen auf Grund der Ergebnisse herausgeschält werden, daß durch die parallele Anwendung des festen Nährbodens nach P e t r a g n a n i und des flüssigen nach G o e b e l die kulturelle Ausbeute befriedigend ist. Das H o h n 'sche „Substrat 4“ konnte wegen zu starker Verunreinigungsneigung und der Nährboden nach W i t t e wegen seines trüben Ansehens nicht empfohlen werden. Im Tierversuch stellte sich heraus, daß der Hamster als Tuberkuloseversuchstier keinen vollwertigen Ersatz für das Meerschweinchen darstellt.

Die tuberkulös veränderten Kniefaltenlymphknoten sind beim Hamster intra vitam nicht zu palpieren; deswegen legen verschiedene Autoren erfahrungsmäßig erworbene optimale Tötungstermine fest, die sich nach ihren Angaben wegen der angeblich frühzeitig makroskopisch und bakteriologisch nachweisbaren Veränderungen der Lymphknoten schon zwischen dem 15. und 25. Tage wegen sollen.

Nachdem andererseits nach meinen Beobachtungen beim Meerschweinchen eine Generalisation früher einsetzt als beim Hamster dürften doch die ersten makroskopisch erkennbaren Veränderungen der Lymphknoten folgerichtig auch schon früher auftreten. Wohl deshalb raten auch K l i m m e r und S c h ö n b e r g (Milchkunde) schon vom 10. Tage ab mit der täglichen Kontrolle der regionären Lymphknoten beim Meerschweinchen zu

- 54 -

beginnen.

Bei vergleichender Betrachtung über den Wert des Kultur- und Tierversuches konnte als Endresultat der Versuche ermittelt werden, daß der Kulturversuch wohl in vielen Fällen schneller zum Ziel führt als der Tierversuch, aber in seiner Sicherheit nicht ganz an den Tierversuch heranreicht. Von 108 positiven Milch-, Lungenschleim- und Gebärmuttereschleimproben verlief der Meer-schweinchenversuch bei 73 = 62,0 %, der Kulturversuch mit den Petragnaninährböden ohne Glycerin bei 63 = 58,3 % und mit dem flüssigen Nährboden mit Glycerin bei 43 = 39,8 % positiv.

Eine Übereinstimmung des Tier- und doppelten Kulturversuches wurde nur in 17 = 15,7 % von den 108 Proben erreicht.

Die kulturelle Untersuchung von 5302 Milchproben und 456 Lungen- und Gebärmuttereschleimproben ergab in 489 = 8,45 % von den insgesamt 5858 Proben ein positives Ergebnis.

Durch die Mitverwendung des flüssigen Nährbodens konnte dabei eine Mehrausbeute an positiven Fällen von 15,9 % bei Milch und um 8,1 % bei Lungen- und Gebärmuttereschleimproben erzielt werden.

V. Z u s a m m e n f a s s u n g.

1. Kulturversuche mit tuberkulösen Organen des Goldhamsters zeitigten auf dem flüssigen Nährboden nach G o e b e l innerhalb 10 Tagen, auf den festen Nährböden innerhalb 13 Tagen makroskopisch sichtbares Wachstum.
2. Von den untersuchten Nährböden erwies sich der Nährboden nach H o h n a m empfindlich-

- 55 -

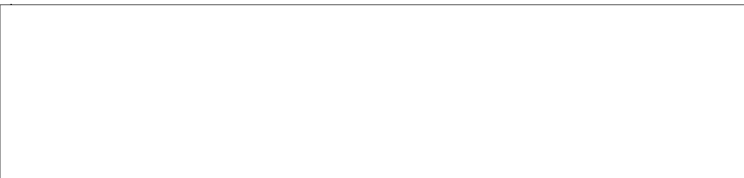
- sten gegen Verunreinigungskeime und scheidet deshalb für die Verwendung in veterinären Untersuchungsanstalten aus.
3. Die Verwendung glycerinfreier Nährböden neben den glycerinhaltigen ist zu empfehlen, da manche Stämme innerhalb des bovinen Typs ein ausgesprochen glycerinphobes Wachstumsverhalten zeigten.
 4. Die Sicherheit des kulturellen Nachweises kann durch die Mitverwendung des flüssigen Nährbodens mit Glycerin zum festen Petragrani-Nährboden ohne Glycerin bei Milchproben um 15,9 %, bei Lungen- und Gebärmuttereschleimproben um 8,1 %, also insgesamt um 13,9 % gesteigert werden. Von den festen Nährböden zeigt der Nährboden nach Petragrani gleichmäßig die beste Eignung.
 5. Die im flüssigen Nährboden im Hauptversuch häufig beobachteten Verunreinigungen, darunter auch durch säurefeste Saprophyten, erschweren seine grobsinnliche sowie seine mikroskopische Beurteilung.
 6. Durch die mikroskopische Untersuchung aller flüssigen Kulturen kann die positive Ausbeute gesteigert werden. Gleichzeitig setzt man sich aber damit mehr der Gefahr der Verwechslung mit säurefesten Saprophyten aus. Da diese keine so typischen Veränderungen im Nährmedium erzeugen wie die Tuberkelbakterien, fehlen bei der mikroskopischen Beurteilung diese unterstützenden Anhaltspunkte.
 7. Ein optimales diagnostisches Ergebnis läßt sich nur durch gleichzeitige Durchführung des Kultur- und Tierversuches erreichen.
 8. Das empfindlichste Kriterium für das Vorhandensein kleiner Mengen von Tuberkelbakterien stellt der Meerschweinchenversuch dar. Er

- 56 -

- ist durch die Kultur nicht vollwertig zu ersetzen.
9. In Übereinstimmung mit amerikanischen Berichten konnte die höhere Resistenz des syrischen Goldhamsters gegenüber dem Meerschweinchen auf Verimpfung mit tuberkelbakterienhaltigem Material festgestellt werden.
 10. Der von V i a t s c h k o angegebene auffallend geringe Verlust durch interkurrente Todesfälle bei den zu den Versuchen gebrauchten Hamstern gegenüber den Meerschweinchen konnte nicht bestätigt werden.
 11. Die Ergebnisse der Tuberkulinprobe beim Hamster deckten sich mit den in der amerikanischen Literatur veröffentlichten Beobachtungen.
 12. Die Möglichkeit einer Kontaktinfektion zwingt bei der Bissigkeit der Hamster (sogar Fälle von Kannibalismus wurden beobachtet) zur Einzelhaltung. Um Fütterungsinfektionen auszuschalten, muß zur tuberkulosefreien Eigenzucht übergegangen werden.
 13. Die Tatsache, daß 7 nicht infizierte Goldhamster einer generalisierten Tuberkulose - Infektion erlagen, obwohl sie mit geimpften Tieren nie Berührung hatten, mahnt zur Vorsicht.

Page Denied

Next 7 Page(s) In Document Denied



Zur Serologie des B. proteus vulgare

Anselm Wirsching

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleißheim.

Vorstand: Direktor Professor Dr. Hugo Grau

Vorgelegt von
Tierhygienischen Institut der Universität München
Komm. Leiter: Professor Dr. W. Rolle

Zur Serologie
des B. proteus vulgare

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Anselm Wirsching, prakt. Tierarzt

aus
Pasing

München 1951

Gedruckt mit Genehmigung der
Tierärztlichen Fakultät der Universität München

Dekan: Geheimrat Professor Dr. R. Demoll
Referent: Professor Dr. M. Rolle

Tag der Promotion: 19. April 1951

U N I - Druck, München 13, Amalienstr. 85

L

Meiner lieben Mutter in Dankbarkeit gewidmet.

L

Inhaltsverzeichnis

Vorwort	Seite 1
A. Schrifttum	5
B. Eigene Versuche	11
1.) Allgemeine Bemerkungen	11
a) die verwendeten Proteusstämmе	11
b) die verwendeten Paratyphus-Enteritis-Stämme	12
c) die verwendeten Nährböden	13
d) Herstellung von agglutinierenden Seren	14
e) Anstellung der Agglutinationen	15
f) Beurteilung der Agglutinationen	17
g) tabellarische Festlegung der Versuchsanordnungen und -ergebnisse	18
2.) Voryersuch	18
3.) Herstellung von agglutinierenden Einzelseren aus O-Formen der Proteusbakterien an Kaninchen und Prüfung der Einzel- seren an 166 Proteusstämmen (Versuch 1 mit 13)	19
4.) Herstellung eines polyvalenten Summationsserums aus 13 Einzel-O-Antigen-Seren und Prüfung desselben an 166 Proteus- stämmen (Versuch 14)	30
5.) Herstellung eines Mischserums aus den 13 Einzelstämmen und Prüfung desselben an 166 Proteusstämmen (Versuch 15)	31
6.) Prüfung des Summationsserums aus 13 O-Antigen-Seren an 55 Paratyphus-Enteritis-Stämmen und an 1 Intermediusstamm (Versuch 16)	33
C. Zusammenfassung	34
D. Schrifttumsverzeichnis	37
A n h a n g	43

Tabelle 1, 3 und 4 sind als Anhang beigelegt.

- 1 -

Vorwort.

Das Bacterium proteus vulgare hat seit seiner Beschreibung durch Hausser (1895) eine außerordentlich wechselvolle Rolle gespielt. Namhafte Forscher haben in eingehenden Untersuchungen die ätiologischen Beziehungen der Proteuskeime zur Weill'schen Krankheit (Jäger) und zur Cholera infantum (Metschnikoff) festgestellt. Das Vorkommen dieses ubiquitären Saprophyten in der Natur und seine Eigenschaft, unter gewissen Bedingungen pathogen zu werden, sind heute bekannte Tatsachen. So ist insbesondere das Auftreten des B. proteus bei Fleisch-, Wurst- und Nahrungsmittelvergiftungen durch eine große Anzahl von Krankheitsfällen belegt (Levy, Wessenberg, Glückmann, Silberschmidt, Poels, Dhont, Bortarelli, Marchelli, Dieudonne, Pfuhl, Wzyar, Mandel, Bärthlein).

Auf die Bedeutung der Proteuskeime als Erreger von Jungtierkrankheiten haben Hopfengärtner und Lachenschmid hingewiesen. Die Nebenbedeutung der Proteusbefunde beim Fleckfieber ist bis zum heutigen Tage Gegenstand eingehender Forschung geblieben.

Das Bacterium proteus ist in der Natur weit verbreitet; im allgemeinen ein harmloser Saprophyt, kann es jedoch mehr oder weniger starke Pathogenität erlangen, falls ihm Gelegenheit geboten wird, sich in Nahrungsmitteln anzureichern, Eiterungen zu verursachen oder bei Mischinfektionen als komplizierender Faktor aufzutreten.

Morphologisch zeigen sich die Proteusbakterien als mit allen Anilinfarbstoffen färbbare, gramnegative, sehr bewegliche Stäbchen, zahlreich peritrich begeißelt, ohne Sporen- und Kapselbildung; sie zählen zu den fakultativen Anaerobiern. In Form der dünnen, schlanken Stäbchen kann das B. proteus auch oft zu langen Fäden auswachsen; auf festen Nährböden bildet es, von der Inokulationsstelle ringförmig auswachsend, einen, in der bakteriologischen Diagnostik oft als sehr störend empfundenen, alles überziehenden hauchartigen, später dichteren Rasen: die sog. "H-Form", oder es bildet rundliche, kleine, begrenzte Kolonien ohne Rasen, die sog. "O-Form".

Neben dem klassischen B. proteus vulgare (Hausser) und B. proteus Zenkeri beschreiben in der Literatur noch eine Reihe von Autoren andere Formen, so z.B. B. proteus mirabilis, fluorescens, piscidus, versicolor, Kälberruhrbazillus (Klimmer); asiaticus, valerioi, pseudo-valerioi; anindologenes (van Loghem); valeriae, americanus (Rimbaud), ammoniae (Hager

- 2 -

und Magath); melanovogenes (Miles und Halnan); hominis capsulatus (Bordini-Uffreduzzi).

Von besonderer Bedeutung sind außerdem die verschiedenen X-Stämme, die noch Erwähnung erfahren.

Das Auftreten von *B. proteus vulgare* in den Organen von notgeschlachteten Tieren anlässlich der bakteriologischen Fleischuntersuchung ist ziemlich häufig, besonders in der wärmeren Jahreszeit, wobei es sich dabei sowohl um eine intravitale als auch postmortale Infektion des Fleisches und der Organe handelt. Das Schrifttum gibt noch weitere Hinweise auf das Vorkommen von *B. proteus* bei Tieren, so z.B. konnte *B. budieri* bei 119 Hunden aus italienischen Städten, *M. riani* bei 20 wildernden Hunden aus Addis Ababa und *Craig* bei 101 Hunden (zit. nach *Klinik*) Proteusbakterien isolieren. Auch bei den Kaltblütlern hat das *B. proteus vulgare* pathogene Bedeutung, so berichtet *Botteri* darüber als Erreger einer Fischpezizootie bei Mantua, während *Pensio* aus Blut und Leber einer Cernie mit *Exophthalmus* eine Proteusart züchtete, die sich als pathogen für Süßwasserfische erwies. *Klarin* (zit. nach *Alm*) fand als Erreger der Krebspest in Schweden 2 Bakterienarten, das *B. paratyphi* und das *B. proteus*. *Bischoff* schließlich stellte im Darm frischer Fische *Proteus vulgaris*, in Fischfleisch mit starker Fäulnis dagegen nur *Proteus Zankeri* fest.

Von erheblicher Bedeutung ist das Vorkommen der verschiedenen Proteusarten bei Erkrankungen des Menschen. Es lassen sich zweierlei Lokalisationen des Bakteriums nachweisen, einmal bei örtlichen Erkrankungen und dann bei Allgemeinerkrankungen bzw. spezifischer Proteussepsis. Über das Auftreten von *B. proteus* bei Mischinfektionen berichten *Guldner*, über elektive Symbiose mit Streptothrixpilzen *Papageorgiu* und *Sotirios*, über Symbiose mit Streptococccen bereits *Hausser*, wobei die Tätigkeit der Streptococccen den Proteusbakterien das Eindringen erleichtert.

Nach *Block* treten Proteusbakterien bei örtlichen Infektionen nur ausnahmsweise als alleinige Erreger auf, meist jedoch als hartnäckige Begleiter, wobei sie dann allerdings durch ihre eizelwärsetzende Fähigkeit erhebliche, mitunter gangränösiierende Wirkung entfalten; Allgemeinsepsis durch *Proteus* oder Proteusinfektion innerer Organe hält Autor für sehr selten. Dieser Auffassung stehen jedoch die Berichte einer Reihe von anderen Autoren entgegen. So berichtet *Block* selbst über den Nachweis von Proteusbakterien bei Infektion des Harnsystems, weiterhin konnten Proteusbakterien nachgewiesen werden in steril entnommenen Katheterharn (*Archer*), bei 25 Infektionen

- 3 -

der Harnwege (Kapustko, Pomoranzew, Myrlikowa), Steinbildung in den Harnwegen (Hager und Magath), chronischer Cystitis (Kollert und Bauer), bei gastroenteritischen Erkrankungen von Säuglingen (Güldner) und Erwachsenen (Domnitz, Ottino, Horowitz) und ruhrähnlichen Infektionen (Engel). Aus Fäcesproben (Huss) und bei Meningitis (Bischoff und Breckenfeld) konnte *B. proteus* isoliert werden. Weinberg und Ottino schließlich wiesen *Proteus* bei Kriegswunden nach, Sonnenschein im Auswurf, Stuhl und Harn bei offener Lungentuberkulose. Allgemeinerkrankungen mit Gefäßneurose und cerebralen Schädigungen im Vordergrund, hervorgerufen durch *B. proteus*, fanden Much und Soucek. Rimbaud und Mitarbeiter beschrieben einen schweren Fall von Proteussepticämie. Bertelsmann und Mau berichten von *Proteus* im Blut bei Sepsis nach Pyelonephritis, Schottmüller über *Proteus*-Reinkultur im Urin bei aufsteigender Infektion bei puerperaler Sepsis (zit. nach Güldner).

Die Rolle des *B. proteus* bei Nahrungsmittelvergiftungen tierischer, ja sogar nicht tierischer Herkunft, verdient besondere Beachtung. So seien hier erwähnt Erkrankungen nach Genuß von Muscheln (Gray), Hackfleisch (Huss), Blutwurst (Domnitz), Milch und Weichkäse (Plähn), Eiern (Miles und Halnan) und Nudeln (Saltykow).

Eine weitere Aufzählung dürfte sich erübrigen, da sie in der Inaug. Diss. von Klinik ausführlich niedergelegt wurden.

Als Todesursache tritt *B. proteus* hervor bei ruhrähnlichen Erkrankungen (Engel), bei septischen, langdauernden krankhaften Erscheinungen, namentlich im Bereich der Harnwege und des Rectums (Gerschön), bei Septicämie durch chron. Otitis (Pagniez und Mitarbeiter), bei primärer Meningitis (Dongalos und Doucas), bei Enteritissepdemie bei Säuglingen (35 Erkrankungen, 11 Todesfälle (Komsak)) und schließlich berichtet Siegert von einer gleichen Epidemie mit einer Letalität von 13% bei einfacher Proteusinfektion und einer solchen von etwa 30% bei Mischinfektion mit *B. pyocyaneus*. Bei der von Saltykow beschriebenen Proteuserkrankung mit Nudeln traten bei 5 Erkrankungen 4 Todesfälle ein.

Die bisher geübten Methoden des Nachweises der Proteusbazillen können nicht befriedigen. So einfach der Nachweis dieser Erreger auf den gewöhnlichen Agarplatten ist, wo er in der H-Form nicht übersehen werden kann, so schwierig ist seine Feststellung auf allen Differentialnährböden, auf welchen er in der Regel

- 4 -

in der Glatzform wächst. Die Untersuchung solcher Glatzformen zur sicheren Feststellung der Proteusbakterien kann entweder auf biochemischen oder serologischen Wege angestrebt werden. Von den biochemischen Untersuchungsmethoden ist bekannt, daß sie äußerst zeitraubend sind. Die Gerinnung der Milch, die bei Proteusbakterien spätestens am 9. Tag aufzutreten kann und der Nachweis von Indol, der bei manchen Stämmen noch wesentlich längere Zeit in Anspruch nimmt, erschweren das Verfahren außerordentlich und ermöglichen eine Unterscheidung von den Interaedius- und Paratyphus-Enteritis-Keimen nicht selten erst innerhalb eines größeren Zeitraumes. Es bedarf keiner Begründung, daß ein derartiges Differenzierungsverfahren im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung nicht zu verwenden ist.

Aus diesem Grunde hat das Verfahren von Dürbeck, die verdächtigen Glatzformen durch Untersuchung auf geeigneten Nährmedien in die H-Form überzuführen, z.B. durch Untersuchung auf gewöhnlichem Agar, vielseitige Anwendung in der bakteriologischen Fleischuntersuchung gefunden.

Die Tatsache, daß dieses in der Praxis einfache Verfahren nicht in allen Fällen gelingt, und bei manchen Stämmen des behandelten Erregers längerwährende Passagezüchtungen (bis zu 21 Tagen (nach Hopfgärtner)) erfordert um die in der Glatzform unbeweglichen, weil unbeißelten Proteusbazillen in die beißelte H-Form überzuführen, räumt diesem einfachen diagnostischen Hilfsmittel nur beschränkte Bedeutung ein.

Es verbleibt demnach für eine rasche und zuverlässige Erkennung der Proteusbazillen in der Glatzform, wie sie insbesondere die bakteriologische Fleischuntersuchung erfordert, nur die serologische Identifizierung mit Hilfe der Agglutination mit spezifischem, agglutinierendem Proteusserum. Über dieses letztgenannte Verfahren bringt das Schrifttum seit der Entdeckung dieses Erregers durch Hausser die nachfolgenden Mitteilungen.

- 5 -

A. SCHRIFTTUM.

In serologischer Hinsicht gibt das Schrifttum eine große Anzahl von Hinweisen und Berichten. Bereits vor 30 Jahren kannte man eine gewisse Gruppeneinteilung des *B. proteus vulgaris*. Dagegenüber vertraten mehrere Autoren die Ansicht, eine Gruppeneinteilung sei nur beschränkt oder gar nicht möglich. So berichtet *H o r o v i t z* (22) von 24 *Proteus-vulgaris*-Stämmen, die staus dem Stuhl anlässlich einer Gastroenteritisepidemie gezüchtet hatte, daß diese nur zum Teil serologisch untereinander übereinstimmten. Ebenso vertritt *O t t i n o* (34) die Auffassung, daß sich die von ihm bei gastroenteritiskranken Personen isolierten 18 *Proteus*-stämme serologisch nicht voneinander unterschieden, desgleichen konnte auch *W e i n b e r g* und *O t e l e s c o* (46) bei 8 aus Kriegswunden isolierten *Proteus*-stämmen keine besonderen serologischen Unterschiedlichkeiten feststellen. Auch *T a y l o r* (43) äußert sich über 53 Stämme, die aus menschlichem Untersuchungsmaterial isoliert wurden, daß unter diesen einzelne Stämme sowohl in Agglutinations- und Absättigungsversuchen weitgehende Unterschiede zeigten, ohne eine Gruppenklassifizierung zu ermöglichen.

Eine Zwischenstellung nimmt schon *G r o t* (15) ein, der 10 Stämme des von *v a n L o g h e m* beschriebenen *B. proteus anindologenes* untersuchte und dabei kulturelle Identität mit dem banalen *Proteus* fand, in serologischer Hinsicht bereits von mehr oder minder enger Verwandtschaft dieser beschriebenen Stämme untereinander spricht. *F e l i x* (10) geht einen Schritt weiter und bestätigt eine von *W e i l* festgestellte Abspaltung von serologischen Varianten an mehreren Kulturen verschiedener Herkunft (Typus X 19 und X 2). Er kommt zu dem Schluß, daß diese Varianten sich von den gewöhnlichen *Proteus*-stämmen genau so scharf abgrenzen lassen, wie die typischen X-Stämme.

M a c c e l l i n i (30) endlich weiß von einer neuen Dissoziationsart zu berichten, die er bei einigen Stämmen des *B. proteus vulgaris*, welche serologisch verschiedene Varianten hervorbringen, beobachtet hat.

Diesen eben beschriebenen, mehr oder weniger divergierenden Auffassungen stehen die Meinungen anderer Autoren entgegen, die von klarer Gruppenklassifizierung der *Proteus*-stämme sprachen. So teilten bereits *W e i l* und *F e l i x* (zit. nach *H a n a w a* (17)) die *Proteus*-bazillen in 3 agglutinatorische Gruppen ein, wobei sie dem durch die *Weil-Felix*'sche Reaktion gefundenen X-*Proteus* die vierte Gruppe zusprechen. Auch *B r a u n* und *S a l o m o n* (zit. nach *H a n a w a*) unterschieden bei diesen Mikroben bereits 3 Unterarten. Weiterhin untersuchten *A o k i* und *J i z u k a* (1) die 3 zuerst von *H a u s e r*

- 6 -

aufgestellten Proteus-Unterarten (Vulgaris, Mirabilis und Zenkeri), wobei sie durch gekreuzte Agglutination folgende Differenzierung fanden: von 25 Vulgarisstämmen 7, von 14 Mirabilis-Stämmen 5, und von 7 Zenkeri-Stämmen 3 agglutinatorisch einheitliche Unterarten. Auf diese Weise gelang es ihnen also, 41 Proteusarten deutlich in 9 Unterarten einzuteilen. In Fortführung des von A o k i und J i z u k a eingeschlagenen Weges untersuchte M a t s u i (zit. nach H a n a w a) weitere 172 Proteusstäme und fand, daß 44 von diesen mit den von A o k i gefundenen Typenserum gar nicht reagierten; innerhalb dieser 44 Stämme konnte M a t s u i weitere 9 Stämme als eine neue agglutinatorische Gruppe und von den restlichen 35 Stämmen 10 als agglutinatorisch einheitliche Gruppe identifizieren.

f a c o b (49) dagegen, der 35 Proteusstäme untersuchte, teilte auf Grund der Agglutinationsprüfung diese Stämme in 2 oder mehrere Gruppen ein. P a n d i t (35) stellte serologische Untersuchungen an 25 Proteus- und X-Stämmen an und konnte dabei mit Hilfe der Agglutination und Absorption von H- und O-Agglutininen 6 Stämme einschließlich der X-Stämme in eine Gruppe, 4 andere in eine zweite, und zwei weitere X-Stämme in eine dritte Gruppe einreihen.

In neuester Zeit gelang es K i n k l e (48) in einem Großversuch mit insgesamt 1142 Proteusstämmen (darunter 34 verschiedene X-Stämme), mittels agglutinierender Sera 999 dieser Stämme in 13 verschiedene serologische Typen, ähnlich dem Kauffmann-White-Schema für TPE-Bakterien, einzureihen; die restlichen 143 Stämme entsprachen nur teilweise oder gar nicht den vom Autor gestellten Antigenanforderungen. Derselbe Verfasser (47) berichtete bereits früher (1945) über 1084 Proteusstäme, wobei u.a. auch bei banalen Proteusstämmen mit Hilfe der Antigenformeln insgesamt 12 Typen ermittelt wurden. Diese 12 Typen wurden mit A, B, C usw. bezeichnet; die Auswertung ergab, daß bei 961 banalen Proteusstämmen folgende Zugehörigkeit zu sehen war: 58 Stämme zum Typus A, 151 zu B, 110 zu C, 562 zu D, 23, 28, 2 bzw. 7 zu F und H; nach Auffassung des Autors kommen außer den erwähnten noch weitere Typen vor. P o r c h (36) schließlich gibt eine Übersicht über 538 Stämme, die sie mittels der Antigenformel in insgesamt 98 Typen einteilt.

Die Gruppen- bzw. Typendifferenzierung der Proteusbazillen läßt Überleitungen zu der Art der Agglutination zu. Auch hier läßt sich eine deutliche Wandlung in der Auffassung mit der fortschreitenden Erkenntnis über die Eigenschaften der Proteusbazillen verfolgen. Über das Fehlen einer Agglutination von gefundenen, pathogenen Proteusstämmen durch das entsprechende Patientenserum schreibt H o r o v i t z; sie erklärt diesen Zustand jedoch mit der kurzen Erkrankungsdauer

- 7 -

Auch E n g e l (9) fand keine erhebliche Agglutination der Proteusstämme mit dem Blutserum der Kranken. Eindeutig negative Resultate beschreibt P a n d i t , in dessen Versuchsreihen mehrere Stämme überhaupt nicht oder nur mit bedeutungslosem Titer irgend eines der zur Untersuchung stehenden Sera agglutinierten. G r u n t f e s t (16) endlich kommt zu dem Schluß, daß durch eine jahrelange Aufbewahrung die Agglutinabilität einzelner Stämme eine beträchtliche Veränderung erleide.

Damit ist jedoch schon eine gewisse, zwischen den Zeilen zu lesende Konzession zu den nachfolgend beschriebenen Auffassungen aufgezeigt.

Die Ansicht, daß durch die Einteilung von agglutinatorisch gleichen Unterarten ein sicherer Schluß auf die Art der Infektion gezogen werden kann, vertreten A o k i und J i z u k a ; sie folgern daraus, daß durch Anwendung dieser Stämme die Proteusinfektion ebenso sicher nachgewiesen werden könne, wie die Typhusinfektion. S o n n e n s c h e i n (41) wies an einem Fall von Proteusinfektion mittels der Agglutination durch das Eiger Serum die Sicherheit der Proteusinfektion nach. Van der H o e d e n (20) berichtet über 11 Kranke, deren Serum Proteusbazillen agglutinierte; seiner Ansicht nach spricht außerdem die Anwesenheit von Agglutininen im Serum für eine Pathogenität der Bazillen. Eine Trennung der verfeinerten Auffassung über die Agglutinabilität der Proteusbazillen vertritt B l a u (4), wem er der Ansicht ist, daß eine Agglutination der verschiedenen Proteusstämme nur durch Immunserum aus denselben Stämmen zu erzielen sei. Dieser Auffassung schließt sich auch H a n a w a (18) an, der in seinen Versuchen Typen fand, die Rezeptoren ohne Reaktionsvermögen gegen heterologe Stämme enthielten. Andere Autoren dagegen fanden bei ihren Versuchen, daß ein Proteusserum nicht nur mit homologen, sondern auch mit heterologen Stämmen reagieren kann (S a c q u é p é e (39) und Y a c o b). In Ergänzung zu diesen Feststellungen geben K o i l e - K r a u s - U h l e n h u t (27) den Hinweis, daß bei Immunisierung mit Bakterien ohne Geißelapparat (natürliche oder künstliche, z.B. durch besondere "Quäl-cathoden", wie Hungeragar, oder Kohlensäure, erhaltene O-Formen) die Sera in streng spezifischer Weise nur mit dem Agglutino-gen des Endoplasmas, d.h. nur die homologen Stämme agglutinierten. Für die Agglutination mußten ebenfalls Bakterien verwendet werden, deren Geißelapparat zerstört ist; daraus sei der Schluß zu ziehen, daß solche "nackte" Bakterien selbstverständlich auch durch die mit homologen "Vollbakterien" gewonnenen Immunsera agglutiniert werden (nicht aber durch die mit heterologen Vollbakterien hergestellten Sera).

Ergänzend hierzu bedarf noch die Höhe des Agglutinationstiters einer kurzen Erwähnung.

- 8 -

R i m b a u d (37) und Mitarbeiter stellten starke Agglutination durch das Krankenserum, jedoch keine Agglutination durch Normalserum fest. Auch L o d e n k ä m p e r und B a l l i e s (29) vertreten die Auffassung, daß für alle Proteusinfektionen das Zustandekommen eines mehr oder weniger hohen Agglutinationstiters im Serum des Erkrankten eindeutig beweisend sei. Zahlenmäßige Aufzählung von Titerhöhen erwähnen K a p u s t k o und Mitarbeiter (25), die positive Agglutination mit Seren korrespondierender Kranker in 81 % anführen. M i l e s und H a l l a n (31) weiterhin beobachteten bei mit *Proteus melanovogenus* infizierten Hühnern höheren Titer als bei gesunden. G i n z e l (13) fand in Agglutinationsversuchen mit *B. proteus vulgare* und Seren von 29 gastroenteritischen und gesunden Schweinen, daß schon ein Titer von 1:100 als Ausdruck einer Selbstimmunisierung durch *B. proteus* zu werten sei. G r a y (14) berichtet über eine *B. proteus vulgare*-Agglutination mit einer Titerhöhe von 1:125, D e m n i t z (8) über eine Höhe von 1:400 (wogegen menschliches Normalserum über eine Verdünnung von 1:20 aufwärts nicht mehr agglutiniert), H o p f e n g ä r t n e r (21) stellte bei Meerschweinchen, an denen Immunisierungsversuche gegen *B. proteus vulgare* anlässlich einer großen Fohlen- und Kälberproteusinfektion durchgeführt wurden, Agglutinationswerte bis zu 1:800 fest, N o u r y (33) fand einen besonderen Stamm Nr. N. der anscheinend zur *Proteus*-Gruppe gehört und bis zu 1:500 und 1:1000 agglutinierte, N a e m e c k (32) eine Agglutination von 1:3200 mit einem dem *B. proteus pseudovaleriae* äußerst ähnlichen Mikroorganismus, A r c h e r (2) deutliche Agglutination 1:5000 mit einem *Proteus*-Stamm aus steril entnommenen Katheterharn und B i s c h o f f und B r e k e n f e l d (3) endlich weisen auf einen besonders interessanten hohen Agglutinationstiters (1:12800) bei einer Proteusmeningitis hin. Dazu bemerkt G e r s c h o n (12) noch, daß die Agglutination bei stärkerer Verdünnung sehr spezifisch, bei schwächerer Verdünnung jedoch nur bedingt verwertbar sei.

Im Schrifttum findet sich eine sehr große Anzahl von Veröffentlichungen, hauptsächlich aus humanmedizinischer Feder, über die Struktur des Antigen-, Agglutino- und Rezeptorapparates bei den Proteusbakterien. An dieser Stelle jedoch sei diesen Faktoren nur eine kurze Erwähnung getan. W e i l und f e l i x, S a c h s und S c h l o B h e r g e r, B r a u n und Mitarbeiter (zit. nach Kolle-Kraus-Phlenhut) zeigten auf, daß die begehrten Proteusbakterien zweierlei Arten von Antigenen besitzen, nämlich ein thermolabiles, das im Geißelapparat (= Ektoplasma) lokalisiert ist und grobflockig arbeitet, das sog. "ciliophore" Agglutino-Gen, während das thermostabile, fein flockende, "somatophore" Agglutino-Gen in Bakterienleib (= Endoplasma) verankert ist. Mit Hilfe der Antigen- und Agglutinogenanalyse ist es möglich eine Trennung

- 9 -

nahverwandter Arten durchzufütren.

Die bei X-Stämmen gefundenen O- und H-Rezeptoren konnten We il und F e l i x (45) auch bei allen basalen Proteusstämmen nachweisen; hierbei zeigte sich eine Gleichheit der H-Rezeptoren der X-Stämme mit denen einer großen Gruppe von gewöhnlichen Proteusstämmen. Über den Nachweis der O- und H-Rezeptoren bei den Proteusstämmen berichten F e l i x und M i t z e n m a c h e r (11) unter Anwendung der S a c h s ' schen Methode, wonach bei Erhitzung auf 80° C die H-Rezeptoren zerstört werden, die O-Rezeptoren dagegen intakt bleiben. Die Verschiedenartigkeit der Hitzeeinwirkung gibt einen Ausdruck dahin, daß solche, auf 80° C erhitzte Proteusbazillen, bei denen im Agglutinationsversuch keine H-Rezeptoren mehr nachweisbar sind, im Immunisierungsversuch wider Erwarten keine reinen O-Immunsere geben. Erst bei Immunisierung mit auf 100° C erhitzten Bazillen erhielt man reine O-Immunsere.

Die X-Stämme (X 2, X 19, X 23, X 24, X 25, X Kingsbury, X K, X L) nehmen in jeder Beziehung unter den Proteusstämmen eine Sonderstellung ein. Sie treten in serologischer Hinsicht scharf aus der Gruppe der gewöhnlichen Proteusstämmen hervor (W e i l und F e l i x, K o l l e - K r a u s - U h l e n h u t, B o e c k e r - K a u f f m a n n (6), T a y l o r). Bei der von K a u f f m a n n und P e r c h (26) durchgeführten Prüfung von 538 Proteusstämmen wurden 34 Proteus-X-Stämme gefunden und zwar X 19 (O-Gruppe 1), X 2 (O-Gruppe 2) und X K (O-Gruppe 3). Innerhalb der bezeichneten O-Gruppen waren wiederum Unterschiedlichkeiten festzustellen, hauptsächlich auf Grund eines abwechselnden Differierens der O- und H-Antigene für die Typendifferenzierung der Proteus-X-Stämme haben die Verfasser ein diagnostisches Proteus-Antigen-Schema aufgestellt. Eine Bestätigung dieser Ansicht liegt in der bereits früher von d e l a L a s t r a S o u b r i e r (28) geäußerten Auffassung, wonach sich die vier Proteus-X-Rassen mit Sicherheit durch ihre antigene Konstitution unterscheiden. Zum Agglutinationswert der X-Stämme äußern sich verschiedene Autoren mit unterschiedlichen Ergebnissen. B u c h w a l d (7) fand einmal bei X K überhaupt keine, bei X 19 und X 2 dagegen in einigen Fällen noch eine positive Reaktion in der Verdünnung 1:50. N o u r y fand bei Trachomatösen mit OXK die stärksten Agglutinationen, allerdings nicht über 1:200. S o n n e n s c h e i n (42) allerdings berichtet über eine thermolabile Proteus-X 19-Agglutination beim Proteusinfizierten, wobei er mit OX 19 sogar bis zu einer Verdünnung 1:1600 positiven Ausfall erhielt. Abschließend hierzu bemerken K o l l e - K r a u s - U h l e n h u t, daß besonders X 2- und X 19-Stämme durch die mit anderen Proteusarten gewonnen Immunsere nur schwach oder gar nicht agglutiniert werden. Eine sehr große Bedeutung maßen bereits W e i l und F e l i x den von ihnen auf Grund der Festlegung der O- und H-Antigene

- 10 -

gefundenen X-Stämmen, besonders dem Stamm X 19, infolge seines Verhaltens bei der serologischen Feststellung des Fleckfiebers, bei (zit. n. B o e c k e r - K a u f m a n n !). Die von ihnen ausgearbeitete sog. Weil-Felix'sche Reaktion beruht auf der Agglutination von X-Stämmen, besonders X 19, durch das Blutserum Fleckfieberkranker. Die Frage, ob der Stamm X 19 der tatsächliche Erreger des Flecktyphus sei, hat zu umfangreichen wissenschaftlichen Veröffentlichungen und einer nicht minder heftigen Polemik über diesen Streitpunkt geführt. K o l l e - K r a u s - U h l e n h u t geben dazu den Hinweis, daß die X 19-Bazillen zufällig auf die Fleckfieberantikörper eingebaute Rezeptoren besitzen, die also mit den Rezeptoren des damals noch nicht sicher bekannten Fleckfiebererregers identisch sein müssen. Die Ansicht einer zufälligen Rezeptorengemeinschaft der fraglichen Proteusbazillen mit dem Fleckfiebererreger sahen K o l l e und S c h l o ß b e r g e r bereits 1917 darin begründet, daß sie in den Seren Fleckfieberkranker neben Agglutininen auch Bakteriolysine und komplementbindende Antikörper gegenüber dem Bazillus X 19 nachwiesen; eine Reihe von Autoren bestätigten weiter diese Befunde und ergänzten sie dahingehend, daß die spezifische Agglutination des Bazillus X 19 auf dem gemeinsamen Vorkommen eines Polysaccharids beruht; dieses Polysaccharid stellt also den gemeinsamen Antigenbestandteil dar (zit. nach T r i f f t e r e r (44)).

*Wenn ein saprophytisch vorkommendes Bakterium in einem Organismus die Fähigkeit erwirbt, mit dem Serum des kranken Körpers zu agglutinieren, so wird diese Eigenschaft als "Paraagglutination" bezeichnet" (R o l l e (38)). Dieses Phänomen konnten zahlreiche Forscher in ihren Arbeiten über das B. proteus klar zum Ausdruck bringen. H u s s (24) studierte 10 Proteusstämme, die eine mehr oder weniger dauerhafte Agglutinabilität für Typhus-, Paratyphus- und Dysenteriasera zeigten und weist dabei auf die Möglichkeit von Paraagglutination hin. M a c c o l i n i fand 4 Stämme, die von Paratyphus-A- und Paratyphus-C-Seren bis zur Hälfte der Titergrenze, ferner einen Stamm, der von London-Serum bis 1:50 agglutiniert wurde. S i l b e r (40) züchtete Proteus vulgaris-Kulturen mit einer besonderen Methodik im Symbioseversuch typhusähnliche serologische und antigena Eigenschaften an; die so erhaltenen Kulturen wurden von agglutinierenden Typhusseren (Titer 1:6000) bis 1:640 ausgeflokt. Ähnliche Ergebnisse erzielte auch H u m b u r s k y (23). H e y m a n n und Y a n g (19) untersuchten ebenfalls die Agglutinationsreaktionen zwischen der Brucella- und Proteus-Gruppe; sie fanden u. a. bei 8 Bang-positiven Blutseren von Kühen eine Agglutination von 3 dieser Seren mit Proteusbazillen bis 1:100 oder darüber; auch ein Maltafieber-Immunserum vom Pferde (Melitensis-Agglutinationstiter 1:3200) agglutinierte Proteusbazillen bis 1:100. 2 Milchsera von bangkranken Kühen (Agglutinationstiter 1:6400) dagegen agglutinierten Proteusbazillen gar nicht.

- 11 -

Über das Wesen der Paraagglutination geben K o l l e - K r a u s - U h l a n -
h u t den Hinweis: "Die meisten Forscher nehmen an, daß die Paraagglutination
auf einer adsorptiven Bindung agglutinabler Teile der Krankheitserreger an die
paraagglutinablen Bakterien beruht; wenn die adsorbierten Teile nach mehrmali-
ger Fortzüchtung auf den üblichen Nährböden wieder ausgeschieden sind, hört die
Paraagglutination auf. Mit einer Änderung im spezifischen Rezeptorenapparat
der Bakterienzelle hat die Paraagglutinabilität nichts zu tun".

Die mannigfaltigen Schwierigkeiten, welche auf human- und veterinärmedizinischem
Gebiet in der Serodiagnostik der Proteusgruppe im Schrifttum auftauchen, lassen
es wenig aussichtsreich erscheinen, die Herstellung eines agglutinierenden Se-
rums anzustreben, welches die alltäglich bei den verschiedensten diagnostischen
Laboratoriumsuntersuchungen anfallenden Proteusstämme mit Sicherheit erfäßt.
Die Tatsache aber, daß das Schrifttum bisher noch kein entscheidendes Urteil
in der Frage nach einem für die Proteusgruppe gemeinsamen O-Antigenfaktor zu
geben vermag, regt zu Untersuchungen in dieser Richtung an.

Die Klärung dieses Problems bedeutet zugleich auch die Lösung der mir gestell-
ten Aufgabe der Herstellung eines agglutinierenden Serums zur weitgehenden Er-
fassung der Proteuskeime auf serologischem Wege.

9. EIGENE VERSUCHE .

1.) Allgemeine Bemerkungen.

Zu den Arbeitsmethoden bei den eigenen Versuchen darf auf nachfolgende all-
gemeine Bemerkungen hingewiesen werden:

a) Die verwendeten Proteusstämme.

Es wurde eine Sammlung von insgesamt 166 Proteusstämmen zusammengestellt
und zwar

- 56 Stämme von der Bayer. Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung,
Schleißheim,
- 65 Stämme von der Bakteriologischen Fleischuntersuchungsstelle
am Schlachthof München,
- 11 Stämme von der Staatlichen Veterinär-Untersuchungsanstalt in
Nürnberg und
- 34 Stämme von der Staatlichen Bakteriologischen Untersuchungs-
anstalt in München.

- 12 -

Somit stammten 132 Stämme vom Tier (St.Nr. 1 mit 132) und 34 Stämme vom Menschen (St.Nr. 133 mit 166).

Herkunft der vom Tier isolierten Stämme:

vom Pferd	7 Stämme,
▪ Rind	79 " ,
▪ Kalb	23 " ,
▪ Schwein	19 " ,
von Nagern	3 " ,
vom Geflügel	1 Stamm.

Diese Stämme wurden mit Hilfe folgender Untersuchungsmethoden isoliert:

Bakteriologische Fleischuntersuchung: Fleisch und Organe (Pferd, Rind, Kalb, Schwein),

Lebensmitteluntersuchung: Knochen (Rind),

allgemeine diagnostische Untersuchungen:

Gelenke	(Kalb),
Foetus	(Kalb),
Organe	(Ferkel),
Leber	(Nager),
Herz	(Nager, Geflügel)

Konfiskate: Pyometren (Rind).

Die vom Menschen gewonnenen Stämme wurden aus folgenden Medien isoliert:

Mundabstrich,
Eiter,
Sputum,
Urin,
Stuhl,
Kniepunktat,
Hüftgelenkspunktat,
Osteomyelitisereiter,
Lebergalle,
Drüse,
Kläranlage.

b) Die verwendeten Paratyphus-Enteritis-Stämme stammten aus der Abt. für tierärztliche Lebensmittelüberwachung und Bakteriolog.Fleischuntersuchung an der Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung, Schleißheim.

Zur Verwendung kamen

55 Paratyphus-Enteritis-Stämme und 1 Intermediusstamm und zwar:

- 13 -

1 St. B. paratyphi A
 3 St. B. " A-Senftenberg
 5 St. B. " B-Schottaüller
 1 St. B. " Typ Schleißheim
 6 St. B. enteritidis Breslau
 1 St. B. typhi murium
 3 St. B. paratyphus abortus equi
 6 St. B. " " ovis
 2 St. B. suispestifer Künzendorf
 1 St. B. " Amerika
 1 St. B. " Standfuss
 1 St. B. " Voldagsen
 2 St. B. paratyphi C-Newport
 2 St. B. " C-Virchow
 2 St. B. " C-Barcelly
 1 St. B. " C-Thompson
 1 St. B. bovis morbificans
 2 St. B. enteritidis Gärtner Jena
 2 St. B. " " Rostock
 3 St. B. " " Kiel
 1 St. B. " " Moskau
 5 St. B. pullorum
 3 St. B. gallinarum
 1 St. B. intermedius.

c) Die verwendeten Nährböden.

An Nährböden wurde einheitlich 2 % iger Agar mit einem pH-Wert von 7,2 - 7,4 verwendet.

Die Reinsolierung der bei der Fleischuntersuchung gefundenen Stämme erfolgte durch Überzüchtung auf Agarplatte; erst bei Reinheit der Kultur (öfters Verzüchten von Einzelkolonien), wurde der betreffende Stamm auf Schrägagar übernommen. Dabei wurde einheitlich von dem letzten Nauchkranz des schwärmenden *B. proteus* eine Öse des Kulturmaterials zur Überimpfung benützt.

Auch die von anderen Instituten auf Schrägagar erhaltenen Stämme wurden zuerst über eine Agarplatte geschickt und dann nach der eben erwähnten Methode vorgefahren.

Nach 6 - 8 Wochen wurde regelmäßig eine Umzüchtung der vorhandenen Kulturen durchgeführt.

- 14 -

Es wurden dabei jeweils zwei getrennte Kultursammlungen angelegt, eine sog. "Arbeitssammlung", mit der die serologischen Agglutinationen ausgeführt wurden und eine weitere, sog. "Stammsammlung", die als Grundstock für Ergänzungs- und Neuzüchtungen Verwendung fand.

Die Aufbewahrung beider Sammlungen erfolgte im Kühlschrank bei + 4° C, um ein Eintrocknen des Nährmediums hintanzuhalten.

Sämtliche isolierten Proteusstämmen wurden auf Beweglichkeit und Graufärbbarkeit geprüft, diese Untersuchungen erfolgten an 24 stündigen Bouillonkulturen. Alle 166 Stämme erwiesen sich als bewegliche, feine, gramnegative Stäbchen; die verwendeten Stämme wurden gleichzeitig im Rahmen einer weiteren wissenschaftlichen Arbeit über die Biochemie der Proteusstämmen identifiziert.

d) Herstellung von agglutinierenden Seren.

Zur Herstellung agglutinierender O-Antigen-Seren wurden einheitlich Kaninchen verwendet, die mit Ohrmarke bzw. Haarschnitt gekennzeichnet waren. Der dazu benützte Impfstoff wurde nach folgenden Richtlinien hergestellt: Der betr. ausgewählte Proteusstamm wurde auf 2 Agarplatten überimpft (gitternetzartiges Ausstreichen), Bebrütung 24 Std. bei 37° C, Abschwemmung jeder Kulturplatte mit je 20,0 ccm physiologischer NaCl, Filtration durch Watte, Abtötung im Wasserbad 30 Minuten bei 75° C, Sterilitätsprüfung auf Agar, Abfüllung auf Ampullen. Verimpfung an Kaninchen in der Regel nach folgendem Impfmodus: 1. Tag subcutan (5,0 ccm), die folgenden Impfungen intravenös: 5. Tag (0,5 ccm), 10. Tag (1,0 ccm), 15. Tag (1,5 ccm); vor jeder Impfung wurde ca 1,0 ccm Blut entnommen und mit dem daraus gewonnenen Serum der jeweilige Agglutinationstiter festgestellt.

Nach der letzten Injektion wurden die Versuchstiere getötet und dabei aus der Carotis in Zentrifugenröhrchen entblutet. Das Blut wurde dann 1 Stunde im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt, anschließend 25 Minuten bei 2500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert, das gewonnene Serum mit 0,3 % Phenol versetzt.

(Die Entblutung eines Seruatiertes wurde gewöhnlich erst dann vorgenommen, wenn eine vorher durch Agglutination geprüfte Serumprobe einen ausreichenden Agglutinationstiter (1:4000) aufwies).

Nach dieser Arbeitsmethode wurden insgesamt 15 agglutinierende Seren hergestellt und zwar:

- 15 -

1 agglutinierendes Serum für den Vorversuch (St.Nr. 5,10,14,15,19).

1 agglutinierendes Serum Nr. 1 (Versuch 1; St.Nr. 151)

▪	Nr. 2 (2,	91)
▪	Nr. 3 (3,	60)
▪	Nr. 4 (4,	98)
▪	Nr. 5 (5,	24)
▪	Nr. 6 (6,	20)
▪	Nr. 7 (7,	33)
▪	Nr. 8 (8,	34)
▪	Nr. 9 (9,	43)
▪	Nr.10 (10,	51)
▪	Nr.11 (11,	54)
▪	Nr.12 (12,	62)
▪	Nr.13 (13,	74).

1 Summationsserum aus den agglutinierenden Seren Nr. 1 mit 13.

1 Mischserum aus 13 für die Gewinnung von agglutinierenden Einzelseren verwendeten Stämmen (St.Nr. 20, 24, 33, 34, 43, 51, 54, 60, 62, 74, 91, 98, 151).

e) Anstellung der Agglutination.

Es wurden einheitlich zwei Arten der Agglutination angewendet

die Tropfen (= Schnell-) -Agglutination und
die Reihen (= Langsam-) -Agglutination.

Nachfolgende Übersichten lassen die bei beiden Methoden erzielten Verdünnungen erkennen:

Tropfenagglutination

Grundverdünnung 1 : 5 = 0,2 ccm Serum + 1,0 ccm Karb.Na Cl.
Arbeitsverdünnung 1 : 25 = 0,2 ccm Grundverdünnung + 1,0 ccm
Karb.Na Cl.
1 : 50 = 0,1 ccm Grundverdünnung + 1,0 ccm
Karb. Na Cl.
1 : 100 = 0,05 ccm Grundverdünnung
+ 1,0 ccm Karb.Na Cl.

Reihenagglutination:

Grundverdünnung 1 : 40 = 0.05 ccm Serum + 2.0 ccm Karb.NaCl.
1 : 80 = 0.05 ccm " + 4.0 ccm Karb.NaCl.

- 16 -

1 : 160 = 0,05 ccm Serum + 8,0 ccm Karb.NaCl.
 1 : 320 = 0,05 ccm " + 16,0 ccm Karb.NaCl.

Bei Anwendung obiger Grundverdünnungen ergaben sich nachfolgende Titerhöhen:

Pipettier- menge ccm	Grundverdünnung			
	1 : 40	1 : 80	1 : 160	1 : 320
0,2	200	400	800	1600
0,1	400	800	1600	3200
0,08	500	1000	2000	4000
0,06	600	1200	2400	4800
0,05	800	1600	3200	6400
0,04	1000	2000	4000	8000
0,03	1500	3000	6000	12000
0,02	2000	4000	8000	16000
0,01	4000	8000	16000	32000

Die Ausführung der Technik der Agglutination mit den einzelnen Stämmen bestand bei der Tropfenagglutination darin, daß auf einen Glasobjektträger je 1 Tropfen der Arbeitsverdünnungen 1:25, 1 : 50 und 1 : 100 gebracht wurde; mittels Öse wurde das von dem betreffenden Stamm abgenommene Material mit der Testflüssigkeit solange verrieben, bis eine homogene Trübung entstand; anschließend wurde der Objektträger leicht durch die Flamme gezogen (2 - 3 mal) und dabei geschwenkt. Die Ablesung erfolgte mittels von unten reflektierenden Spiegels.

Für die Zwischen- und Endprüfung der zu gewinnenden agglutinierenden Seren war es notwendig, von dem betreffenden Impfstamm Testflüssigkeiten herzustellen; hierzu wurden jeweils 10 Agarplatten mit je 1 Öse Kulturmateriale gitterartig durchstreichend beimpft, 24 Stunden im Brutschrank bei 37° C bebrütet und anschließend je Kulturplatte mit 10,0 ccm Karb. NaCl abgeschwemmt und durch Watte filtriert. Die Hälfte der so erhaltenen Flüssigkeitsmenge ergab die lebende Stammtestflüssigkeit (LStI), die andere Hälfte nach Abtötung während 30 Minuten bei 75° C die abgetötete Stammtestflüssigkeit (TStI), bei letzterer wurde jedesmal vor Verwendung Sterilitätsprüfung auf Agar vorgenommen.

- 17 -

LSIT und TSIT wurden zum Gebrauch mit Karb.NaCl verdünnt, wobei die Dichtigkeit nach einheitlichem Maßstab jeweils auf optischem Wege ermittelt wurde (die Vergleichstestflüssigkeiten wurden in Reagensgläschen eingeschmolzen), die so erhaltenen Aufschwimmungen ergaben die lebende und abgetötete Gebrauchstestflüssigkeit (LGT und TGT).

Für die Reihenagglutination wurden nun in einen Metallständer Agglutinationsröhrchen gestellt, wobei in die ersten 9 Röhrchen der linken Seite die aus voriger Übersicht ersichtlichen Serumengen pipettiert wurden; das 10. Röhrchen fungierte als Kontrolle; derselbe Vorgang wiederholte sich für die 10 Röhrchen der rechten Seite.

Jedem der 10 Röhrchen wurden dann 1 ccm der Gebrauchstestflüssigkeit zugegeben (in die 10 Röhrchen der linken Seite LGT und in die der rechten TGT), kräftig durchgeschüttelt und 24 Stunden im Brutschrank bei 22° C bzw. Zimmertemperatur aufbewahrt. Beschriftung des jeweiligen Agglutinationsversuchs ließ Nr. des Serums, Art der Gebrauchstestflüssigkeit und Kontrolle erkennen.

Die erste Ablesung der Agglutinationswerte erfolgte durchwegs nach 24 Stunden; bei unklaren Reaktionen wurde nach weiteren 12 bzw. 24 Stunden erneut abgelesen.

f) Beurteilung der Agglutinationen

war einheitlich und ohne Zuhilfenahme optischer Hilfsmittel (Agglutinioskop, Lupe), zur tabellarischen Festlegung der Agglutinationsergebnisse bei der Tropfenagglutination wurden folgende Zeichen verwendet:

- +++ - deutliche Reaktion mit starker Zusammenballung (grob-, feinflockig, grob-, feinkörnig),
- ++ - entsprechend schwächere Reaktionen,
- + - entsprechend schwächere Reaktionen,
- = - mit freiem Auge noch erkennbare Reaktion, bei welcher ein Teil der Bakterien agglutiniert, der Rest in trüber Lösung suspendiert ist (inkomplette Agglutination),
- - einwandfreie negative Reaktion.

Dabei fand die jeweilige Höhe der Verdünnung bei der Auswertung entsprechende Berücksichtigung. Die in den Versuchstabellen eingerahmten Stämme stellen die betreffenden Impfstämme und ihre Agglutinationswerte dar.

Bei der Langsamagglutination wurde als erreichte Titerhöhe das Vorhandensein eines sog. "Tellers" auf dem Grunde des Agglutinationsröhrchens ge-

- 18 -

fordert, während die darüberstehende Flüssigkeitsmenge klar sein mußte. Bei Aufschütteln mußte sich der Feller lösen; Schlieren- und Fadenbildung bei fehlender Zusammenballung dagegen wurde als negativ gewertet.

- g) Sämtliche Versuchsanordnungen und -ergebnisse wurden schriftlich in Tabellen festgelegt, die Versuchsergebnisse sind als Untersuchungsprotokolle im Anhang beigelegt.

2.) Vorversuch.

Zur Orientierung wurde mit einem durch Verimpfung von 5 Stämmen verschiedener Herkunft gewonnen agglutinierenden Serum die Wirkungsbreite eines polyvalenten agglutinierenden Serums für *B. proteus* geprüft, da zu erwarten stand, daß unter den zu prüfenden Proteusstämmen O-antigene Verwandtschaftsreaktionen bestehen, wie diese in den nahestehenden Paratyphusgruppen auftreten.

Versuchsanordnung:

Mischimpfstoff aus 5 Stämmen (St.Nr. 5, 10, 14, 15, 19),
Kaninchen Nr. 1 - 3.

In Abweichung zu dem unter 1.1. beschriebenen
Impfmodus wurde folgendermaßen verfahren:

1. Impfung (1. Tag): 1,0 ccm iv. (Ohrevna)
2. " (5. Tag): 0,5 ccm iv. "
3. " (10. Tag): 0,3 ccm iv. "
4. " (15. Tag): 0,5 ccm iv. "
5. " (20. Tag): 5,0 ccm sbc.
6. " (25. Tag): 5,0 sbc.

Die Titerhöhen des agglutinierenden Serums von Kaninchen Nr. 2 betragen anfänglich 1:16000 (bei LGI und TGI), nach der 4. Impfung jedoch nur mehr 1:8400 (LGI) und 1:3200 bis 1:1600 (TGI) bei Verwendung einer Stammestflüssigkeit (TSI) aus den Proteusstämmen Nr. 5, 10, 14, 15, 19.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	39	26	16	8	43	erfaßt: 89 nicht erfaßt: 43
Mensch	6	10	4	3	11	erfaßt: 23 nicht erfaßt: 11

- 19 -

Das agglutinierende Serum des Vorversuchs erfaßte demnach 112 Proteusstämme einschließlich der homologen Stämme Nr. 5, 10, 14, 15, 19.

Kaninchen Nr. 1 wurde wegen zu starken Titerverlustes aus dem Versuch genommen, Nr. 2 getötet und Nr. 3 ging an Enteritis über.

Die Gesamtauswertung dieser Versuchsergebnisse zeigte, daß mit einem Mischserum dieser Form von sämtlichen 166 Proteusstämmen nur 112 erfaßt werden konnten. Diese Erregungen gaben Veranlassung dazu, für weitere Versuche den Impfadus anzustellen und nur mit Einzelseren zu arbeiten.

3.) Versuch 1.

Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 151
 Kaninchen: Nr. 4
 Impfadus: (siehe allg. Bem. unter B, I, d -g)
 Serumentnahme: am 17. Tage
 Serumtiter: \pm 2000 (LGT)
 2000 (TGT)
 Geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	4	29	30	1	68	erfaßt: 64 nicht erfaßt: 68
Mensch	4	2	5	2	21	erfaßt: 13 nicht erfaßt: 21

Das agglutinierende Serum Nr. 1 erfaßte demnach 77 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 151.

Versuch 2.

Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 91
 Kaninchen: Nr. 5
 Impfadus: wie Versuch 1
 Serumentnahme: am 17. Tag

- 20 -

Serumtiter: 4000 (LGT)
8000 (TGT)
Geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	43	0	0	1	88	erfaßt: 44 nicht erfaßt: 88
Mensch	6	0	0	0	28	erfaßt: 6 nicht erfaßt: 28

Das agglutinierende Serum Nr. 2 erfaßte demnach 50 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 91.

Versuch 3.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 60
Kaninchen: Nr. 6 und VI
Impfaodus: wie Versuch 1
Serumentnahme: am 21. Tag
Serumtiter: 6000 (LGT)
(von Kaninchen
Nr. VI) 3200 (TGT)
Geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	9	0	0	0	123	erfaßt: 9 nicht erfaßt: 123
Mensch	1	0	0	0	33	erfaßt: 1 nicht erfaßt: 33

Das agglutinierende Serum Nr. 3 erfaßte demnach 10 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 60.

Anmerkung: Kaninchen Nr. 6 wegen Titerverlustes aus Versuch genommen; nach 5 Monaten infolge tonisch-klonischer Krämpfe getötet. (Serumtiter 250 LGI, 200 TGT).

- 21 -

Versuch 4.Versuchsordnung:

Impfstamm: St.Nr. 98
 Kaninchen: Nr. 7 und VII
 Impfmodus: wie Versuch I
 Serumentnahme: am 16. Tag
 Serumtiter:
 (von Kaninchen Nr.VII) 4000 (LGT)
 16000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	1:12,5	negativ	
Tier	13	8	0	0	111	erfaßt: 21 nicht erfaßt: 111
Mensch	7	5	2	0	20	erfaßt: 14 nicht erfaßt: 20

Das agglutinierende Serum Nr. 4 erfaßte demnach 35 Proteusstämmen einschließlich des homologen Stammes Nr. 98.

Anmerkung: Kaninchen Nr.7 bereits nach der 2. Impfung infolge Titerverlustes gegenüber Kaninchen Nr.VII aus Versuch genommen.

Versuch 5.Versuchsordnung:

Impfstamm: St.Nr. 24
 Kaninchen: Nr. 9
 Impfmodus: wie Versuch I
 Serumentnahme: am 18. Tag
 Serumtiter: 4000 (LGT)
 8000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

- 22 -

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	15	23	10	1	83	erfaßt: 49 nicht erfaßt: 83
Mensch	5	9	2	1	17	erfaßt: 17 nicht erfaßt: 17

Das agglutinierende Serum Nr. 5 erfaßte demnach 66 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 24.

Versuch 6.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 20
 Kaninchen: Nr. 8 und 10
 Serumentnahme: am 19. Tag
 Seruntiter: 8000 (LGT)
 (von Kaninchen Nr.10) 16000 (TGT)
 ges. Eft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	1	1	2	2	126	erfaßt: 6 nicht erfaßt: 126
Mensch	1	0	0	0	33	erfaßt: 1 nicht erfaßt: 33

Das agglutinierende Serum Nr. 6 erfaßte demnach 7 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 20.

Anmerkung: Kaninchen Nr. 8 am 7. Tag an haemorrhagischer Tracheitis und Pneumonie eingegangen.

- 23 -

Versuch 7.Versuchsordnung:

Impfstamm: St.Nr. 33
 Kaninchen: Nr.11, 12 und XII
 Impfmodus: wie Versuch I
 Serumentnahme: am 16. Tag
 Seruntiter: 8000 (LGT)
 (von Kaninchen Nr.XII) 8000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d.Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	12	0	0	0	120	erfaßt: 12 nicht erfaßt: 120
Mensch	0	0	0	0	34	erfaßt: 0 nicht erfaßt: 34

Das agglutinierende Serum Nr. 7 erfaßte demnach 12 Proteusstäme einschließlich des homologen Stammes Nr. 33.

Anmerkung: Kaninchen Nr. 11 am 8. Tag an hämorrhagischer Tracheitis und Lungeneophyse eingegangen. Kaninchen Nr. 12 in Seruntiter niedriger (4000 LGT, 6000 TGT) als Kaninchen Nr. XII.

Versuch 8.Versuchsordnung:

Impfstamm: St.Nr. 34
 Kaninchen: Nr. 13
 Impfmodus: wie Versuch I
 Serumentnahme: am 20. Tag
 Seruntiter: 3200 (LGT)
 8000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

- 24 -

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negat.	
Tier	1	0	0	0	131	erfaßt: 1 nicht erfaßt: 131
Mensch	0	0	0	0	34	erfaßt: 0 nicht erfaßt: 34

Das agglutinierende Serum Nr. 8 erfaßte nur den homologen Stamm Nr. 34.

Versuch 9.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 43
 Kaninchen: Nr. 14
 Impfaodus: wie Versuch 1
 Serumentnahme: am 16. Tag
 Serumtitel: 8000 (LGT)
 8000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negat.	
Tier	18	3	0	2	109	erfaßt: 23 nicht erfaßt: 109
Mensch	2	1	1	0	30	erfaßt: 4 nicht erfaßt: 30

Das agglutinierende Serum Nr. 9 erfaßte demnach 27 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 43.

- 25 -

Versuch 10.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 51
 Kaninchen: Nr. 15
 Impfaodus: wie Versuch 1
 Serumentnahme: am 16. Tag
 Serumtiter: 16000 (LGT)
 8000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	1:25	negativ	
Tier	24	1	1	2	104	erfaßt: 28 nicht erfaßt: 104
Mensch	9	0	2	0	23	erfaßt: 11 nicht erfaßt: 23

Das agglutinierende Serum Nr. 10 erfaßte demnach 39 Proteusstämmen einschließlich des homologen Stammes Nr. 51.

Versuch 11.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 54
 Kaninchen: Nr. 16 und 22
 Impfaodus: wie Versuch 1
 Serumentnahme: am 13. Tag
 Serumtiter: 16000 (LGT)
 (von Kaninchen Nr. 22) 16000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

- 26 -

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negat.	
Tier	1	4	4	0	123	erfaßt: 9 nicht erfaßt: 123
Mensch	0	0	1	0	33	erfaßt: 1 nicht erfaßt: 33

Das agglutinierende Serum Nr. 11 erfaßte demnach 10 Proteusstämmen einschließlich des homologen Stammes Nr. 54.

Anmerkung: Kaninchen Nr. 16 am 11. Tag an infektiöser Rhinitis eingegangen.

Versuch 12.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 62
 Kaninchen: Nr. 17, 21 und 24
 Impfmodus: wie Versuch 1
 Serumentnahme: am 20. Tag
 Serumtiter: 1600 (LGT)
 (von Kaninchen Nr. 24) 2000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negat.	
Tier	2	1	0	0	129	erfaßt: 3 nicht erfaßt: 129
Mensch	0	0	1	0	33	erfaßt: 1 nicht erfaßt: 33

Das agglutinierende Serum Nr. 12 erfaßte demnach 4 Proteusstämmen einschließlich des homologen Stammes Nr. 62.

Anmerkung: Kaninchen Nr. 17 und 21 gingen am 7. Tag an denselben Erscheinungen wie Kaninchen Nr. 16 ein.

- 27 -

Versuch 13.Versuchsordnung:

Impfstamm: St. Nr. 74
 Kaninchen: Nr. 18
 Impfmodus: wie Versuch 1
 Serumentnahme: am 18. Tag
 Seruatiter: 4000 (LGT)
 4000 (TGT)
 geprüft an: 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	1:12,5	negativ	
Tier	10	9	4	4	105	erfaßt: 27 nicht erfaßt: 105
Mensch	4	1	1	1	27	erfaßt: 7 nicht erfaßt: 27

Das agglutinierende Serum Nr. 13 erfaßte demnach 34 Proteusstämme einschließlich des homologen Stammes Nr. 74.

- Anmerkung: a) Gleichzeitig waren noch in Versuch gesetzt: St. Nr. 75 (Kaninchen Nr. 19 und 23); dieser Versuch wurde jedoch abgebrochen, da das inzwischen von Versuch 13 (Impfst. Nr. 74) gewonnene agglutinierende Serum Nr. 13 bereits den Stamm Nr. 75 agglutinierte. Kaninchen Nr. 19 ging an denselben Erscheinungen wie Kaninchen Nr. 16 ein und Kaninchen Nr. 23 wurde aus dem Impfversuch genommen.
- b) Auch der bis dahin noch nicht erfaßte Stamm Nr. 123 wurde als Impfstamm mit Kaninchen Nr. 20 in Versuch gesetzt. Während dieses Versuches erwies es sich, daß der Stamm Nr. 123 vom agglutinierenden Serum Nr. 13 erfaßt wurde, sodaß dieser Impfversuch abgebrochen werden konnte.

Mit den 13 hergestellten Sera wurde in 372 Fällen eine Schnollagglutination auf dem Objektträger in Verdünnungen von 1:25 bis 1:100 mit einer mindestens noch schwach positiven Reaktion (+) ermittelt.

Eine spezifische Reaktion wurde auch dann noch anerkannt, wenn sie die

- 28 -

schwächste Reaktion (+) bei Verdünnungen von 1:25, 1:50 oder 1:100 aufzeigte.

Bei dem tabellarischen Vergleich der Agglutinationsergebnisse der Schnellagglutination (= Tropfenagglutination) von 166 Stämmen an 13 verschiedenen Einzelseren konnten 112 Stämme einwandfrei als zu einer der 13 Serumgruppen zugehörig erkannt werden, weil diese 112 Stämme mit jeweils einem Serum der 13 verschiedenen agglutinierenden Seren einen Agglutinationstiter aufwiesen, der mit den übrigen 12 Seren nicht erreicht wurde. So z.B. agglutinierte der Proteusstamm Nr. 30 mit den agglutinierenden Seren der Gruppen 1, 2, 3, 6, 7, 8, 9, 10, 12 und 13 überhaupt nicht; mit den agglutinierenden Seren der Gruppen 4 und 11 erreichte der im Beispiel behandelte Stamm Nr. 30 nur geringe Agglutinationswerte in Höhen von 1:25 bzw. 1:50, und zwar mit Serum Nr. 4 eine Titerhöhe von 1:50 (+), mit Serum Nr. 11 eine Titerhöhe von 1:50 (+). Demgegenüber agglutinierte der Stamm Nr. 30 mit dem Serum Nr. 5 bei einer Titerhöhe von 1:100 stark positiv (+++). Diese deutlichen Unterschiede berechtigten dazu, den Stamm Nr. 30 in die Gruppe des Serums Nr. 5 einzureihen (vgl. Tab. 3).

In analoger Weise konnten nach diesem Verfahren die nachfolgend aufgeführten 112 Proteusstämmen (u.zw. Stamm Nr. 1 mit 14, 16 mit 21, 23, 24, 28 mit 30, 33, 34, 36 mit 41, 43 mit 46, 50 mit 52, 54 mit 58, 60 mit 62, 64 mit 44, 68, 69, 71, 73, 74, 78, 81, 83, 84, 88, 90, 91, 93 mit 98, 102, 104, 105, 110 mit 115, 117, 119 mit 124, 126 mit 130, 132, 135 mit 137, 139, 142, 145 mit 147, 151, 153 mit 160, 162, 165) in einer der 13 Gruppen untergebracht werden.

Aus dieser Aufzählung ergibt sich, daß noch 54 Stämme verbleiben, für die eine Gruppenzugehörigkeit nicht ohne weiteres ausgesprochen werden konnte, da diese besagten 54 Stämme mit mehreren Seren den gleichen oder annähernd gleichen Agglutinationswert aufgewiesen hatten. Es mußte also eine Auswertung bis zum Endtiter mittels der Ausagglutination in Reihen (Langsamagglutination) erfolgen. Dabei wurde jeder Stamm mit denjenigen agglutinierenden Seren geprüft, von denen er in gleicher oder annähernd gleicher Reaktion bei der Schnellagglutination auf dem Objektträger erfaßt worden war.

Diese Ausagglutination wurde mit nachfolgend beschriebener Versuchsanordnung durchgeführt:

a) Herstellung von Testflüssigkeit (LGT) von den folgenden 54 Stämmen:
15, 22, 25, 26, 27, 31, 32, 35, 42, 47, 48, 49, 53, 59, 63, 67, 70, 72, 75, 77, 79, 80, 82, 85, 86, 87, 89, 92, 99, 100, 101, 103, 106, 107, 108, 109, 116, 118, 125, 131, 133, 134, 138, 140, 143, 144, 148, 149, 150, 152, 161, 163, 164, 166.

Mit jedem Stamm wurde eine Agarplatte gitterartig durchstreichend beimpft, Inkubation 24 Std. bei 37° C, Abschaumen je Kulturplatte mit 10,0 ccm

- 29 -

Karb.NaCl, Filtration durch Watte, Dichtigkeitsanpassung durch optische Ermittlung an Vergleichstestflüssigkeiten aus den Versuchen 1 mit 13;

- b) zur Verwendung kamen die agglutinierenden Seren Nr. 1 mit 7 und 9 mit 13, jeweils in der Verdünnung von 1 : 320. Ablesezeit nach 24 und 48 Std.

Die nachfolgende Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse dieser Auswertung auf. Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, wiesen also die meisten der untersuchten 54 Stämme, die in der Schnellagglutinationsprobe fast den gleichen Titer gezeigt hatten, im Gegensatz dazu bei der Langsamagglutination verschieden hohe Endtiter auf. Nach der Höhe dieses jetzt ermittelten Endtiters wurden die betr. Stämme dann als zugehörig zu der jeweiligen Serumgruppe betrachtet. *)

Lediglich 5 Stämme (St.Nr. 35, 63, 72, 140, 143) zeigten einen Titer < 1:1600, weil bei der angewandten Grundverdünnung (1:320) die unter 1:1600 liegenden Werte nicht ersichtlich waren (s.S. 15).

Es war also nötig, diese restlichen 5 Stämme nochmals gegen die in Frage stehenden Seren auszuagglutinieren und zwar nunmehr in Verdünnungen von 1:1600 abwärts bei einer Grundverdünnung von 1:40. Die hierbei erzielten Resultate sind in der Tabelle 2 niedergelegt und weisen nun einwandfrei die Zugehörigkeit der 5 Stämme zu den betr. agglutinierenden Seren auf.

Tabelle 2
Titerhöhen der 5 restlichen Stämme
(Verdünnung 1: 40)

St. Nr.	Agglutinierendes Serum Nr.													Titerhöhen		
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13				
35					(x)									x	1000	400
63	x				(x)										1000	1500
72	(x)				x										800	500
140	x				(x)										400	600
143					(x)									x	1000	200

Bei diesem Versuch stellte sich heraus, daß 4 Stämme mit dem Serum Nr. 5 in Verdünnungen von 1:600 bis 1:1500 agglutiniert wurden und 1 Stamm mit dem Serum Nr. 1 in der Verdünnung 1:800.

Dannach erfassen die obigen Seren nachfolgende Anzahl von Stämmen:

*) Tabelle 1 Anhang.

- 30 -

Serum Nr.	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13
Anzahl d. Stämme	1	7	1	-	7	1	4	10	19	1	1	2

d.s. insgesamt 54 Stämme.

Die nachfolgende Zusammenstellung (Tabelle 3) ermöglicht eine Beurteilung der Leistungsfähigkeit der einzelnen Seren. *)

Das Serum Nr. 8 agglutinierte nur den homologen Stamm, es zeigte damit die geringste Wirkungsbreite. Das Serum Nr. 1 vermochte die meisten Stämme in den erwähnten Verdünnungen zu erfassen. Obwohl mit dem Serum Nr. 2 eine geringere Anzahl von Stämmen agglutinatorisch erfaßt wurde, agglutinierte dieses Serum die meisten Stämme noch in der Verdünnung 1:100 in starker Reaktion (+++). Die übrigen Sera zeigen eine zwischen dem Serum Nr. 1 und dem Serum Nr. 8 gelegene Wirkungsbreite.

Mit den in den Versuchen 1 mit 13 hergestellten 13 agglutinierenden Seren sind, wenn auch zahlenmäßig unterschiedlich, so jedoch in der Gesamtwertung eindoutig, alle 166 Proteusstäme zu erfassen. Daraus ergibt sich in weiterer Folgerung die Annahme, ob ein aus den 13 Einzelseren hergestelltes Summationsserum ebenfalls alle 166 Stämme erfassen kann.

4.) Versuch 14.

Bei der Agglutination der 166 Stämme mit dem Summationsserum mußten die besonders gelagerten serologischen Eigenschaften eines solchen zusammengesetzten Serums entsprechende Berücksichtigung finden. Den bisherigen Tropfenagglutinationen mit den verschiedenen Seren lag in der Grundverdünnung 1:5 als Einheit 0,2 ccm Serum zugrunde; der in dieser Serummenge von 0,2 ccm vorhandene Gehalt an Agglutininen mußte auch in den Serumanteilen des Summationsserums vorhanden sein. Die einzelnen Sera wirken nämlich bei der Summation gegeneinander als Verdünnung; es mußte also jedes der 13 Seren in einer 13 mal höheren Konzentration im Summationsserum vertreten sein um infolge der erlittenen Verdünnung noch mit den in der Serumeinheit von 0,2 ccm enthaltenen wirksamen agglutinierenden Faktoren reagieren zu können. Die danach erforderliche Serummenge ergibt sich aus nachfolgender Gleichung:

$$13 \times 0,2 : 1 = 1 : 5$$

13

$$\frac{2,6}{13} : 1 = 1 : 5$$

13

*) Tabelle 3 Anhang

- 31 -

$$\frac{2,6}{13} \times 5 = 1 \times 1$$

$$\frac{13,0}{13} = 1$$

$$1 = 1$$

d.h. das Mischungsäquivalent ($0,2 \times 13 = 2,6$) ist damit gegeben.

Versuchsordnung:

Seren I mit 13.
 Grundverdünnung 1 : 5
 daraus Arbeitsverdünnungen 1 : 25, 1 : 50 und 1:100 wie unter B,1,0
 beschrieben,
 geprüft an 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	d.Stämme:	1:100	1:50	1:25	<1:25	
Tier	104	19	8	1	0	erfaßt: 132 nicht erfaßt: 0
Mensch	24	3	5	2	0	erfaßt: 34 nicht erfaßt: 0

Das Summationsserum erfaßte somit, wenn auch mit verschiedenen Titerhöhen bei der Schnellagglutination, 132 Proteusstämme vom Tier und 34 Proteusstämme vom Menschen, also sämtliche zur Untersuchung beigezogenen 166 Stämme. Der gelungene Versuch räumt die Annahme ein, ob mit den ermittelten 13 Einzelstämmen ein agglutinierendes Mischserum herzustellen ist, das ebenso wie das Summationsserum alle erforderlichen agglutinierenden Faktoren enthält.

5.) Versuch 15.

Versuchsordnung:

Impfstämme: St.Nr. 20,24,33,34,43,51,54,60,62,74,91,98,151.
 Kaninchen: Nr. 25 und XXV.

- 32 -

Impfandus: da sehr starke Tiere, wurden die einzelnen Dosen erhöht:

1. Impfung (1.Tag)	7,0 ccm subc.
2. " (5.Tag)	0,7 ccm i.v.
3. " (10.Tag)	1,2 ccm i.v.
4. " (15.Tag)	1,7 ccm i.v.
5. " (20.Tag)	0,2 ccm intracutan
6. " (25.Tag)	1,5 ccm i.v.
7. " (30.Tag)	1,5 ccm i.v.
8. " (35.Tag)	1,5 ccm i.v.

Serumentnahme: am 21. Tag (Kaninchen Nr. 25)
am 40. Tag (Kaninchen XXV).

Serumtiter: 4000 (LGT) (Kaninchen Nr.25)
2400 (TGT) (Kaninchen Nr.25)
3200 (LGT) (Kaninchen Nr.XXV)
2400 (TGT) (Kaninchen Nr.XXV),

Serum von Kaninchen Nr. 25 geprüft an 166 Stämmen.

Versuchsergebnis:

Herkunft d. Stämme:	Agglutinationswerte					Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25	negativ	
Tier	65	16	15	29	7	erfaßt: 125 nicht erfaßt: 7
Mensch	6	4	5	13	6	erfaßt: 28 nicht erfaßt: 6

Das agglutinierende Mischserum erfaßte demnach nur 153 Proteusstämme, einschließlich der homologen Stämme Nr. 20, 24, 33, 34, 43, 51, 54, 60, 62, 74, 91, 98, 151.

Anmerkung: Da Kaninchen Nr. 25 bereits nach der 4. Impfung einen befriedigenden Titer von 1:4000 zeigte, wurde es getötet. Mit Kaninchen Nr. XXV wurde versucht durch weitere Impfungen den Titer hinaufzutreiben, nach der 5. Impfung jedoch trat Titerabfall (von 4000 auf 3200 bzw. 2400) ein, sodaß mit dem Serum dieses letztgenannten Versuchstieres keine Agglutinationen durchgeführt wurden.

Wie der Versuch ergab, konnte das Mischserum im Vergleich zum Summationsserum 13 Stämme nicht erfassen.

- 13 -

Es verbleibt demnach für eine praktische Auswertung zur Erfassung von Proteusstämmen in der Glattform nur das Summationsserum. Dieses aber wiederum nur unter der Voraussetzung, daß es in der Praxis spezifisch wirkt, d.h. nicht auch andere gramnegative Stäbchen, z.B. die in der Bakteriologischen Fleischuntersuchung bedeutsamen Paratyphacacemiterfaßt.

Die nahen biochemischen Beziehungen der Proteuskeime zu den Keimen der Paratyphus-Enteritis-Gruppe ließen es erforderlich erscheinen, zahlreiche Paratyphus-Enteritis-Stämme verschiedener Gruppen und Typen (u.S.IZ) im Agglutinationsverfahren mit dem im Versuch 14 hergestellten Summationsserum zu prüfen.

Diese Nachprüfung erschien schon deshalb erforderlich, da auch das Schrifttum auf Verwandtschaftsreaktionen agglutinatorischer Art mit anderen gramnegativen Stäbchen, z.B. B.Bang aufmerksam gemacht hat.

6.) Versuch 15.

Versuchsordnung:

Serum, Grund- und Arbeitsverdünnungen wie Versuch 14, geprüft an 55 Paratyphus-Enteritis-Stämmen und an 1 Intermediusstamm (namentliche Aufzählung s.8,1,b).

Versuchsergebnisse:

	Agglutinationswerte				Bemerkungen:
	1:100	1:50	1:25	<1:25 negat.	
Anzahl d.Stämme	5	2	9	15	25
	erfaßt: 31				
	nicht erfaßt: 25				

Das für B.proteus hergestellte Summationsserum erfaßte bzw. mitagglutinierte, wenn auch nur in teilweise geringen Titerhöhen 31 der untersuchten 55 Paratyphus-Enteritis-Stämme; 25 Stämme wurden nicht mitagglutiniert. Diese Ergebnisse sind in der nachfolgenden Tabelle 4 zusammengestellt. *)

Zu den erzielten Agglutinationsbildern an Paratyphus-Enteritis-Stämmen ist zu bemerken, daß die hier erreichte Zusammenballung in allen Fällen nur eine teilweise war. Neben flockig zusammengeballten Bakterien enthielt die Bakterionaufschwemmung noch zahlreiche nicht agglutinierte Keime, die ihr ein trübes, noch milchiges Aussehen verliehen. Was die Zusammenballungen

*) Tabelle 4 Anhang

- 34 -

anlangt, so glichen diese mehr jenen von H-Agglutinationen; sie waren weniger trocken und körnig. Aus diesem Grunde wurde auch eine besondere Zeichenerklärung zur Tabelle 4 beigelegt.

C. ZUSAMMENFASSUNG.

Die Versuche erstreckten sich über einen Zeitraum von August 1949 bis Oktober 1950.

Es wurde mit 166 Proteus-, 55 Paratyphus-Enteritis-Stämmen und 1 Intermediusstamm gearbeitet. Es wurden agglutinierende Seren für B. proteus in Form von 2 Mischseren (Vorversuch und Versuch 16), 1 Summationsserum (Versuch 15) und 13 Einzelseren (Versuch 1 mit 13) hergestellt.

29 Kaninchen wurden in Versuch genommen.

An Agglutinationen wurden durchgeführt:

ca. 8200 Tropfenagglutinationen und

ca. 3100 Reihenagglutinationen.

Die in den vorangehenden 16 Versuchen ermittelten Ergebnisse führten zu grundlegenden Feststellungen, die nur zum Teil durch das bisher erschienene Schrifttum aufgezeigt wurden. In Übereinstimmung mit den im Schrifttum niedergelegten Hinweisen konnte auch in eigenen Versuchen an zahlreichen Proteusstämmen verschiedener Herkunft von Mensch und Tier beobachtet werden, daß die Proteus-O-Antigene vielartiger Natur sind und daß deshalb zur Erfassung der hier untersuchten 166 Proteusstämmen nicht weniger als 13 verschiedene O-Antigen-Seren notwendig waren. Die eigenen Untersuchungsergebnisse berechtigen zu dem Schluß, daß jede Erhöhung der Zahl der zur Untersuchung stehenden Proteusstämmen einer erhöhten Anzahl von agglutinierenden Proteusseren zur ihrer Erfassung bedarf.

Dieses Erkenntnis setzt der Anwendung eines Summationsserums Grenzen, weil schließlich keine Möglichkeit gesehen wird aus einer Vielzahl verschiedener agglutinierender Proteusseren noch ein Summationsserum herzustellen, das für die serologische Identifizierung aller bei diagnostischen Untersuchungen vorkommenden Proteusstämmen in den hierüber erforderlichen Serumverdünnungen verwertbar ist.

Den serologischen Untersuchungen mit Hilfe der Agglutination unter Verwendung spezifischer O-Antigen-Seren zur zuverlässigen Ermittlung aller in der Glättform auftretenden Proteusstämmen kann darnach eine praktische Bedeutung nicht zuer-

- 35 -

kannt werden; insbesondere wird keine Möglichkeit gesehen, dieses Identifizierungsverfahren im Rahmen der bakteriologischen Fleischuntersuchung anzuwenden.

Zu den bisher erwähnten Folgerungen gesellt sich noch die weitere beachtliche Feststellung eigener Versuche, daß die Proteus-Antigen-Seren, wenn auch nur unvollständige, so doch auffällig starke Mitagglutinationen mit zahlreichen Keimen der Paratyphus-Enteritisgruppe gezeigt haben, welche speziell einer Anwendung der zuverlässigen Unterscheidung von Proteus- und Paratyphus-Enteritis-Keimen auf serologischem Wege entgegenstehen.

Nachdem diese bedeutsamen Beobachtungen von veterinärmedizinischer Seite bisher im Schrifttum noch nicht behandelt wurden, will ausdrücklich darauf verwiesen werden, daß unter 55 untersuchten Paratyphus-Enteritis-Stämmen 31 Stämme mehr oder weniger ausgeprägte Mitagglutination aufwiesen. Dabei verdienen besondere Erwähnung die ausgeprägten Agglutinationsergebnisse mit *B. paratyphi A* und Typ *B. paratyphi A* Senftenberg, *B. paratyphi abortus ovis* und *B. pullorum*, welche den restlichen Agglutinationen an Stärke wesentlich überlegen waren. Die hier beobachteten Agglutinationen betrafen demnach vornehmlich Keime aus der Paratyphus A-, -B- und -D-Gruppe, also Stämme, die nach der Kauffmann-White-Antigen-Tabelle (Boecker (5)) neben anderen gemeinsam den O-Antigenfaktor XII enthalten.

Der hier an einem umfangreichen Untersuchungsmaterial gewonnene Einblick berechtigt zu der Schlußfolgerung, daß es auf serologischem Wege unter Anwendung des Agglutinationsverfahrens mit O-Antigen-Seren nicht gelingt, die in der Glattform auftretenden Proteuskeime mit Sicherheit anzusprechen. Bei der Bedeutung aber, die einen einfachen und zuverlässigen Feststellungsverfahren der Proteusbakterien und ihrer Unterscheidung von den Paratyphus-Enteritis-Keimen in der bakteriologischen Fleischuntersuchung zukommt, wird man nach einem anderen Ermittlungsverfahren Ausschau halten müssen und dabei in erster Linie an die biochemische Identifizierung dieser Erreger denken.

Die Mitagglutinationen spezifischer O-Antigen-Seren der Proteusbakterien mit den erwähnten Paratyphus-Enteritis-Keimen geben Veranlassung die O-Antigenstruktur der Proteusbazillen eingehend zu studieren und dabei vornehmlich auf verwandtschaftliche Beziehung dieser Erreger zu den Paratyphus-Enteritiskeimen zu achten.

-- 36 -

Am Schlusse meiner Arbeit, sei es mir gestattet, meinen herzlichsten Dank auszusprechen dem Direktor der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung in Schleiðholm, Herrn Professor Dr. Hugo G r a u , für die freundliche Überlassung des Themas und die großzügige Bereitstellung des Versuchsmaterials,

und Herrn Regierungsveterinärarzt Dr. H o p f e n g ä r t n e r , der mir bei der Durchführung der Versuche in kollegialer Weise stets mit Rat und Tat zur Seite stand.

An dieser Stelle sei ferner gedankt für die bereitwillige Überlassung von Proteuskulturen

Herrn Oberregierungsrat Dr. B e c k ,
Staatliche Veterinäruntersuchungsanstalt, Nürnberg,
Herrn Städt. Veterinärarzt Dr. S c h r a m l ,
Schlachthof München,
Herrn Dr. S t e i n e r t ,
Staatliche Bakteriologische Untersuchungsanstalt München.

- 37 -

D. SCHRIFTTUMSVERZEICHNIS.

- 1.) Aoki, K. u. Jizuka, N.: Studien über die Unterarten der Proteusbazillen. (Die gekreuzte Agglutination als ein Diff. Verfahren der Bakt. Unterarten). Zbl.f.Bakt., I., Ref. 15, 160, 1923-24.
- 2.) Archer, G.T.A.: Notes on the proteus group of organisms with special reference to a case of renal infection by a member of this group. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 107, 26, 1932.
- 3.) Bischoff, H. u. Breckenfeld: Über Proteusmeningitis im Säuglingsalter. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 80, 478, 1925-26.
- 4.) Blau: Der heutige Stand der Diagnostik der "Fleischvergiftungsbakterien" mittels der bakteriologischen Fleischschau. Zeitschr.f.fleisch- und Milchhygiene, XXIII, 534, 1913.
- 5.) Boeckar, E.: Praktische Diagnostik der Bazillen der Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe, der Ruhrgruppe und der Coli-Gruppe. Verl. G. Fischer, Jena, 1948.
- 6.) Boecker-Kaufmann: Bakteriologische Diagnostik. Verl. J. Springer, Berlin, 1931; 177, 178.
- 7.) Buchwald, Hildegard: Untersuchungen über Normalagglutinine gegen Proteus-X-Stämme. Zeitschr.f.Imm.Forsch., Orig. 99, 418, 1941.
- 8.) Domnitz, A.: Ein Beitrag zur Rolle des B. proteus bei bakteriellen Nahrungsmittelvergiftungen. Zeitschr.f.fleisch- u. Milchhygiene, 30, 306.
- 9.) Engel, C.: Über Bacterium proteus und Ruhr. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 68, 360, 1919.
- 10.) Felix, A.: Über Varianten der Proteus X-Stämme. Ztschr.f.Imm.Forsch., Orig., 35, 95, 1923.
- 11.) Felix und Mitzenmacher: Weitere Untersuchungen über den Nachweis der O- und H-Rezeptoren bei den Proteusstämmen. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 62, 509, 1919.
- 12.) Gerschon, Garry (Jerusalem): Beitrag zu den pathogenen Eigenschaften des Proteus vulgaris. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 102, 75, 1933.

- 38 -

- 13.) G i n z e l , B.: Agglutiniaring des Proteus vulgaris durch Schweino-
serum. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 133, 200, 1939.
- 14.) G r a y , J.D. Allan (Bristol): Gastro-enteritis associated with proteus
vulgaris. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 128, 168, 1938.
- 15.) G r o o t , P.S.: Recherches sur Bacterium (proteus) anindologenes.
Zbl.f.Bakt., I., Ref. 70, 85, 1920-21.
- 16.) G r u n t f e s t , M.: Zur serologischen Charakteristik der Proteus X-
19-Stämme verschiedener Herkunft.
Zbl.f.Bakt., I., Ref. 109, 423, 1933.
- 17.) H a n a w a , S.: Immunsatorische Studien über Proteusbazillen.
Ztschr.f.Imm.Forschg., Orig. 82, 439, 1934.
- 18.) H a n a w a , S.: Immunsatorische Studien über Proteusbazillen.
Ztschr.f.Imm.Forschg., Orig. 82, 449, 1934.
- 19.) H e y m a n n , B. und Y a n g , I.: Untersuchungen über Agglutinations-
reaktionen zwischen der Brucella- und Proteus-Gruppe.
Ztschr.f.Hyg.u.Inf.Krankh., 114, 545, 1933.
- 20.) v a n d e r H o e d e n , J.: Ziektegevallen bij den mensch, veroorzaakt
door bacterium proteus (Hauser).
Zbl.f.Bakt., I., Ref. 111, 408, 1933.
- 21.) H o p f e n g ä r t n e r , M.: Über die Bedeutung des Bact.proteus
vulgaris und die Möglichkeit gegen die Infektion aktiv zu
immunisieren. MfW., 77, 341, 1926, Nr. 26.
- 22.) H o r o v i t z , Aimée: Contribution à l'étude du genre Proteus vulgaris.
Zbl.f.Bakt., I., Ref. 67, 489, 1919.
- 23.) H u m b u r s k y , H. (Pressburg): Die Proteusgruppe und ihre
Agglutinationsfähigkeit.
Zbl.f.Bakt., I., Ref. 128, 168, 1938.
- 24.) H u s s , R.: Über das Vorkommen von Proteusstämmen, die von Typhus-,
Paratyphus- und Dysenterieseren agglutiniert werden.
Zeitschr.f.Fleisch-und Milchhygiene. 47, 140, 1937.
- 25.) K a p u s t k o , M., P o m e r a n z o w , A. und M y l n i k o w a ,
R.: Beobachtungen über Proteusinfektion der Harnwege.
Zbl.f.Bakt., I., Ref. 97, 475, 1930.

- 39 -

- 26.) Kauffmann, F. and Pärch, Beate: On The Occurrence of Proteus X Strains In Denmark. Separat.Act.pathol. Vol. XXIV, Fasc. 2, 1947.
- 27.) Kolle-Kraus-Uhlenhuth: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen. Verl.G.Fischer und Urban & Schwarzenberg, Jena, Berlin und Wien, I, II, III, VIII, 1929.
- 28.) de la Lastra Soubrier, J.M. Estudio antigenico comparativo de la razas X-Proteus y de la R. Prowazoki. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 144, 173, 1944.
- 29.) Lodenkämpfer H. u. Ballies, W.: Über Lebensmittelvergiftungen besonders durch Proteus. Zeitschr.f.Fleisch-u.Milchhygiene. 51, 274, 1941.
- 30.) Maccolini, Roberto (Inst. f.Hyg.u.Mikrobiol., Bologna): Über einen neuen in einigen Bact.proteus-Stämmen beobachteten Dissoziationstyp. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 137, 90, 1940.
- 31.) Miles, A.A. and Malnan, E.T. (Dept. of pathology, Cambridge). A new species of mikro-organism (proteus melanovogenes) causing blackrot in eggs. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 126, 382, 1937.
- 32.) Nammack, Ch. and Bittmann, Fl.R. (New York, N.Y.): A typhoidlike infection associated with an organism resembling bacillus proteus pseudovaleriae (De Assis). Zbl.f.Bakt., I., Ref. 116, 245, 1935.
- 33.) Noury, M.: Trachome et Proteus. Etude d'une germe argant la propriété d'être agglutiné par le sérum de malades atteints de trachome. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 129, 512, 1938.
- 34.) Ottino, C. (Turin). Ricerche sul Bacterium proteum. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 105, 417, 1932.
- 35.) Pandit, S.R. (King Institute, Guindy, Madras): The proteus group: Observations on 25 strains maintained at the King Institute, Madras. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 123, 316, 1936.

- 40 -

- 36.) P e r c h , B.: On the serology of the Proteus group. Acta path.microbiol. scand. 25, 703-714, 1948.
- 37.) R i m b a u d , L., S e i l h a n , R., S e r r e R. et B o n g a r d , M.: Septicémie à "proteus". Zbl.f.Bakt., I., Ref. 144, 395, 1944.
- 38.) R o l l e , M.: Mikrobiologie und allgemeine Seuchenlehre. Verl.F.Enko, Stuttgart, 245, 1949.
- 39.) S a c q u é p é e , E., de L a v e r g n e et D e h o r n e , A.: Infection à proteus dans des plaies de guerre. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 71, 155, 1921.
- 40.) S i l b e r , L.: Über Paraimmunität. Zbl. f.Bakt., I., Ref. 86, 352, 1927.
- 41.) S o n n e n s c h e i n , C.: Proteus-X-19-Agglutination bei Proteusinfektion. (Zur Thacrie der Weil-Felix-Reaktion auf Fleckfieber). Zbl.f.Bakt., I., Ref. 71, 399, 1924.
- 42.) S ö n n e n s c h e i n , C.: Pseudo-Weil-Felixsche Reaktion bei Proteusinfektion. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 78, 112, 1925.
- 43.) T a y l o r , J.F. (St.Thomas Hosp., London): B.proteus-infektions. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 94, 34, 1929.
- 44.) T r i f f e r e r , Theresia: Zusammenhang zwischen der Weil-Felixschen Reaktion und der Präzipitation des O-Antigens des Proteusbazillus X 19. Ztschr.f.Imm.Forschg., Orig. 104, 41, 1943.
- 45.) W e i l und F e l i x : Untersuchungen über die gewöhnlichen Proteus-Stämme und ihre Beziehung zu den X-Stämmen. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 68, 509, 1919.
- 46.) W e i n b e r g et O t t e s c o : B.proteus des plaies de guerre. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 73, 79, 1922.
- 47.) W i n k l e , S. (Rob.Koch Institut, Berlin): Zur Typendifferenzierung in der Gattung Proteus Hauser. Zbl.f.Bakt., I., Orig. 151, 494-501, 1945.

- 41 -

- 48.) W i n k l e , Stefan: Die Bedeutung der Proteus-Antigen-Analyse. Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie, Verl. Joh. Ambr. Barth, Leipzig, 1948, Heft 4.
- 49.) Y a c o b , M. (Baltimore): Studies of the Genus Proteus. Zbl.f.Bakt., I., Ref. 107, 220, 1932.

- 42 -

LEBENS LAUF .

Ich, Anselm Franz Otto W i r s c h i n g bin am 2. August 1917 in Pasing geboren als Sohn des Kunstmalers Otto Wirsching und seiner Ehefrau Aranka, geb. Kovács.

Von 1923 - 27 besuchte ich die Volksschule in Dachau und trat dann auf das Mittelsbacher Gymnasium in München über, an welchem ich 1936 die Reifeprüfung ablegte. Vor Aufnahme des Studiums hatte ich den damals obligatorischen Arbeitsdienst abzuleisten.

Vom Wintersemester 1936 bis zum Sommersemester 1939 studierte ich an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München. Infolge Schließung der Fakultät bei Kriegsausbruch wechselte ich nach Berlin, wurde dann 9 Monate zum Heeresdienst eingezogen und im Oktober 1940 wieder zum Studium beurlaubt. Die zwei anschließenden Trimester studierte ich an der Tierärztlichen Hochschule in Wien und legte dort im April 1941 die Approbationsprüfung ab.

Daran anschließend stand ich bis Kriegsende im tierärztlichen Heeresdienst und kehrte Ende 1947 aus britischer Gefangenschaft in Ägypten in meinen Heimatort Dachau zurück, wo ich seitdem als prakt. Tierarzt tätig bin.

Vorliegende Arbeit begann ich im August 1949 und beendete sie im Oktober 1950.

- 43 -

Anhang.

(Versuchsprotokolle)

Die Tabellen mit den Agglutinationsergebnissen zum Vor-
versuch und den Versuchen 1 mit 15 befinden sich nur in
der Originalarbeit.

TABLE 1

Zusammenstellung der 54 Stämme nach der Titerhöhe.

(Verdünnung 1:320)

St. Nr.	Agglutinierendes Serum Nr.													Titerhöhen	
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	11	12	13			
15	x								(x)				1 600	8 000	
22				x					(x)				1 600	8 000	
25				x					(x)				1 600	12 000	
26				x			(x)						1 600	4 800	
27	x								(x)				1 600	12 000	
31	x								(x)				1 600	12 000	
32					x				(x)				1 600	8 000	
35					x						x		1 500	1 600	
42	x	(x)											1 600	32 000	
47	x				x				(x)				1 600	1 600	
48					x			(x)					1 600	12 000	
49				x				(x)					1 500	8 000	
53							x					(x)	1 600	4 800	
59					x			(x)					1 600	8 000	
63	x				x								1 600	1 600	
67	x					x				(x)			1 600	1 600	
70				x					(x)				1 600	8 000	
72	x				x								1 600	1 600	
75											(x)	x	6 400	1 600	
77		x					(x)						1 600	6 400	
79			x					(x)					1 600	16 000	
80			x					(x)					4 000	32 000	
82				x					(x)				3 200	16 000	
85		(x)			x								16 000	1 600	
86		(x)			x							x	32 000	4 000	
87		(x)			x				x				32 000	1 600	
89		(x)						x					12 000	1 600	
92				x					(x)				4 800	16 000	
99	x	(x)											1 600	12 000	
100				x								(x)	1 600	32 000	
101	x	(x)											4 000	8 000	
103					x		(x)						1 600	12 000	
106				x				(x)					1 600	4 800	
107					x				(x)				1 500	6 400	
108				x					(x)				1 600	16 000	
109		x			(x)								6 400	8 000	
116					x				(x)				1 600	12 000	
118					x			(x)					1 600	12 000	
125					x				(x)				1 600	16 000	
131		x					(x)						4 800	16 000	
133					x			(x)					1 600	32 000	
134				x					(x)				1 600	12 000	
136				x					(x)				1 600	12 000	
140	x				x								1 600	1 600	
143					x							x	1 600	1 500	
144					x	(x)							1 600	16 000	
148			(x)	x									8 000	1 600	
149		x			(x)								8 000	32 000	
150				x				(x)					1 500	4 800	
152					x				(x)				1 500	8 000	
161				x				(x)					1 600	16 000	
163				x					(x)				1 600	12 000	
164	x				x				(x)				1 600	1 600	
166		x			(x)								8 000	32 000	

Zeichenerklärung für Tab. 1 und 2:

x = Stamm agglutiniert mit Serum Nr. ...

() = Stamm gehört zu Serum Nr. ... infolge des höheren Titers.

LEGENDE

Zusammenstellung der Stämme, die mit dem betreffenden Serum die Höchstagglutination aufwiesen.

(Gruppenzugehörigkeit der 166 Proteusstämmen)

<u>Agglutinierendes Serum Nr.</u>												
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
37	1	17	23	(24)	(20)	26	(34)	18	15	(54)	(62)	53
38	2	29	46	30	<u>144</u>	(33)		19	21	67	75	(74)
41	3	40	52	35		45		39	22			100
64	4	(60)	65	50		77		(43)	25			123
72	5	84	71	63		81		44	27			<u>147</u>
(151)	6	124	78	69		102		48	31			
	7	<u>126</u>	88	73		103		49	32			
	8	<u>148</u>	(98)	76		128		57	36			
	9		<u>136</u>	83		131		59	47			
	10		<u>137</u>	93				79	(51)			
	11		<u>153</u>	109				80	55			
	12		<u>165</u>	110				90	56			
	13			115				97	70			
	14			119				106	82			
	16			129				118	92			
	28			<u>139</u>				122	107			
	42			<u>140</u>				<u>133</u>	108			
	58			<u>141</u>				<u>150</u>	114			
	61			<u>143</u>				<u>161</u>	116			
	66			<u>146</u>					120			
	68			<u>149</u>					125			
	85			<u>156</u>					127			
	86			<u>159</u>					130			
	87			<u>160</u>					<u>134</u>			
	89			<u>166</u>					<u>135</u>			
(91)									<u>138</u>			
94									<u>142</u>			
95									<u>145</u>			
96									<u>152</u>			
99									<u>157</u>			
101									<u>163</u>			
104									<u>164</u>			
105												
111												
112												
113												
117												
121												
132												
<u>154</u>												
<u>155</u>												
<u>158</u>												
<u>162</u>												

Gesamtzahl der von Serum 1 - 13 erfaßten Stämme:

<u>Herkunft:</u>	5	39	7	8	15	1	9	1	16	23	2	2	4	<u>Zus.</u>
Tier														132
Mensch	1	4	1	4	10	1	-	-	3	9	-	-	1	36

Zeichenerklärung:

() - Impfstamm

- - - unterstrichene Stämme: Herkunft vom Menschen.

Tabelle 4.

Agglutinationsergebnisse des *B. proteus* - Summations - Serums mit 55 Paratyphus-Enteritis-Stämmen und 1 Intermediusstamm.

Lfd. Nr.	Stamm:	Agglutination			Bemerkungen:
		1 : 25	1 : 50	1 : 100	
1	<i>B. paratyphi</i> A (M)	+++	**	**	s.fl.
2	" A-Sonftenberg (VPA)	+++	+	+	s.fl.
3	" A- (B)	+++	+++	**	s.fl.
4	" A- (R)	**	+	-	s.n.
5	<i>B. paratyphi</i> B-Schottmüller (I)	-	-	-	
6	" B- (II)	-	-	-	
7	" B- (III)	-	-	-	
8	" B- (Kaposvar I)	-	-	-	
9	" B- (" II)	-	-	-	
10	<i>B. paratyphi</i> Typ Schleißheim	-	-	-	
11	<i>B. enteritidis</i> Breslau (St)	±	-	-	
12	" " (A I 145)	-	-	-	
13	" " (C II 21/47)	±	-	-	
14	" " (C II 22/6)	+	-	-	n.f.k.
15	" " (C II 24)	+	±	-	n.f.k.
16	" " (C IV 612)	-	-	-	
17	<i>B. typhi</i> aurium (VPA)	±	-	-	n.t.
18	<i>B. paratyphi</i> abortus equi (VPA 553)	±	-	-	n.t.
19	" " (B I/47)	-	-	-	
20	" " (C IV 877)	+	-	-	n.t.
21	" " ovis (B III/5)	-	-	-	
22	" " (B III/10)	±	-	-	
23	" " (B III/11)	**	±	-	t.f.k.
24	" " (19)	±	-	-	
25	" " (103/50)	+	-	-	f.k.
26	" " (L 5)	+	-	-	t.f.k.
27	<i>B. suispestifer</i> Kunzendorf (F)	-	-	-	
28	<i>B. suispestifer</i> (Sch)	-	-	-	
29	" Amerika	-	-	-	
30	" Standfuss	-	-	-	
31	" Voldagsen (F)	-	-	-	
32	<i>B. paratyphi</i> C-Newport (M)	-	-	-	
33	" C (B)	-	-	-	t.f.k.
34	" C-Virchow (M)	+	±	-	t.f.
35	" C (B)	±	±	-	
36	" C-Barsilly (I)	+	-	-	t.f.k.
37	" C (II)	±	-	-	t.fl.
38	" C-Thompson (R)	-	-	-	
39	<i>D. bovis</i> morbificans (B)	+	±	-	t.f.k.
40	<i>B. enteritidis</i> Gärtner Jena (VPA)	+	+	+	t.fl.
41	" " (M)	-	-	-	
42	" " Rostock (R)	±	-	-	t.k.
43	" " (Ri)	±	-	-	t.k.
44	" " Kiel (VPA I)	±	-	-	t.k.
45	" " (VPA II)	±	-	-	t.k.
46	" " (VPA III)	-	-	-	
47	" " Moskau (R)	-	-	-	
48	<i>D. puliorum</i> (368)	+	+	+	f.k.
49	" " (400)	-	-	-	
50	" " (874)	±	±	±	s.fl.
51	" " (1630)	-	-	-	
52	" " (1791)	**	+	±	f.k.
53	<i>B. gallinarum</i> (B)	-	-	-	
54	" " (VPA 350)	-	-	-	
55	" " (VPA 879)	±	-	-	
56	<i>B. intermedius</i> (M)	-	-	-	

Zeichenerklärung:

f - fein
fl - flockig
L - Längs

n - nass
s - schleimig

STAT



Zur Biochemie der Proteuskeime

Elmar Heim

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleißheim
Vorstand: Direktor Professor Dr. Hugo Grau

Vorgelegt vom Institut für Tierhygiene der Universität München
Komm. Leiter: Professor Dr. W. Rolle .

Zur Biochemie der Proteuskeime.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Elear Heia
aus
Zirgshausen/Schwaben.

München 1951.

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München.

Dekan: Geheimrat Professor Dr. Dr. Demoll,
Referent: Professor Dr. M. Rolle.

Tag der Promotion: 20.7.1951.

U N I - Druck, München 13, Amalienstr. 85

Inhaltsverzeichnis .

	Seite
Vorwort	1
Vorbemerkung	2
Indolbildungsfähigkeit der Proteusbakterien	8
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Gelatine	13
Schwefelwasserstoffbildung durch Proteusbakterien	15
Harnstoffabbau durch Proteusbakterien	16
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Milch	18
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Laktose	19
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Saccharose	21
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Arabinose	22
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Rhamnose	23
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Mannit	24
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber D-Tartrat	25
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Glukose	25
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Maltose	26
Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Aeskulin	28
Biochemische Untergruppen- und Typenbestimmung der Proteusbakterien	29
Biochemische Unterscheidung der Proteusbakterien von den Paratyphus-Enteritis-Keimen	
Zusammenfassung	35
Schrifttumsverzeichnis	38

- 1 -

Vorwort.

Die Identifizierung der Proteuskeime begegnet, nachdem serologische Untersuchungsverfahren zu keinem Erfolg führten und die bisherigen im Schrifttum niedergelegten biochemischen Versuchsreihen nur wenig befriedigende Ergebnisse zeitigten, heute noch erheblichen Schwierigkeiten. Die hier bestehenden Mängel wirken sich besonders dann nachteilig aus, wenn mit Rücksicht auf die pathogene Bedeutung dieser Keime eine zuverlässige Diagnose in Fällen der bakteriologischen Fleischuntersuchung oder bei Lebensmitteluntersuchungen in kürzester Zeit gestellt werden muß. Hier fehlt insbesondere eine sichere Methode, die es ermöglicht die Proteuskeime von den Paratyphus - Enteritis - Keimen in zuverlässiger Weise zu unterscheiden. Diese Unterscheidung ohne größeren Zeitverlust wird immer dann erforderlich und begegnet besonderen Schwierigkeiten, wenn die Proteuskeime bei Verwendung stark elektiv wirkender Differentialnährmedien in der Glatzform in Erscheinung treten. Darüber hinaus ist eine einwandfreie Kennzeichnung der Angehörigen der Proteusgruppe unerlässlich, um Untergruppen, wie sie durch die biochemische Aktivität dieser Erreger bedingt werden, festzulegen. Bei der Vielzahl von Gegensätzlichkeiten, die das Schrifttum bei der Bewertung der biochemischen Untersuchungsverfahren aufweist, gerät nicht nur die wünschenswerte Systematik, sondern auch die Erforschung biologischer Eigenschaften dieser Erreger in Schwierigkeiten, mit der Folge, daß die hier bestehenden Unklarheiten zu Fehlergebnissen in der Diagnose und epidemiologischen Erforschung der Proteusbefunde führen.

Aus diesen Gründen erschien es angezeigt an Hand eines größeren Untersuchungsmaterials von Proteuskeimen menschlicher und tierischer Herkunft durch zuverlässige biochemische Untersuchungen Unterlagen zu schaffen, die bakteriologische Fehl Diagnosen innerhalb der Proteusgruppe ausschließen und eine sichere Einteilung von Untergruppen gewährleisten. In eigenen Versuchen wurde deshalb neben dem biochemischen Verhalten zahlreicher verschiedener Proteusstämme in einer Reihe von Zuckerlösungen auch ihre Befähigung der Indolbildung, Gelatinoverflüssigung, des Harnstoffabbaues, der Milchgerinnung, der Schwefelwasserstoffbildung und des Spaltungsvermögens gegenüber Äskulin untersucht.

Um die Bewertung der in eigenen Versuchen erzielten Untersuchungsergebnisse mit den im Schrifttum niedergelegten Beobachtungen zu erleichtern wurde den einzelnen Versuchen jeweils das entsprechende Schrifttum unmittelbar vorangestellt.

- 2 -

Vorbemerkung.

Zu den eigenen Versuchen wurden 166 Proteus - Stämme von Mensch und Tier beigezogen, die in 4 - wöchentlichen Zeitabständen auf gewöhnlichen 2%igen Schrägagar durch Umzüchtung fortgeführt wurden. Es handelt sich bei diesen Stämmen um das gleiche Untersuchungsmaterial, an dem W i r s c h i n g (89) umfangreiche serologische Differenzierungsversuche und V o g e l (63) eingehende Untersuchungen der Pathogenität vorgenommen haben.

Die Proteus - Stämme I - 132 stammen von Tier und zwar:

7 Stämme von Pferd
79 Stämme von Rind
23 Stämme von Kalb
19 Stämme von Schwein
3 Stämme von Nagern
1 Stamm von Geflügel.

Die Proteus - Stämme Nr. 133 mit Nr. 166 wurden aus:

Wundabstrichen des Menschen
Eiter " "
Sputum " "
Urin " "
Stuhl " "
Kniepunktat " "
Hüftgelenkspunktat " "
Osteomyelitiseiter " "
Galle des " "
Drüsen " "

isoliert. Ein Proteus - Stamm (Nr. 165) war aus dem Schlamm einer Kläranlage gewonnen.

Im einzelnen handelt es sich um die nachfolgenden Stämme:

<u>Stamm Nr.</u>	<u>Datum der Isolierung</u>	<u>Herkunft</u>
1	9.3.1949	Kuh, Organe
2	25.3.1949	Kuh, Galle
3	29.3.1949	Kuh, Galle
4	2.4.1949	Kuh, Organe
5	27.4.1949	Kuh, Organe

- 3 -

<u>Stamm Nr.</u>	<u>Datum der Isolierung</u>	<u>Herkunft</u>
6	16.5.1949	Kuh, Fleisch
7	16.5.1949	Pferd, Fleisch und Organe
8	18.5.1949	Pferd, Leber
9	18.5.1949	Kuh, Leberlymphknoten
10	18.5.1949	Kalb, "
11	18.5.1949	Ochse, Leber
12	20.5.1949	Kalb, Leber
13	22.5.1949	Rind, Leber
14	22.5.1949	Kuh, Lymphknoten
15	1.6.1949	Pferd, Leber
16	5.7.1949	Ochse, Milz
17	6.7.1949	Kalb, Leberlymphknoten
18	9.7.1949	Schwein, Milz
19	10.7.1949	" "
20	12.7.1949	Kuh, Milz
21	15.7.1949	Kalb, Leber
22	17.7.1949	Rind, Knochen
23	19.7.1949	Bulle, Leber
24	19.7.1949	Kuh, Leber
25	26.7.1949	Rind, Organe
26	26.7.1949	Kuh, Milz
27	4.8.1949	Schwein, Milz
28	13.8.1949	Kalb, Leber
29	14.8.1949	Ferkel, Organe
30	18.8.1949	Kuh, Nieren
31	18.8.1949	Pferd, Leber
32	18.8.1949	Kalb, Leber
33	21.8.1949	Kalb, Leberlymphknoten
34	22.8.1949	Pferd, Kotprobe
35	28.8.1949	Kuh, Leber
36	30.8.1949	" "
37	30.8.1949	Ochse, Fleisch
38	31.8.1949	Schwein, Milz
39	1.9.1949	Kalb, Organe
40	4.9.1949	Schwein, Niere
41	7.9.1949	Schwein, Organe
42	7.9.1949	Kuh, Fleisch
43	8.9.1949	Kalb, Organe
44	14.9.1949	Kuh, Pyometra
45	14.9.1949	" "

- 4 -

<u>Stamm Nr.</u>	<u>Datum der Isolierung</u>	<u>Herkunft</u>
46	12.9.1949	Kuh, Leber
47	12.9.1949	Kuh, Organe
48	14.9.1949	Kuh, Leber
49	16.9.1949	Kalbfetus
50	20.9.1949	Kuh, Leberlymphknoten
51	30.9.1949	Pferd, Organe
52	30.9.1949	Kuh, Pyometra
53	6.10.1949	Schwein, Leber
54	30.9.1949	Kuh, Pyometra
55	29.9.1949	Kalb, Gelenk
56	6.10.1949	Meerschwein, Niere
57	27.7.1949	Kuh, Anreicherung
58	27.7.1949	" "
59	27.7.1949	Ochse, Anreicherung
60	27.7.1949	Rind, "
61	27.7.1949	Ochse, "
62	27.7.1949	" "
63	3.8.1949	Kuh, "
64	3.8.1949	Schwein, "
65	5.8.1949	Pferd, "
66	5.8.1949	Kuh, "
67	5.8.1949	Kuh, "
68	5.8.1949	" "
69	16.8.1949	" "
70	16.8.1949	" "
71	17.8.1949	" "
72	17.8.1949	" "
73	17.8.1949	" "
74	18.8.1949	Kalb, "
75	18.8.1949	Rind, "
76	18.8.1949	Kalb, "
77	18.8.1949	" "
78	19.8.1949	Kuh, "
79	24.8.1949	Kalb, "
80	24.8.1949	Ochse, "
81	24.8.1949	Kuh, "
82	24.8.1949	" "
83	25.8.1949	Schwein "
84	25.8.1949	Rind, "

- 5 -

<u>Stamm Nr.</u>	<u>Datum der Isolierung</u>	<u>Herkunft</u>
65	26.8.1949	Kuh, Anreicherung
86	27.8.1949	" "
87	27.8.1949	" "
88	28.8.1949	" "
89	28.8.1949	" "
90	29.8.1949	Kalb, "
91	29.8.1949	Ochse, "
92	5.9.1949	Pferd, "
93	6.9.1949	Ochse, "
94	6.9.1949	Kuh, "
95	6.9.1949	Kalb, "
96	6.9.1949	" "
97	6.9.1949	Schwein, "
98	7.9.1949	Kuh, "
99	29.9.1949	Schwein, "
100	29.9.1949	Kuh, Niere
101	29.9.1949	Schwein, Niere
102	29.9.1949	Kuh, Anreicherung
103	29.9.1949	Kalb, "
104	29.9.1949	Kuh, "
105	29.9.1949	Schwein, Lymphknoten
106	29.9.1949	Kuh, Anreicherung
107	29.9.1949	Kalb, "
108	29.9.1949	Kuh, "
109	29.9.1949	" "
110	29.9.1949	" "
111	30.9.1949	Schwein, "
112	30.9.1949	Kalb, "
113	30.9.1949	Kuh, "
114	30.9.1949	" "
115	30.9.1949	Ochse, "
116	30.9.1949	Rind, "
117	14.10.1949	Schwein, "
118	14.10.1949	Kuh, "
119	14.10.1949	Kuh, Niere
120	14.10.1949	Kalb, Anreicherung
121	14.10.1949	Kuh, "
122	4.8.1949	Kalb, Herz
123	20.8.1949	Rind, Leber

- 6 -

<u>Stamm Nr.</u>	<u>Datum der Isolierung</u>	<u>Herkunft</u>
124	23.8.1949	Rind, Niere
125	25.8.1949	• Leberlymphknoten
126	26.8.1949	Rind, "
127	26.8.1949	Schwein, Milz
128	26.8.1949	Pute, Herz
129	30.8.1949	Kaninchen, Leber
130	31.8.1949	Schwein, Milz
131	31.8.1949	• Niere
132	1.9.1949	Herz, Herz
133	6.8.1949	Mensch, Wundabstrich
134	6.8.1949	• Sputum
135	8.8.1949	• Galle
136	10.8.1949	• Urin
137	10.8.1949	• "
138	10.8.1949	• Eiter
139	10.8.1949	• Wundabstrich
140	10.8.1949	• Sputum
141	12.8.1949	• Kniepunktat
142	12.8.1949	• Urin
143	12.8.1949	• "
144	12.8.1949	• "
145	20.8.1949	• Stuhl
146	20.8.1949	• "
147	21.8.1949	• "
148	24.8.1949	• Urin
149	24.8.1949	Osteomyelitisaiter
150	27.8.1949	Mensch, Urin
151	27.8.1949	• Galle
152	27.8.1949	• "
153	27.8.1949	• "
154		(X 19 H)
155		(X 19 O)
156	27.9.1949	Mensch, Stuhl
157	27.9.1949	• "
158	27.9.1949	• "
159	27.9.1949	• "
160	27.9.1949	• "
161	27.9.1949	• "

- 7 -

<u>Stamm Nr.</u>	<u>Datum der Isolierung</u>	<u>Herkunft</u>
162	28.9.1949	Mensch, Eiter
163	30.9.1949	" Drüse
164	31.10.1949	" Nase
165	8.11.1949	Klärschlamm
166	10.11.1949	Mensch, Hüftgelenkpunktat.

Die zum Versuch benötigten Paratyphus-Enteritis-Stämme wurden der Kultursammlung der Landesanstalt entnommen und betrafen Angehörige der Paratyphus-Enteritierungsgruppen A, B, C, D, E, G und I. Im einzelnen handelt es sich dabei um die nachfolgenden Typen:

- 1 Stamm Bact. paratyphi A München
- 3 Stämme Bact. paratyphi B Schottauüller
- 2 Stämme Bact. Kaposvar
- 7 Stämme Bact. Enteritis Breslau (Typhi surium)
- 1 Stamm Bact. paratyphi B Typ Schleißheim
- 6 Stämme Bact. paratyphus Abortus ovis
- 3 Stämme Bact. paratyphus Abortus equi
- 2 Stämme Bact. Suipestifer Kunzendorf
- 1 Stamm Bact. Suipestifer Amerika
- 3 Stämme Bact. Suipestifer Vollandsgen
- 2 Stämme Bact. paratyphi C Typ Newport
- 2 Stämme Bact. paratyphi C Typ Virchow
- 2 Stämme Bact. paratyphi C Typ Barsilly
- 1 Stamm Bact. paratyphi C Typ Thompson
- 1 Stamm Bact. paratyphi C Typ Gelandia
- 1 Stamm Bact. paratyphi C Typ Bovis aorbificans
- 2 Stämme Bact. Enteriditis Jena
- 3 Stämme Bact. Enteriditis Kiel
- 2 Stämme Bact. Enteriditis Rostock
- 1 Stamm Bact. Enteriditis Moskau
- 1 Stamm Bact. paratyphi D Typ Eastbourne
- 3 Stämme Bact. paratyphi D Typ Gallinarum
- 5 Stämme Bact. paratyphi D Typ Pullorum
- 3 Stämme Bact. paratyphi E Typ Senftenberg
- 2 Stämme Bact. paratyphi E Typ London
- 1 Stamm Bact. paratyphi G Typ Northington
- 1 Stamm Bact. paratyphi I Typ Hvittingfoss.

Die Zusammenstellung der bei den biochemischen Untersuchungen verwendeten Nährmedien ist bei den einzelnen Versuchen angegeben.

- 8 -

V e r s u c h 1
Prüfung der Indolbildung

Schrifttum

Wie Herzfeld und Klinger (36) schon klar hervorhoben entsteht das Indol aus einer chemisch genau definierten Aminosäure, nämlich aus der von Kühnle (53) zuerst aufgefundenen Tryptophan. Eine Indolbildung kann daher nur in solchen Nährböden stattfinden, in welchen dieses Abbauprodukt der Eiweißkörper angetroffen wird. Als Zwischenstufen zwischen Tryptophan und Indol kommen neben Indolpropionsäure noch Indolelessigsäure und Indolkarbonsäure in Betracht. Auftreten von Indolpropionsäure ist in aeroben Kulturen nicht zu erwarten. Indolelessigsäure und Indolkarbonsäure sind bereits in Bakterienkulturen nachgewiesen, z.B. für Proteusstäme durch Berthelot (11). Minning und Ritter (62) wiesen darauf hin, daß die Beurteilung betreffs der Indolbildung dadurch sehr erschwert wurde, daß drei in ihrer Spezifität nicht übereinstimmende Reaktionen - Salkowskische Reaktion, Nitroprussidnatrium Reaktion und Ehrliche Reaktion - zum Indolnachweis benutzt werden. Besonders durch die Anwendung der Salkowskischen Reaktion ist in den Fragenkomplex viel Unsicherheit hineingetragen worden, worauf auch schon Bach (3) eingehend hinwies. Im Schrifttum herrscht weitgehende Übereinstimmung dahingehend, daß als spezifisches und zuverlässigstes Indolnachweisverfahren die Reaktion nach Ehrlich anzusprechen ist. Eine Ansicht deren Berechtigung vor allen Dingen Friebler (30) und Baudet (7) in ihren Untersuchungen unter Beweis stellten. Friebler (30) bezeichnet dabei die Salkowski-Reaktion als keine "echte" Indolfeststellung, sondern hinsichtlich des Tryptophanabbaus als Indolelessigsäure-Reaktion da nach seinen Angaben die Indolelessigsäure von allen Bakterien (indolnegativen und indolpositiven) aus den Tryptophan abgespalten werden kann. Die weitere Abspaltung verläuft von der Indolelessigsäure bis zum Indol und diese zweite Etappe kann nur von indolpositiven Bakterien im Anschluß an die erste Etappe (Tryptophan-Indolelessigsäure) erreicht werden. Loesberg (54) geht hier sogar insoweit einen Schritt weiter, als er einen gültigen Indolnachweis nur dann als gegeben erachtet, wenn die flüssige Kultur bei 100 Grad destilliert und im Destillat die Ehrlich'sche Reaktion vorgenommen wird oder die Kultur mit Äther geschüttelt, der Äther dann abpipettiert und dann die Ehrlich'sche Reaktion vorgenommen wird. Hierein stimmen ihn vor allen Dingen Kligler (47) und Kolle, Kraus und Uhlenthuth (49) bei. Bezüglich der Indolbildungsfähigkeit des Bact. proteus herrscht im Schrifttum keine absolut klare und einheitliche Linie. Während Tissier (80), Donnitz (26), Baerthlein (4),

- 9 -

Mariani und D' Ignazio (59), Roland, Bourbon und Szturna (70) ausschließlich von indolpositiver Reaktion bei den von ihnen untersuchten gewöhnlichen Proteusstämmen sprechen, ja Roland, Bourbon und Szturna (70) diesen positiven Ausfall bereits nach 24-stündiger Bebrütung feststellten, lenkte van Loghem (55) erstmals die Aufmerksamkeit auf Proteusstämmen, die unter keinen Umständen in der Lage seien Indol zu bilden. Diese Stämme stimmen nach van Loghem (55) auch in ihren biochemischen und morphologischen Eigenschaften überein, sodaß sie als Repräsentanten einer neuen Art - Bact. anindologenes - aufzufassen seien. In dieser Ansicht stimmen ihm Groot (33), Baudet (6) und Elders (28) bei. Daß die gewöhnlichen Proteusstämmen nur teilweise Indolbildner seien bestätigen auch Jötten (44), Bach (3), Moltke (61), Minning und Ritter (62), Berthelot (10), Loesberg (54), Cohn (25), Klügler (47), Schäffer (73) und Kollle, Kraus und Uhlenhuth (50). Auch Rolle (69) bezeichnet nicht alle, sondern nur die meisten der Proteusstämmen als Indolbildner; Wolff (92) fand dagegen, daß sogar die Mehrzahl der von ihm untersuchten Stämme kein Indol bildet. Ebenso vermochten Braun und Salomon (18) nur bei einigen wenigen der von ihnen untersuchten Nicht-Fleckfieber-Proteusstämmen nach 48-stündiger Bebrütung Indolbildung festzustellen. Seligmann (75) fand bei keinem der von ihm untersuchten Stämme eine Indolbildung. Berthelot (12) beschrieb mehrere Proteusstämmen, die in Peptonwasser kein Indol bildeten, wohl aber in Tryptophanlösungen. Er schließt daraus, daß es keinen Proteus anindologenes gibt, sondern, daß die von van Loghem gefundenen Stämme nur abgeschwächte indogene Proteusbakterien sind. Auch bezüglich der optimalen Bebrütungsdauer der Kulturen herrscht keine einheitliche Ansicht. Nach Cohn (25) ist das Indolbildungsvermögen bei einigen Stämmen am stärksten nach 24 Stunden, bei anderen Stämmen nach 48 oder 72 Stunden. Auch er vertritt die Ansicht, daß nicht indolbildende Stämme absolut keine Seltenheit seien. Klügler (47) hält die Prüfung der Kulturen am 4. bis 6. Tag nach der Bebrütung am günstigsten und auch er spricht von indolpositiven und indolnegativen Proteusstämmen, ebenso Winkel (88), der in seinem Großversuch den Indolnachweis allerdings bereits nach 24 stündiger Bebrütung der Kulturen vornahm.

- 10 -

Versuchsordnung:

Zum Indolnachweis wurden Trypsinbouillon und Pringsheimsche Lösung benutzt.

Herstellung der Trypsinbouillon:

1000 ccm Aqua destillata
10,0 g Liebig's Fleischextrakt
5,0 g NaCl
10,0 g Pepton Witte
PH 7,4

Erhitzung im Dampftopf 2 1/2 Stunden, Filtration, Zusatz von 0,2 g. Trypsin und 10,0 g Chloroform. Aufbewahrung in gut verschlossener Glasflasche, während 24 Stunden im Brutschrank von 37° C., Filtration, Zusatz einer dreifachen Menge 0,85%-iger Kochsalzlösung, Abfüllen in Röhren (0,5 ccm), Sterilisation 30 Minuten im Dampftopf (Wiederholung nach 24 und 48 Stunden).

Von jedem Proteusstamm (166) wurden 6 Röhren mit Trypsinbouillon beimpft. Röhren 1 und 2 wurden 24 Stunden, Röhren 3 und 4 bis 48 Stunden, Röhren 5 und 6 bis 120 Stunden bei 37° C bebrütet. Nach dieser Bebrütungsdauer wurde der Indolnachweis durch Zusatz von Pringsheim'scher Lösung (1 bis 2 Tropfen) geführt und zwar:

- a) in den Röhren 1, 3 und 5 ohne jegliche Vorbehandlung der Trypsinbouillonkultur
- b) in den Röhren 2, 4 und 6
 1. nach Ausschütteln der Trypsinbouillonkultur mit Äther
 2. im Ätherauszug.

Zu Kontrollzwecken wurden zuverlässig indolnegative Stämme aus der Paratyphus - Enteritis Gruppe in analoger Weise geprüft.

Versuchsergebnis:

- a) Ergebnis der Indolprüfung an 24 - st ü n d i g e n Kulturen:
Von den geprüften 166 Proteusstämmen zeigten 6 Stämme (Nr. 33, 53, 54, 55, 139 und 153) bei Zusatz von Pringsheim'scher Lösung zu den gut gewachsenen Trypsinbouillonkulturen eine kräftige Rotfärbung, die bereits beim Einfüllen der Pringsheim-Lösung in Erscheinung trat. Bei den übrigen 160 Proteusstämmen gelang der Nachweis von Indol in der 24 - stündigen Trypsinbouillonkultur nicht.

Die mit Ä t h e r a u s g e w a s c h e n e Trypsinbouillonkultur lieferte bei den Stämmen 33, 53, 54, 55, 139 und 153 ein eindeutig negatives Ergebnis.

- 11 -

Der Ätherauszug dieser Kulturen dagegen ergab bei Zusatz von Pringsheim'scher Lösung wieder eine deutliche Rotfärbung, was besagt, daß das spontan und in reichlicher Menge in der Trypsinbouillon gebildete Indol restlos in die ätherische Lösung übergegangen war und dort mit Zusatz der Pringsheim'schen Lösung nachgewiesen werden konnte.

b) Ergebnis der Indolprüfung an 48 - stündigen Kulturen:

Nach 48 - stündiger Bebrütung der Trypsinbouillonkulturen gelang der Indolnachweis bei 9 Proteusstämmen (Nr. 10, 12, 15, 33, 53, 54, 55, 139 und 153). Er war bei den Stämmen Nr. 33, 53, 54, 55, 139 und 153 stark positiv und trat unmittelbar nach dem Einfallen der Pringsheim'schen Lösung in Erscheinung. Bei den Stämmen Nr. 10, 12 und 15 entstanden mittelgradige bis schwache Reaktionen erst mit Verzögerung innerhalb weniger Minuten.

Die mit Äther ausgewaschenen Trypsinbouillonkulturen lieferten bei keinem der 9 Stämme einen positiven Indolnachweis.

Die Ätherextrakte wiesen bei den Stämmen Nr. 33, 53, 54, 55, 139 und 153 ebenso wie nach 24 - stündiger Bebrütung positive Ergebnisse auf. Es ließen also lediglich die Stämme Nr. 10, 12 und 15 im Ätherauszug eine Indolbildung vermissen. Nachdem bei diesen Stämmen weder die mit Äther vorbehandelte Trypsinbouillonkultur noch der Ätherauszug bei Zusatz von Pringsheim'scher Lösung einen Indolnachweis lieferten, muß vor weiterem angenommen werden, daß die Ätherauswaschungsmethode nur bei Vorhandensein eines spontan einsetzenden und kräftigen Indolnachweises, also bei einer starken Indolbildung ein positives Ergebnis liefert. Der Indolnachweis im Ätherauszug gelingt danach selbst bei positiver Indolbildungsvoraussetzung nicht in allen Fällen.

c) Ergebnis der Indolprüfung an 120 - stündigen Kulturen:

Nach 120 - stündiger Bebrütung hatte der Indolbildungsnachweis in Trypsinbouillon in allen Fällen ein positives Ergebnis, dabei erzielten eine schwache Reaktion die Stämme:

Nr. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 13, 14, 17, 18, 20, 23, 24, 26, 27, 29,
30, 37, 39, 62, 63, 64, 66, 67, 71, 72, 73, 76, 77, 80, 81, 82,
85, 87, 88, 89, 90, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99, 102, 103, 104, 105,
106, 107, 108, 109, 111, 112, 113, 114, 115, 116, 117, 118, 119,
120, 121, 128, 131, 145, 149 und 164,

eine mittelgradige Reaktion die Stämme:

Nr. 9, 11, 12, 15, 16, 19, 21, 22, 25, 28, 31, 32, 35, 40, 44, 51, 57,

- 12 -

59, 60, 61, 65, 68, 69, 70, 74, 75, 78, 83, 84, 86, 91, 92, 110, 124, 125, 127, 129, 130, 132, 133, 134, 144, 146, 151, 152, 154, 155, 156, 157, 158, 159, 160, 161, 163, 165 und 166

eine starke Reaktion die Stämme:

Nr. 1, 34, 36, 38, 41, 42, 43, 45, 46, 47, 48, 49, 50, 52, 56, 58, 79, 100, 101, 122, 123, 126, 135, 136, 137, 138, 140, 141, 142, 143, 147, 148, 150 und 162.

Lediglich die Stämme Nr. 33, 53, 54, 55, 139 und 153 fielen wieder dadurch auf, daß die deutliche Rotfärbung schon beim Einfallen der Pringsheim'schen Lösung in die Kulturen zustande kam. In allen übrigen Fällen traten die Reaktionen früher oder später jedoch im Laufe weniger Minuten auf.

Die mit Äther ausgewaschenen Kulturen hatten in allen Fällen ein negatives Ergebnis.

Die Prüfung des ätherischen Auszugs ergab bei den bisher bereits ermittelten Stämmen Nr. 33, 53, 54, 55, 139 und 153, sowie bei all jenen Stämmen ein positives Ergebnis, die eine starke Reaktion auszulösen imstande waren.

Die Untersuchungen an 120 - stündigen Trypsinbouillonkulturen zeigten, daß sämtlich e 166 Stämme verschiedener Herkunft Indol zu bilden vermögen und daß dieser Nachweis bei Zusatz von Pringsheim'scher Lösung zu den Trypsinbouillonkulturen nach dieser Zeit gelingt.

Die Ätherauswaschmethode dagegen verspricht nur Erfolg, wenn der Indolnachweis bei Zusatz von Pringsheim'scher Lösung zur nicht vorbehandelten Trypsinbouillonkultur durch spontane Rotfärbung oder eine starke Reaktion aufzeigt. Er ist demnach abhängig von der Stärke des Indolbildungsvermögens und ermöglicht eine Trennung der Proteusstäme in solche mit geringem Indolbildungsvermögen und solche mit starkem Indolbildungsvermögen.

Der Indolnachweis durch Zusatz der Pringsheim'schen Lösung zur Trypsinbouillonkultur ist dem Nachweis im Ätherextrakt überlegen.

Indolnegative Stämme enthielt das umfangreiche Untersuchungsaterial (166 Stämme) nicht.

Die an Paratyphus-Enteritis Stämmen zu Vergleichszwecken vorgenommenen Kontrolluntersuchungen hatten in allen Fällen ein negatives Ergebnis.

- 13 -

Versuchsbewertung:

Die vorstehenden Versuchsergebnisse vermögen die sich vielfach widersprechenden Mitteilungen des Schrifttums in Grenzen aufzuklären. Der positive Indolnachweis bedarf einer *g p i g e n* Kulturentwicklung in Trypsinbouillon und hat zur Voraussetzung, daß relativ große Mengen von Pringsheim'scher Lösung (1 bis 2 Tropfen) einer verhältnismäßig *k l e i n e n* Kulturmenge (0,5 cca) zugesetzt werden. Von Bedeutung ist ferner die Feststellung, daß das Indolbildungsvermögen *q u a n t i t a t i v e n* Unterschieden unterworfen ist, wobei ein verhältnismäßig geringer Teil der Proteusstäme schon in 24 - bzw. 48 - stündiger Trypsinbouillonkultur nachweisbare Mengen an Indol bildet, während ein verhältnismäßig großer Teil der hier geprüften Proteusstäme erst nach 5-tägiger Bebrütung für den Indolnachweis ausreichende Mengen an Indol zu bilden vermag. Die *S t ä r k e* des Indolbildungsvermögens ist schliesslich auch ausschlaggebend für den Ausfall dieser Reaktion in *Ä t h e r a u s z ü g e n*, die *n u r d a n n b r a u c h b a r e E r g e b n i s s e* liefert, wenn *r e i c h l i c h e* Mengen an Indol gebildet werden.

Die hier aufgezeigten Unterschiede im Gelingen des Indolnachweises bei Proteusbakterien erklären die gegenteiligen Feststellungen des Schrifttums und lassen annehmen, daß unter Berücksichtigung der in den vorstehenden Versuchen ausgearbeiteten Richtlinien das Indolbildungsvermögen den Proteuskeimen *d u r c h w e g s e i g e n i s t*.

V e r s u c h 2Untersuchungen in Gelatine.Schrifttum.

Bezüglich der Einwirkung der Proteuskeime auf Gelatinenährböden bestehen im Schrifttum kaum Meinungsverschiedenheiten. Im allgemeinen sind die Proteusbakterien in der Lage mit Hilfe ihres peptonisierenden Fermentes Gelatine in einwandfreier Weise zu verflüssigen, eine Tatsache, die *B r a u n* und *S a l o m o n* (18), *B a c h* (2), *D e m n i t z* (26), *B a e r t h l e i n* (4), *S c h ä f f e r* (73), *L o e s b e r g* (54), *W o l f f* (92), *M o l t k e* (60), *B e r t h e l o t* (9) und *M i n n i n g* sowie *R i t t e r* (62), *Y a k o b* (94) und *P a n d i t* (63) durch ihre Untersuchungen bestätigten. Jedoch sind auch Proteusstäme bekannt, die der Fähigkeit der Gelatineverflüssigung ermangeln. *H e i m L.* (35) hob diesen Umstand besonders hervor und betonte, daß das Gelatineverflüssigungsverfahren nicht maßgebend sei, da es nicht nur in fortgezüchteten Laboratoriumskulturen verschwinden und scheinbar unvernünftig wiederkehren könne, sondern selbst frischen Proteus-

- 14 -

stämmen nur im geringen Grade eigen sein oder sogar fehlen kann. In letzterem Falle hat man den *Proteus Zenkeri* vor sich, der aber nach *Reim L.* (35) irgend einmal doch Verflüssigungsvermögen entfalten kann und deshalb nicht als eine besondere Art angesehen werden könne. Auch *Braun* (16) wies auf schwärmende, kulturell und serologisch eindeutige *Proteus*-formen hin, die nicht in der Lage seien, Gelatine zu verflüssigen. Ebenso fand *Bach* (2) bei seinen Untersuchungen einen Stamm, der Gelatine nicht verflüssigte. Auch *Yakob* (33) und *Schäffer* (73) bestätigten das Vorhandensein von *Proteus*-stämmen, die nicht in der Lage sind Gelatine zu verflüssigen. Letzterer kommt ebenso wie *Reim L.* zu der Auffassung, daß das Verflüssigungsvermögen der *Proteus*-keime unbeständig und zeitlichen Schwankungen unterworfen ist. Bezüglich der Zeitdauer innerhalb welcher die Gelatineverflüssigung eintritt und ebenso bezüglich der Intensität der Gelatineverflüssigung erweisen sich die im Schrifttum abgehandelten Beobachtungen als verschieden. *Baerthlein* (4) beobachtete einesteihs *Proteus*-keime, die Gelatine kräftig verflüssigten, andererseits solche die Gelatine schwach und erst nach 5 Tagen peptonisierten. *Kristensen* (52), *Boyle* (15) und *Kjaer* (46) wiesen *Proteus*-stämmen nach, die erst nach 14 und 21 Tagen die Gelatine verflüssigten. Auch *Minnig* und *Ritter* (62) fanden bei ihren Untersuchungen einen Stamm der erst nach einem Zeitraum von 20 Tagen Gelatineverflüssigungsvermögen aufwies. Das von *Bergey* (8) beschriebene *Proteus*-typ *Bact. Zophi* und *Bact. Zenkeri* kann eine Bedeutung nicht zugesprochen werden, da diese im Genus *Zophius*-*Wenner-Rettger* zusammengefaßten Typen nach Angabe von *Bergey* grampositiv sind und danach nicht zur *Proteus*-gruppe gehören.

Versuchsordnung:

Die zum Versuch benützte Gelatine wurde wie folgt hergestellt:

Rindfleischwasser + 1,0% Pepton
 0,5% NaCl
 20,0% Gelatine
 Ph 7,4 - 7,6.

Dem erwärmten Fleischwasser gibt man Pepton und Kochsalz zu und läßt über der Flamme einige Male aufkochen, alkalisiert mit gesättigter Sodalösung und erhitzt darauf eine Stunde im strömenden Dampf, filtriert und kühlt die Bouillon ab auf 50° C. Dann gibt man die Gelatine zu und erhitzt eine Viertel Stunde im Wasserbad, hierauf eine halbe Stunde im Dampftopf.

Die Gelatinenährmedien wurden im Stich angezüchtet. Der Versuch wurde an

- 15 -

sämtlichen 166-*Proteus*-stämmen vorgenommen. Die Gelatinekulturen wurden im Brutschrank bei 22° C aufbewahrt und bis zum Eintritt einer deutlich sichtbaren Verflüssigung beobachtet.

Versuchsergebnis:

Nach 24- stündiger Bebrütung war bei 98 Stämmen eine deutliche Gelatineverflüssigung eingetreten, nach 48 Stunden folgte die Verflüssigung bei weiteren 58 *Proteus*-stämmen. Bei 8 *Proteus*-stämmen trat die Verflüssigung der Gelatine erst nach 72 Stunden ein.

2 *Proteus*-stämme (Nr. 114 und 161) wiesen auch nach 28 -tägiger Beobachtung keine Verflüssigung des Nährbodens auf.

Versuchsbewertung:

Von 166 untersuchten *Proteus*-stämmen vermochten 164 Stämme (98,8%) Gelatine zu verflüssigen, nur 2 Stämme (1,2%), von denen einer vom Tier und einer vom Menschen stammt, waren nicht in der Lage eine Verflüssigung des Nährmediums herbeizuführen.

Die Gelatineverflüssigung beginnt bei zahlreichen Stämmen bereits nach 24 Stunden, kann aber auch nach 48 und 72 Stunden noch zustandekommen, sodaß eine mehrtägige Beobachtung der Reaktion erforderlich ist. Zwei Gelatine nicht verflüssigende Stämme behielten diese Eigenschaft bis zum 28. Tag bei.

Nach den vorliegenden Versuchsergebnissen, darf angenommen werden, daß die Mehrzahl der in Laboratorium angetroffenen *Proteus*-stämme menschlicher und tierischer Herkunft Gelatine verflüssigt. Es muß aber auch mit dem Vorkommen von *Proteus*-stämmen gerechnet werden, die diese Eigenschaft nicht besitzen. Danach besteht die Möglichkeit die *Proteus*-stämme in zwei Untergruppen zu teilen.

V e r s u c h 3

Prüfung der Schwefelwasserstoffbildung

Schrifttum

Bezüglich der Schwefelwasserstoffbildung durch *Proteus*-bakterien wies das züglingliche Schrifttum überraschend wenig Hinweise auf. Immerhin ist auch hier eine Spaltung der Ansichten erkennbar. Während *M i n n i n g* und *R i t t e r* (62) darauf hinstießen, daß die Bildung von Schwefelwasserstoff im Schrifttum als regelmäßig vorhanden gilt und in eigenen an 21 *Proteus*-stämmen vorgenommenen Untersuchungen ebenso wie *B e r t h e l o t* (9) und *M o l t-*

- 16 -

ko (60) in ihren Versuchsreihen, durchweg Schwefelwasserstoffbildung nachzuweisen versuchten, beobachtete Winkler (88) auch Proteusstämme, bei denen die Schwefelwasserstoffentwicklung unterblieb.

Versuchsordnung:

Der zum Versuch verwendete Bleiacetatagar wurde wie folgt hergestellt: Die benötigte Bleiacetatlösung wird aus 100 ccm Aqua dest. und 5,0 g Bleiacetat mit kurzem Aufkochen über der Flamme gewonnen, 2 ccm einer 5%igen Bleiacetatlösung werden 100 ccm Nähragar (Ph 7,5) heiß zugesetzt, gut durchgemischt und nach Abfüllen in Röhrchen (5-6 ccm) in Dampftopf sterilisiert.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.
Beobachtungsdauer: 24 Stunden.
Kontrolle: unbeimpfter Nährboden.

Die Bleiacetatagarröhrchen wurden wie die Gelatine in Stichkulturen beimpft und während 24 Stunden bei 37° C beobachtet.

Versuchsergebnis:

Bereits nach 24-stündiger Bebrütung zeigten sämtliche beimpften Bleiacetatagarröhrchen eine positive Reaktion in Form einer mehr oder weniger stark ausgeprägten jedoch in allen Fällen bereits deutlichen Schwarzfärbung als Zeichen der nach Schwefelwasserstoffentwicklung entstandenen Bleisulfid.

Eine weitere Beobachtung der Kulturen erübrigte sich danach.

Versuchsbewertung:

Sämtliche Proteusstämme von Mensch und Tier (166) zeigten bereits nach 24 - stündiger Bebrütung eine in Bleiacetatagar sicher nachweisbare Schwefelwasserstoffbildung. Nach diesem eindeutigen Ergebnis an einer großen Zahl von untersuchten Proteusstämmen kann angenommen werden, daß die Schwefelwasserstoffbildung zu den konstanten Merkmalen dieser Erreger gerechnet werden darf.

Versuch 4

Prüfung des Harnstoffabbaues

Schrifttum

Auch die Fähigkeit der Proteuskeime Harnstoff zu spalten wird im Schrifttum nicht einmütig anerkannt. Die von Brodmeier (20), Schnitzler (74) und Hofmeister (37), Moltke (60), Wohl-

- 17 -

feil und Weiland (87), Minning und Ritter (62), Winkle (88), Roland, Bourbon und Szturm (70) in dieser Richtung angestellten Versuche ergaben in allen Fällen ein eindeutig positives Ergebnis. Rustigan und Stuart (71) fanden dagegen 3 Proteustypen und zwar Bact. proteus hydrophilus, proteus ichthyominus und Bact. proteus boobyis, welche nicht in der Lage waren Harnstoff zu bilden. Bezüglich der Zeit innerhalb welcher die Urease in Erscheinung tritt, sind die Angaben ebenfalls verschiedenartig. Während Winkle (88) erst nach 48 Stunden Harnstoffspaltung feststellen konnte, wiesen sie Minning und Ritter (62) nach 24 - stündiger Bebrütung nach, Rustigan und Stuart (71) bereits nach 4 Stunden und Roland Bourbon und Szturm (70) gar schon nach 2 - 4 Stunden.

Versuchsordnung:

Der zum Nachweis des Harnstoffabbaues verwendete Nährboden bestand aus Rindfleischbouillon (Ph 7,6), welcher 1% Harnstoff in Pulverform als Abbauprodukt zugesetzt wurde. Das Nährmedium wurde in Mengen von 1 ccm in Röhrchen abgefüllt und sterilisiert. Vor Beimpfung der Harnstoffbouillon wurden jedem Röhrchen zwei Tropfen einer 1%-igen alkoholischen Phenolphthaleinlösung zugesetzt.

Jedes Röhrchen wurde mit einer Öse Agarkultur beimpft und während 24 Stunden bei 37° C bebrütet. Auch dieser Versuch wurde an sämtlichen 166 Stämmen durchgeführt.

Zur Kontrolle wurden 13 Paratyphus-Enteritis-Stämme der Gruppen A, B, C und D verwandt.

Versuchsergebnisse:

Sämtliche untersuchten Proteusstämmen bewirkten schon während einer 2 bis 4 - stündigen Bebrütung eine deutliche Rotfärbung des an sich farblosen Nährbodens. Dabei beginnt die Rotfärbung zunächst an der Berührungsstelle der sich über der Harnstoffbouillon abgesetzten Phenolphthaleinschicht und färbt den gesamten Nährboden bei leichtem Umschütteln in ein leuchtendes Hellrot um.

Die gleichzeitig angesetzten Kontrollversuche waren nicht nur nach 2 Stunden, sondern sogar bis zum 10. Tag, an welchem ⁵¹⁰ Untersuchungen abgebrochen wurden, eindeutig negativ, das heißt in keinem dieser Röhrchen entstand eine Rotfärbung.

Versuchsbewertung:

Der Harnstoffabbau in Kohlensaures Ammonium wurde von sämtlichen untersuchten Proteusstämmen in der verblühend kurzen Zeit von 2 bis 4 Stunden in

- 18 -

nachweisbarer Menge erreicht und berechtigt zu dem Schluß, daß die gemeinlich vorkommenden Proteuskeime diese Befähigung in k o n s t a n t e r Form zeigen. Sie unterscheiden sich darin von den Paratyphus-Enteritis-Keimen, denen diese Eigenschaft fehlt, was in weiteren Versuchen (siehe Versuch 16) noch einer eingehenden Untersuchung unterstellt wurde.

V e r s u c h 5

Untersuchungen in Milch

Schrifttum

Über die Folgen der Einwirkung von Proteuskeimen auf Milch wird im Schrifttum ebenso mannigfaltig wie widersprechend berichtet. B o r t h o l o t (9) bezeichnet in seinen Untersuchungen als solche Folgen eine Milchgerinnung mit nachfolgender Digestion des Koagulums. Hierin stimmt mit ihm in allgemeinen B a e r t h l e i n (4) überein, der einerseits Proteusbakterien beobachtete, die Milch binnen 24 Stunden koagulierten, andererseits aber auch solche, die sie erst in wenigen Tagen koagulierten. Im Gegensatz dazu behauptet D e m - n i t (26), daß die Milch nicht gerinnt, sondern von allen von ihm untersuchten Proteusstämmen nach einem späteren Zeitpunkt peptonisiert wurde. Der gleichen Ansicht ist S c h a e f f e r (73) nach dessen Beobachtungen ebenfalls nie eine feste Koagulation der Milch eintritt; nach S c h a e f f e r wird die Milch von den meisten Stämmen nach einigen Tagen peptonisiert, was sich in einer gelblichen Verfärbung der Milch unter Bildung eines krümeligen Bodensatzes äußert. Darüber hinaus stellte Schaeffer fest, daß manche Stämme die Milch während siebentägiger Beobachtung überhaupt unverändert ließen. Auch M i n n i n g und R i t t e r (62) stellten auf Grund der von ihnen untersuchten 27 Proteusstäme fest, daß Milch stets peptonisiert, aber nie koaguliert wird. L o e s b e r g (54) nun fand bei einem von ihm untersuchten Proteusstamm weder eine Koagulation noch Peptonifikation der Milch. M a - g a t h (58) hingegen äußert sich dahingehend, daß die Milch von einem aus Urin gezüchteten und von ihm untersuchten Proteusstamm erst gesäuert und dann alkalisiert wurde. R o l l e (69) ist der Ansicht, daß die Proteuskeime zunächst die Milch ohne Säurebildung zur Gerinnung bringen und darnach wieder eine Verflüssigung der Milch eintritt.

Versuchsordnung:

Zum Versuch wurde sterile Milch verwendet, die durch Zentrifugieren entrahmt, in Mengen von 3 cca in Röhrchen abgefüllt wurde und an 3 aufeinanderfolgenden Tagen je 30 Minuten bei 70 bis 80° C zur Sterilisation kam.

- 19 -

Zahl der untersuchten Stämme: 166.

Jedem Milchröhrchen wurde eine Öse Kultur zugesetzt. Die Beobachtung der bei 37° C bebrüteten Kulturen erstreckte sich auf eine Dauer von 6 Tagen.

Als Kontrolle diente unbeimpfte Milch.

Versuchsergebnis:

Von den untersuchten 166 Proteusstämmen peptonisierten die Milch unter Gelbfärbung innerhalb von 5 Tagen 8 Stämme (Nr. 52, 56, 114, 120, 121, 122, 156, 161). Eine Säurebildung konnte in diesen Kulturen nicht nachgewiesen werden. Ein Stamm (Nr. 67) koaguliert die Milch innerhalb 24 Stunden unter starker Säurebildung.

Die restlichen 157 Proteusstämmen koagulierten die Milch ebenfalls, jedoch ohne Säurebildung und zwar nur 3 Stämme innerhalb 24 Stunden, 116 Stämme innerhalb 48 Stunden, 24 Stämme innerhalb 3 Tagen, 12 Stämme erst am 4. Tag, 1 Stamm am 5. Tag und 1 Stamm am 6. Tag.

Versuchsbewertung:

Das Verhalten der Proteuskeime gegenüber Milch ermöglicht eine Aufteilung der 166 untersuchten Proteusstämmen in 3 Untergruppen. Dabei umfaßt die erste Untergruppe mit verhältnismäßig wenig Stämmen (8) Proteusbakterien, welche die Milch innerhalb 5 Tagen unter starker Peptonbildung zur Fäulnis bringen.

Die zweite Untergruppe enthält nur einen Vertreter, der in der Lage ist, die Milch unter starker Säuerung in verhältnismäßig kurzer Zeit (24 Stunden) zur Gerinnung zu bringen. Die überwiegende Zahl der untersuchten Proteusstämmen (157) gerinnt die Milch innerhalb von 6 Tagen ohne Säuerung.

Das Untersuchungsmaterial von 166 Proteuskulturen enthielt danach keinen Stamm, der Milch unverändert ließ. Eine 6-tägige Beobachtung der Milchkulturen erscheint in jedem Falle erforderlich.

Versuch 6

Verhalten gegenüber Laktose

Schrifttum

In der Literatur wird von der Mehrzahl der Autoren die Fähigkeit der Proteusbakterien zur Spaltung des Milchzuckers bestritten. Rolle (69), Winkler (88), Minning und Ritter (62), Moltke (60),

- 20 -

Castellani (23), Chalmers (21), Haupt (34), Demnitz (26), Loesberg (54), Schäffer (73), Berthelet (10), Seligmann (75) und Wolff (92) sind hier alle einer Meinung. Ebenso bezeichnet van Lochem (56) seinen von ihm aufgestellten Proteustyp "Bact. anindoligenes" als Laktose negativ. Lediglich Klinck (48) der nur zwei Proteusstäme untersuchte, behauptet, daß beide Milchzucker angegriffen haben. Ebenso erwähnen Isabolinski und Judenitsch (40) einen Laktose vergärenden Stamm von Proteus vulgaris, bei dem es sich aber nach Meinung von Minning und Ritter (62) wahrscheinlich um ein Kloakenbakterium handelt. Auch Bach (3) spricht in seinen Untersuchungen davon, daß nur ein Teil der Stämme Laktose nicht angreift, was darauf schließen läßt, daß der andere Teil der von ihm untersuchten Proteusstäme Laktose vergoren hat. Ebenso bejahen C. O. Jensen (43) und Glenn (32), Weil und Felix (86), Wolf (90), P. v. Gera (31) und O. Stieckl (77) die Milchzuckerspaltung der Proteuskeime, wobei Glenn die Milchzuckerspaltung unter anaeroben Bedingungen prüfte!

Minning und Ritter (62) und ebenso Holtke (61) weisen noch darauf hin, daß die Proteuskeime in ihren Versuchen auch zu keiner Gasbildung in der Laktose befähigt waren.

Versuchsordnung:

Die Peptonlaktosebromthymolblaulösung wurde gemäß Anlage 1 zu § 27, Abs. 6, ABA zum Fleischbeschaugesetz vom 29. Oktober 1940 unter Beigabe eines Gärhütchens hergestellt.

Zahl der untersuchten Stämme: 166
Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Sämtliche 166 untersuchten Proteusstäme vermochten während einer 15-tägigen Beobachtung weder Säure noch Gas in Peptonlaktoselösung zu bilden.

Versuchsbewertung:

Der Versuch berechtigt die Annahme, daß die bei Mensch und Tier vorkommenden Proteuskeime in der Regel gegenüber Laktose inaktiv sind. Das deckt sich mit dem oben angeführten Versuch von Klinck, der unter 1084 untersuchten Proteusstämmen keine Laktose spaltenden Stämme antraf.

- 21 -

V e r s u c h 7Verhalten gegenüber SaccharoseSchrifttum

Das Verhalten der Proteusbakterien gegenüber Saccharose wird im Schrifttum ebenfalls nicht einheitlich bewertet. R o l l e (69) schreibt hierüber, daß die Proteusbakterien Saccharose unter Gasbildung spalten. Hierin pflichtet ihm D e m n i t z (26) bei und ebenso M i n n i n g und R i t t e r (62). Letztere weisen darauf hin, daß die Gasbildung in allen von ihnen untersuchten Fällen bereits nach 24 - stündiger Bebrütung auftrat, während nur ein Teil der Proteusstäme in 24 Stunden aus Saccharose-Säure zu bilden vermochten, dagegen die anderen Stämme den Zucker erst nach Tagen angriffen. Auch M o l t k e (64) stellte in seinen Untersuchungen fest, daß die weitaus größte Zahl der von ihm untersuchten Stämme erst später die Saccharose angriffen, während alle übrigen Saccharose in den ersten 24 Stunden vergärten. Das Säurebildungsvermögen der Proteuskeime in Saccharose bestätigten in ihren Untersuchungen weiterhin noch B e r t h e l o t (10), K l i n k (48), S e l i g m a n n (75) und W i n k l e (88), wobei letzterer ebenfalls auf Proteusstäme hinwies, deren Saccharosevergärungsvermögen erst nach Tagen in Erscheinung tritt. Jedoch fehlt es auch nicht an Stimmen, die dahin zielen, daß das Saccharosevergärungsvermögen keine allen Proteusstämmen anhaftende Eigenschaft ist. B a c h (2) weist in seinen Untersuchungen neben Saccharose vergärenden Proteusstämmen auf solche hin, die diesen Zucker unverändert ließen. W o l f f (92) geht sogar soweit auf Grund seiner Versuchsreihen auszusagen, daß die Proteusbakterien gewöhnlich Saccharose nicht vergären. Auch v a n L o g h e m (56) bezeichnete den sog. Proteus anindologenes als Saccharose negativ, eine Auffassung, die L o e s b e r g (54) an Hand eines aus Urin gewonnenen und von ihm biochemisch untersuchten Proteusstamm teilt. Dagegen befanden B r a u n und V ä s ä r h e l y i (19) einen Proteus anindologenes mit Hilfe der Farbstofftechnik als Saccharose positiv. Die beiden Verfasser betonen dabei allerdings, daß man in den üblichen Laboratoriumsnährböden mit Zusatz von Indikatoren beim Bact. vulgaris anindologenes eine Verwendung von Saccharose nicht nachweisen kann.

Versuchsordnung:

Bezüglich der Herstellung der Saccharoselösung wird auf den vorhergehenden Versuch (Nr. 6) verwiesen.
Zahl der untersuchten Stämme: 166
Beobachtungsdauer: bis zu 23 Tagen.

- 22 -

Versuchsergebnis:

Sämtliche 166 Proteusstämme spalten Saccharose unter Säurebildung innerhalb 1 bis 23 Tagen. Von diesen 166 Stämmen bildeten 140 Stämme außerdem noch Gas. Lediglich 26 Stämme vermochten demnach keine Gasbildung auszulösen.

Bei 2 Stämmen (Nr. 105 und 113) trat die Gasentwicklung bereits einen Tag vor der Säurebildung auf.

Bei 71 Proteusstämmen setzte die Säure- und Gasbildung am gleichen Tag ein.

Bei allen übrigen Stämmen (67) konnte die Gasbildung erst 1 bis 11 Tage nach der Säuerung beobachtet werden.

Die Säurebildung trat entweder schon nach 24 Stunden in Erscheinung (6 St.) oder erst in den nächsten 24 Tagen (160 St.).

Versuchsbewertung:

Die Untersuchung der Proteusstämme in Saccharoselösung ermöglicht zunächst eine Aufteilung der hier untersuchten Proteusstämme in solche, die innerhalb 24 Stunden Gas zu bilden vermögen und in solche, die erst später, also mit einer gewissen Verzögerung Gas aus Saccharose bilden. In gleicher Weise erlaubt die Säurebildung in Saccharose eine Trennung von Proteusstämmen, die schon innerhalb 24 Stunden Säure bilden und in andere, bei denen die Säurebildung verzögert, das heißt nach 24 Stunden auftritt. Schließlich muß noch die Tatsache Berücksichtigung finden, daß von den 166 untersuchten Proteusstämmen 26 Stämme überhaupt kein Gas zu bilden vermochten und danach nur Säurebildung zeigten.

Versuch 8Verhalten gegenüber ArabinoseSchrifttum

Die Mitteilungen über das Verhalten des Bact. Proteus gegenüber Arabinose beschränken sich auf eine geringe Zahl. Doch selbst die verhältnismäßig wenigen Autoren, die darüber berichten, weisen gegenteilige Beobachtungen auf. Während Minkle (88) und Moltke (60) in ihren Versuchen zur Feststellung kamen, daß die Proteusbakterien durchweg nicht in der Lage sind Arabinose anzugreifen, fand Florescu (29) von 17 untersuchten Proteusstämmen 8 und Minning und Ritter (62) von 21 Stämmen 7,

- 23 -

die ein Säurebildungsvermögen in Arabinose besaßen.

Versuchsordnung:

Bezüglich der Herstellung der Arabinoselösung wird auf Versuch Nr. 6 (Laktose) verwiesen. Die Beigabe eines Gashütchens zu den Kulturröhrchen erübrigte sich.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.
Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Sämtliche untersuchten Proteusstäme waren nicht in der Lage während 15-tägiger Bibrütung Arabinose zu spalten.

Versuchsbewertung:

Entgegen anderer Mitteilungen des Schrifttums erscheint auf Grund der eigenen Versuche ein Arabinosespaltungsvermögen der Proteusbakterien wenig wahrscheinlich.

Versuch 9

Verhalten gegenüber Rhamnose

Schrifttum

Soweit aus dem Schrifttum ersichtlich ist, vermögen die Proteusbakterien in ihrer überwiegenden Mehrzahl Rhamnose nicht anzugreifen. Jedoch beschreiben Winkler (88), Moltke (60), Manning und Ritter (62) jeweils einige wenige Rhamnose vergärende Stämme.

Versuchsordnung:

Bezüglich der Herstellung der Rhamnoselösung wird auf Versuch Nr. 6 (Laktose) verwiesen. Die Beigabe eines Gashütchens zu den Kulturröhrchen war nicht erforderlich.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.
Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Keiner der untersuchten Proteusstäme war in der Lage Rhamnose zu spalten.

Versuchsbewertung:

Rhamnosespaltende Stämme, wie sie im Schrifttum erwähnt sind, dürften jedenfalls zu den Seltenheiten gehören und die Annahme gerechtfertigt sein, daß die gewöhnlich vorkommenden menschlichen und tierischen Proteusstäme

- 24 -

Rhamnose nicht zu verändern mögen.

V e r s u c h 10

Verhalten gegenüber Mannit

Schrifttum

Der 6 - wertige Alkohol Mannit ist, wie S e l i g m a n n (75) schon betonte, wegen der widersprechenden Angaben in der Literatur von besonderem Interesse. Von den zahlreichen Autoren, die Kohlehydratspaltung durch Proteusbakterien untersucht haben, fanden T h j o t t a (79), H o r o w i t z (38) und B e s s o n (14), R a n q u e (56) und S e n e z (76) und D e A s s i s (1) Mannitspaltung. Auch K r i s t e n s e n (52), B o y l e n (15) und K j a e r (46) fanden bei ihren Untersuchungen über coliähnliche Bakterien mannitvergärende Gruppen, die nach Ansicht von M i n n i n g und R i t t e r (62) auf Grund der Ergebnisse der übrigen biochemischen Untersuchungen in die Gattung Proteus einzuordnen sind. M i n n i n g und R i t t e r (62) selbst dagegen konnten in ihren Versuchen keine Einwirkung der Proteusbakterien auf Mannit feststellen. Zu der gleichen Beobachtung kamen B a r t h l e i n (4), W o l f f (92), S c h ä f f e r (73), B a c h (2), D e m n i t z (26), v a n L o g h e m (55), L o e s b e r g (54), B e r t h e l o t (10), M o l t k e (60), P e r g o l a (65), W e n n e r (84), R e t t g e r (67), C a s t e l l a n i (24), C h a l m e r s (22), B e r g e y (8), H a u p t (34) und W i n k l e (88). Auch S e l i g m a n n (75) konnte keine Veränderung im Mannit - Lackaus - Nutroselösung nach Barsiekow durch Proteuskeime feststellen. Ebenso vertreten K o l l e , K r a u s und U h l e n h u t (51) die Ansicht, daß Mannitspaltung durch Proteuskeime nicht möglich ist.

Versuchsordnung:

Die Herstellung des Mannitnährbodens erfolgte nach den gleichen Richtlinien, wie die Herstellung der Laktoselösung in Versuch Nr. 6. Auf die Beigabe eines Gärhütchens zu den Kulturröhrchen konnte verzichtet werden.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.

Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Keiner der untersuchten Stämme vermochte während der 15 - tägigen Gärung den Mannit anzugraifen.

- 25 -

Versuchsbewertung:

Die eindeutigen Ergebnisse des vorstehenden Versuches lassen darauf schließen, daß die Proteusstäme nicht in der Lage sind, den 6-wertigen Alkohol Mannit zu spalten. Meine Versuchsergebnisse stehen damit im wesentlichen Gegensatz zum Schrifttum, das von Mannit spaltenden Proteusbakterien berichtet.

Die Keime der Proteusgruppe unterscheiden sich durch ihr Unvermögen Mannit zu spalten von den Angehörigen der Paratyphus - Enteritis - Gruppe, da letztere mit Ausnahme des Bact. suipeetifer Gläser Voldagsen, mannitpositiv sind.

Versuch 11

Verhalten gegenüber D - Tartrat

Schrifttum

Über das Verhalten der Proteuskeime gegenüber D - Tartrat liegen Angaben im zugänglichen Schrifttum nicht vor.

Versuchsanordnung:

Die Herstellung des Nährbodens erfolgte nach der Methode von Kristensen und Boylen in der Modifikation nach Silberstein.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.

Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Sämtliche untersuchten Stämme verhielten sich gegenüber D - Tartrat während einer 15-tägigen Bebrütung negativ.

Versuchsbewertung:

Der negative Ausfall dieser Untersuchung berechtigt zu der Annahme, daß die Proteuskeime weinsaure Salze (Tartrate) nicht zu spalten vermögen.

Versuch 12

Verhalten gegenüber Glukose

Schrifttum

Die Fähigkeit der Proteuskeime Glukose zu spalten begegnet im Schrifttum kaum einem Zweifel. Berthelot (10), Wolff (92), Holte (60),

Magath (58), Braun und Väsärholyi (19), Demnitz (26), Castellani (23), Chalmers (21), Haupt (34), Seligmann (75), Minning und Ritter (62), Klink (48) und Rolle (69) bestätigen alle das Säurebildungsvermögen der Proteusbakterien in Glukoselösung, lediglich Baerthlein (4) schränkt diese Einmütigkeit ein, indem er eine nur schwache Vergärung der Traubenzuckerbouillon durch das Bact. Proteus beobachtet haben will. Auch die neben der Säuerung noch auftretende Gasbildung wird einmütig von den Autoren, die diesbezügliche Untersuchungen vornahmen, bestätigt. So weisen Rolle (69), Seligmann (75), Castellani (23), Chalmers (21), Haupt (34) und Magath (58) auf diese Fähigkeit der Gasbildung in Glukose hin.

Versuchsordnung:

Bezüglich der Herstellung der Peptonglukosebrothymolblaulösung wird auf Versuch 6 (Laktose) verwiesen. Den Nährmedien wurde ein Gärröhrchen beigelegt.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.

Beobachtungsdauer: 24 Stunden bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Sämtliche untersuchten Proteusstäme spalteten Glukose unter Säure- und Gasbildung innerhalb 24 Stunden.

Versuchsbewertung:

Das eindeutige Versuchsergebnis berechtigt dazu, das Säure- und Gasöildungsvermögen in Glukose zu den konstanten biochemischen Eigenschaften der Proteuskeime zu zählen.

Versuch 13

Verhalten gegenüber Maltose

Schrifttum

Die im Schrifttum niedergelegten Beobachtungen lassen darauf schließen, daß das Bact. Proteus zum überwiegenden Teil nicht in der Lage ist, Maltose zu spalten und nur zungeringer Teil befähigt ist, aus diesem Zucker Säure zu bilden. Jöttens (44) und Schäfers (72) Ansicht, daß nur Proteus X Stämme in der Lage seien, Maltose schnell zu zerlegen ist nach Moltke (61) nicht zutreffend. Wolf (92) äußerte sich dahingehend, daß Maltose gewöhnlich bei Einwirkung von Proteusbakterien unverändert bleibe. Demnitz (26) allerdings fand bei seinen Untersuchungen Maltosevergärung

- 27 -

durch Proteuskeime, Teils Maltose positive teils Maltose negative Proteusstäme beobachteten W i n k l e (88), S e l i g m a n n (75), B a c h (2), M o l i k e (60), M i n n i n g und R i t t e r (62), B e r t h e l o t (10) und P a n d i t (64). L o e s b e r g (54) hatte bezüglich der Maltose bei den von ihm untersuchten sog. *Proteus anindologenes* ein negatives Ergebnis im Gegensatz zu B r a u n und V ä s ä r h e l y i (19), die mit Hilfe der Farbstofftechnik *Proteus anindologenes* als Maltose positiv beschrieben, wobei sie allerdings darauf hinwiesen, daß man mit den üblichen Laboratoriumsnährböden mit Zusatz der Indikatoren bei *Proteus anindologenes* eine Verwendung der Maltose nicht nachweisen könne. M i n n i n g und R i t t e r (62) fanden bezüglich der Zeitdauer, innerhalb welcher Maltosevergärung durch die Proteuskeime auftritt in ihren Versuchen einerseits Stämme bei denen diese Fähigkeit schon nach 24 Stunden in Erscheinung trat, andererseits auch solche Stämme, die erst nach mehrtägiger Bebrütung Maltose anzugreifen vermochten. Letzteres beobachtete auch S e l i g m a n n (75). Was die in der Literatur immer wieder angeführte Parallele zwischen Maltosevergärung, Saccharosevergärung und Indolbildung anlangt, so wird darauf bei der Besprechung der Untergruppeneinteilung, noch eingehend eingegangen.

Versuchsordnung:

Bezüglich der Herstellung der Peptonmaltosebromthymolblaulösung wird auf Versuch Nr. 6 (Laktose) verwiesen. Die Beigabe eines Gärhütchens zu den Kulturröhrchen erübrigte sich.

Zahl der untersuchten Stämme: 166.

Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Versuchsergebnis:

Von den 166 untersuchten Proteusstämmen vermochten lediglich 5 Stämme (Nr. 33, 53, 54, 55 und 139) Maltose unter Säurebildung zu spalten. Diese Säurebildung trat bei allen 5 Stämmen bereits nach 24 Stunden auf.

Die restlichen 161 Stämme blieben innerhalb der 15-tägigen Beobachtungszeit Maltose negativ.

Versuchsbeurteilung:

Das Verhalten der untersuchten Proteusstäme gegenüber Maltose ermöglicht eine Aufteilung dieser Erreger in Maltose p o s i t i v e und Maltose n e g a t i v e Stämme, wobei die Zahl der Maltose positiven Stämme g e r i n g e r sein dürfte.

Die Ergebnisse der eignen Versuche decken sich damit weitgehend mit den Mitteilungen des Schrifttums. V e r z ö g e r t e Säurebildung aber, wie sie dort

- 28 -

erwähnt wird, konnte nicht beobachtet werden.

Versuch 14Verhalten gegenüber AeskulinSchrifttum

Nur wenig sagt das Schrifttum über das Verhalten der Proteusstäme gegenüber Aeskulin aus. Während H o r o w i t z (39) die Behauptung aufstellte, daß die Proteusstäme dieses Glykosid nicht zu spalten vermögen und degemäß darin ein Unterscheidungsmerkmal gegenüber den Aeskulin spaltenden Kloakonstämen sah, fand W i n k l e (88) unter den von ihm untersuchten 1084 Proteusstämen eine ganze Reihe Aeskulinspalter. Ebenso beobachteten H i n n i n g und R i t t e r (62) in ihren Versuchsreihen zwei Proteus X - Stämme, die diese Fähigkeit besäßen:

Versuchsordnung:

100 ccm Rindfleischbouillon (Ph 7,5) werden 10 ccm einer 1% - igen Aeskulinwasserlösung zugesetzt. Je 2 ccm dieser Aeskulinbouillon erhalten als Indikator 0,05 ccm einer sterilen 1% - igen Ferrum citricum Lösung.

Zahl der untersuchten Stämme: 166

Beobachtungsdauer: 15 Tage bei 37° C.

Kontrolle: unbeimpfter Nährboden.

Versuchsergebnis:

Innerhalb der Beobachtungszeit von 15 Tagen trat in sämtlichen Aeskulinkulturen Braunfärbung auf, die frühestens nach 24 Stunden begann und nach 15 Tagen bei 159 Stämmen in ockerbraunem Farbton, der sich nicht mehr veränderte, gegeben war. Demgegenüber zeigten 4 Stämme (Nr. 53, 54, 55, 139) bereits nach 24 Stunden und drei weitere Proteusstäme (Nr. 33, 49, und 148) nach 48 Stunden eine tiefdunkelschwarzbraune Verfärbung, die sich deutlich von der ockerbraunen Farbe unterschied.

Nachdem das unbeimpfte Kontrollröhrchen während der Bebrütungszeit von 15 Tagen seinen gelben Farbton beibehielt, muß in der Ockerbraunfärbung eine geringe, in der Schwarzfärbung aber eine starke positive Reaktion gesehen werden.

Es besteht danach die Möglichkeit, die Proteusstäme in solche mit geringem Aeskulinspaltungsvermögen (Ockerbraunfärbung der Reaktion) und solche mit stark ausgesprochener Aeskulin-

- 29 -

spaltungsfähigkeit (Schwarzfärbung der Reaktion) aufzuteilen.

Versuchsbewertung:

Die eigenen Versuche bestätigen die Mitteilungen des Schrifttums und bejahen das Aeskulinspaltungsvermögen der Proteuskeime mit der Einschränkung, daß die Mehrzahl der Proteusstäme nur ein geringes Aeskulinspaltungsvermögen besitzen und demgegenüber nur wenige Stämme Aeskulin in ausgiebigem Maße spalten.

Die Ergebnisse der an einem größeren Untersuchungsmaterial von Proteusstämmen menschlicher und tierischer Herkunft durchgeführten biochemischen Untersuchungen ermöglichen eine Einteilung dieser Erreger in genügend scharf gekennzeichnete Untergruppen. Auch im Schrifttum ist der Versuch einer derartigen Einteilung der verschiedenen Proteusarten schon verschiedentlich behandelt worden.

Versuch 15

Praktische Auswertung der biochemischen Untersuchungsergebnisse

Schrifttum

Die große Variabilität der Proteuskeime zwang dazu besonders bei zunehmender Erkenntnis ihrer Bedeutung immer wieder den Versuch zu unternehmen, sie einer gewissen Systematik einzuordnen. Es konnte allerdings nicht ausbleiben, daß bei der sehr beachtlichen Modifikationsfähigkeit dieser Bakterien solche Versuche zum Teil die Meinung der einzelnen Autoren oft schroff gegeneinanderstellte. Bereits B a e r t h l e i n 1918 (4) unternahm einen Vorstoß in dieser Richtung. Er unterscheidet in seinen Versuchen nach 24 - stündiger Bebrütung auf Agarplatten drei charakteristische und stark voneinander abweichende Kolonietypen, wobei die erste und dritte Kolonievaretät die Gelatine kräftig verflüssigt, während die zweite Variante sie erst innerhalb 5 Tagen schwach peptonisiert, Milch wird bei der ersten und dritten Variante binnen 24 Stunden koaguliert, bei der zweiten Variante erst nach einigen Tagen. Indol wird von allen drei Typen gebildet. Wie wenig brauchbar für jegliche Systematik aber diese drei Kolonietypen B a e r t h l e i n s sind, kennzeichnet deutlich S c h ä f f e r (73) durch seine Feststellung, daß das verschiedene Verhalten der Proteuskeime auf Gelatine und Milch individuellen Schwankungen unterworfen, unbeständig und daher als Einteilungsprinzip unbrauchbar ist. S c h ä f f e r 1919 (73) aber teilte seinerseits die Proteusstäme infolge ihres verschiedenen kulturellen Verhaltens in zwei Gruppen ein:

- 30 -

I. Gruppe: Indol positiv
Maltose positiv
Saccharose positiv.

II. Gruppe: Indol negativ
Maltose negativ
Saccharose negativ.

Auch D e m n i t z 1926 (26) beobachtete in seinen Versuchen *Proteus*-Stämme, die Indol bildeten und zugleich Maltose und Saccharose positiv waren. Ebenso wies B r a u n (17) auf diese sonderbare Parallele zwischen Indolbildung und der Fähigkeit Maltose und Saccharose zu spalten, hin. Ferner hoben C. O. J e n s e n (42), B a h r (5), T h o m s e n (78), B e n g t s o n (13), W e n n e r (85), R e t t g e r (68), D o o r e n b o s (27) und J ä t t e n (45) die Bedeutung der Maltosevergärung und den Zusammenhang mit der frühzeitigen Saccharosevergärung hervor und B e n g t s o n (13) und D o o r e n b o s (27) beobachteten neben S c h ä f f e r (73) den Zusammenhang zwischen Indolbildung und Maltosevergärung. Auch M a c c o l i n i (57) wies in jüngerer Zeit auf diesen Zusammenhang hin.

M o l t k e 1929 (60) unternahm nun wohl als erster mit 163 Stämmen einen Großversuch im Bestreben die *Proteus*-Bakterien einer klareren Systematik zugänglich zu machen. Auch M o l t k e kommt dabei zu der Erkenntnis, daß das Verhalten der *Proteus*-Keime gegenüber Maltose und Saccharose von wesentlicher Bedeutung ist. Seine Gruppe I, die weitaus die größte ist, vergärt nicht Maltose und erst spät Saccharose, während alle übrigen Maltose und Saccharose in den ersten 24 Stunden vergären. Hierdurch ist eine scharfe Trennungslinie zwischen zwei Hauptabteilungen der *Proteus*-Bakterien gezogen worden, die - fast - im Gefolge der Fähigkeit der Indolbildung auftreten. Nur ein Maltose vergärendes Stamm bildete bei Holke kein Indol, aber keiner der nicht Maltose vergärenden war instande dazu. Nach dem Verhalten zu den übrigen Zuckerarten nahm nun M o l t k e eine weitere Gruppeneinteilung vor, die allerdings nach seiner eigenen Ansicht möglicherweise kaum größeres Interesse hat. In gesamt stellte er 10 Gruppen auf.

Dagegen traten M i n n i n g und R i t t e r 1937 (62) in scharfen Widerspruch gegen M o l t k e. Die Verfasser fanden zwar 14 Stämme von untersuchten 21, die sich so verhielten, wie die Stämme der Gruppe I bei M o l t k e (Indol negativ, Maltose negativ, Saccharose vorzögert positiv). Dagegen fanden sie nur einen Stamm, der in die zweite Hauptgruppe M o l t k e s hineinpaßte (Indol positiv, Maltose und Saccharose innerhalb 24 Stunden positiv). Drei Stämme aber von M i n n i n g und R i t t e r bildeten kein Indol und

- 31 -

spalteten Maltose und Saccharose erst nach mehrtägiger Bebrütung. Ein Stamm bildete Indol vermochte aber Maltose innerhalb 21 Tagen nicht zu spalten. *Minnig* und *Ritter* halten demgemäß eine Aufteilung der Gattung *Proteus* nach dem Verhalten gegenüber Maltose, Saccharose und Indolbildung nicht in allen Fällen für ratsam. Nur ihre Gruppe I stimmt mit der Gruppe I von *Moltke* überein. Ein weiteres Zusammenfassen der *Proteus*-Stämme erwies sich in ihren Untersuchungen infolge des Säurebildungsvermögens aus Arabinose, Rhamnose und Dextrin unmöglich. Eine Einordnung der untersuchten Stämme in das Schema von *Moltke* ist größtenteils unmöglich, insbesondere lassen sich Übergänge zu den beiden Hauptgruppen *Moltkes*, die dieser auf Grund des Verhaltens gegenüber Maltose und Saccharose und auf Grund der Indolbildung aufstellte, nachweisen.

Winkler 1944 (88) unternahm mit 1084 *Proteus*-Stämmen nun den bisher größten Versuch einer systematischen Ordnung der *Proteus*-Bakterien. Er stellte zwei Hauptgruppen auf:

Gruppe I: Indol positiv, Maltose positiv, Saccharose positiv;
Gruppe II: Indol negativ, Maltose negativ, Saccharose verzögert positiv

auf die sich zwanglos die 8 von ihm beobachteten biochemischen Typen verteilen. Die meisten der von *Winkler* untersuchten *Proteus*-keime fallen in die Gruppe II.

Die Typen IV, VII, VIII und IX von *Moltke* waren bei den Stämmen *Winklers* nicht vertreten.

Winkler vertritt die Meinung, daß die relativen Häufigkeiten der Typen möglicherweise örtlich, zeitlich, sowie auch der Herkunft des Materials nach wechseln. *Winkler* stellte außerdem fest, daß als Regel gelten könne, daß die zu einem bestimmten serologischen Typus gehörenden Stämme sich in biochemischer Hinsicht identisch verhalten.

Versuchsbewertung:

Zur Bewertung der biochemischen Aktivität der einzelnen *Proteus*-Stämme stehen die in Tabelle zu Versuch 15 niedergelegten Ergebnisse der eigenen Untersuchungen (Versuch 1 mit 14) zur Verfügung.

Zur Tabelle zu Versuch 15 kann bemerkt werden:

Die biochemisch geprüften 166 *Proteus*-Stämme verschiedener Herkunft zerfallen auf Grund ihrer biochemischen Eigenschaften in zwei Untergruppen, die mit A und B in der Tabelle bezeichnet wurden. Die Untergruppe A umfaßt die Maltose positiven *Proteus*-Stämme, die Untergruppe B die Maltose negativen Stämme.

- 32 -

In der Untergruppe A ermöglicht die Aeskulinspaltung eine Unterscheidung in Proteusstämme mit starkem Aeskulinspaltungsvermögen und solche bei denen diese Fähigkeit nur in geringem Grade ausgeprägt ist. Sie umfaßt danach zwei Typen, die nur durch den Grad ihrer Aeskulinspaltungsvermögens zu unterscheiden sind. Unter den Maltose positiven Stämmen befinden sich nach den Untersuchungen von Vogel (93) keine äusepathogenen Stämme.

In der Untergruppe B, welche die Maltose negativen Stämme umfaßt, ermöglichen die hincienischen Untersuchungen in Aeskulin, Gelatine, Milch und Saccharoselösung, bei letzterer ausschließlich unter Berücksichtigung der Gasbildung, die Aufteilung der Maltose negativen Stämme in 7 verschiedene, wohl gekennzeichnete Typen. Den Typ B 1 bestimmt in ausschlaggebender Weise die stark positive Aeskulin Reaktion, die bei allen übrigen Typen der Untergruppe B nur geringgradig in Erscheinung tritt, sowie das Vermögen, Milch ohne Säurebildung zu koagulieren.

Das Unvermögen Gelatine zu verflüssigen unterscheidet den Proteustyp B 7 von allen anderen 6 Typen der Untergruppe B.

Wohlgekennzeichnet ist auch der Typ B 2 durch das Vermögen Milch unter Säurebildung zu koagulieren.

Die Maltose negativen Proteustypen B 3 und B 4, sowie B 1 koagulieren die Milch ohne Säurebildung.

Die Typen B 3 und B 4 unterscheiden sich untereinander durch die fehlende (Typ B 4), bzw. verspätet eintretende Gasbildung in Saccharose (Typ B 3). Der ebenfalls Milch ohne Säurebildung koagulierende Typ B 1 mit verspäteter Gasbildungsvermögen in Saccharose unterscheidet sich von den beiden letztgenannten Typen, wie oben bereits erwähnt, durch ausgeprägte Aeskulinspaltung. Vom Typ B 4 unterscheidet er sich außerdem noch durch das fehlende Gasbildungsvermögen des letzteren in Saccharose.

Die Proteustypen B 5, B 6 und B 7 kennzeichnet die Fähigkeit Milch zu peptonisieren. Während die Typen B 5 und B 6 Gelatine verflüssigen, vermag der Typ B 7 Gelatine nicht anzugreifen und unterscheidet sich hierin, wie bereits oben betont, von allen übrigen Typen der Untergruppe B.

Die Proteustypen B 5 und B 6 ihrerseits aber unterscheidet das fehlende Gasbildungsvermögen in Saccharose bei Typ B 6 von den, wenn auch verzögert in

T A B E L L E Z U V E R S U C H 15

Unterguppe	Typ	Maltose	Aeskulin	Gelatine	Milch			Saccharose		Indol	Saccharose		Glukose		Harnstoff	Arabinose	Rhamnose	Mannit	D-Tartrat	Stamm Nr.	
					K+S	K-S	P	Gasbildung			Säurebildung		Säure	Gas							
								24 Std.spät.	24 Std.spät.		24 Std.spät.	24 Std.spät.									
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
A	A ₁	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	33,53,54,55,139
	A ₂	*	x	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	153
B	B ₁	-	*	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	49,149
	B ₂	-	x	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	67
	B ₃	-	x	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16 22,23,25,26,27,28,29,30,32,34,35,36,37 44,45,46,47,48,50,51,57,58,59,60,61,62 68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80 88,89,91,93,94,95,96,97,98,101,103,104 108,109,110,111,113,115,117,118,123,12 134,135,136,137,138,140,141,142,143,14 149,150,151,152,154,155,157,158,159,160
	B ₄	-	x	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	19,24,31,40,42,83,85,87,90,92,99,100,10 119,125,126,127,130,131,132,166
	B ₅	-	x	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	56,122,156
	B ₆	-	x	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	52,120,121
	B ₇	-	x	-	*	*	*	*	-	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*	114,161

Zeichenerklärung:
 K+S = Koagulation mit Säurebildung
 K-S = Koagulation ohne Säurebildung
 P = Peptonisierung
 * = Positiver Ausfall der betreffenden biochemische
 - = Negativer Ausfall der betreffenden biochemische
 x = Geringgradige Aeskulinspaltung (Ockerbraunfärbun

TABELLE ZU VERSUCH 15

Milch			Saccharose		Indol		Saccharose		Glukose		Harnstoff	Arabinose	Rhamnose	Mannit	D-Tartrat	Stamm Nr.
K+S	K-S	P	Gasbildung		Säurebildung		Säure		Gas							
6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	33,53,54,55,139
*	*		*	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	153
*			-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	49,148
*			-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	67
*			-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17,18,20,21,22,23,25,26,27,28,29,30,32,34,35,36,37,38,39,41,43,44,45,46,47,48,50,51,57,58,59,60,61,62,63,64,65,66,68,69,70,71,72,73,74,75,76,77,78,79,80,81,82,84,86,88,89,91,93,94,95,96,97,98,101,103,104,105,106,107,108,109,110,111,113,115,117,118,123,124,128,129,133,134,135,136,137,138,140,141,142,143,144,145,146,147,149,150,151,152,154,155,157,158,159,160,162,163,164,165
*			-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	19,24,31,40,42,83,85,87,90,92,99,100,102,112,116,119,125,126,127,130,131,132,166
*	*		-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	56,122,156
*	*		-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	52,120,121
*	*		-	*	*	*	*	*	*	*	*	-	-	-	-	114,161

Zeichenerklärung: K+S = Koagulation mit Säurebildung
 K-S = Koagulation ohne Säurebildung
 P = Peptonisierung
 + = Positiver Ausfall der betreffenden biochemischen Untersuchungen
 - = Negativer Ausfall der betreffenden biochemischen Untersuchungen
 x = Geringgradige Äskulinspaltung (Ockerbraunfärbung)

- 33 -

Saccharose gasbildenden Typ B 5.

Die von *Y o g e l* (83) ermittelten mäusepathogenen *Proteus*stämme gehören ohne Ausnahme in die Gruppe der Maltose negativen Stämme, so daß die Prüfung der *Proteus*keime in Maltose vor weiterem dazu berechtigt, in der Maltose Reaktion eine Möglichkeit zu vermuten, die mäusepathogenen *Proteus*stämme von den apathogenen dieser Art zu trennen.

Die Angehörigen der Untergruppe A sind auf Grund der erzielten Versuchsergebnisse biochemisch aktiver als die Typen der Untergruppe B. Dafür spricht neben anderen auch die Tatsache, daß verzögerte Reaktionen, d.h. solche, die später als nach 24 Stunden aufgetreten sind, bei den Typen der Untergruppe A nicht vorkommen, sondern nur bei den Angehörigen der Untergruppe B angetroffen werden (Indolreaktion, Säurebildung in Saccharose).

Beiden Untergruppen gemeinsam ist das Unvermögen Arabinose, Rhamnose, Mannit und D-Tartrat anzugreifen und die Fähigkeit Glukose unter Säure- und Gasbildung zu spalten, sowie den Harnstoff abzubauen.

Diese letztgenannte Reaktion verspricht schließlich auch noch die Möglichkeit die Angehörigen der *Proteus*gruppe von den zur *Paratyphus-Enteritis*-Gruppe zugehörigen Bakterien zu unterscheiden. Diese Frage wurde, wie eingangs bereits erwähnt, im Rahmen der hier durchgeführten biochemischen Untersuchungen geprüft.

V e r s u c h 16

Biochemische Unterscheidung der *Proteus*keime von den *Paratyphus-Enteritis*-Keimen.

Schrifttum

Da das *Bact. Proteus* auf den für die Isolierung von Typhuskeimen benutzten Spezialnährböden häufig typhusähnliches Wachstum zeigt, ergab sich alsbald die zwingende Notwendigkeit nach einem Verfahren Ausschau zu halten, mit dessen Hilfe es möglich ist, die *Proteus*bakterien in zuverlässiger Weise von den Typhuskeimen zu unterscheiden. Gleichen Schwierigkeiten begegnet eine Unterscheidung der *Proteus*bakterien von den *Paratyphus-Enteritis*keimen auf stark elektiv wirkenden Nährmedien. Die große Variabilität der *Proteus*bakterien deckt die Schwierigkeiten eines solchen Unterfangens ohne weiteres

- 34 -

auf, denn gilt es ja nicht nur zu diesem Zweck eine unbedingt konstante biochemische Eigenschaft dieser Bakterien ausfindig zu machen, sondern eine solche Eigenschaft muß, soll sie brauchbar sein, auch spätestens innerhalb 24 Stunden zum Ausdruck kommen. W o l f f (91) propagierte nun zu diesem Zweck die Verwendung von Mannitlösung, da die Proteuskeime nicht in der Lage seien den Mannit zu spalten, während Paratyphus B Rötung, Gärung und Gasbildung darin hervorruft. Sainer Meinung schlossen sich K o l l e, K r a u s und U h l e n h u t h (50) an. Wie aber aus dem Schrifttum zu meinem Versuch Nr. 10 (Mannit) hervorgeht, wollen immerhin einige Autoren Mannit spaltende Proteusstämme beobachtet haben. M i n n i n g und R i t t e r (62) wiesen demgemäß darauf hin, daß die von W o l f f (91) angeführte Differentialdiagnose zwischen Proteus- und Salmonellastämmen nicht mehr haltbar sei. R o l a n d, B o u r b o n und S z t u r m (70) benutzten zur Differenzierung des Bact. Proteus von der Paratyphus-Ruhrgruppe das Indol- und Ureasebildungsvermögen der Proteusbakterien. Nach ihren Untersuchungen konnte der Harnstoffabbau in 2 bis 4 Stunden und das Indolbildungsvermögen in 24 Stunden nachgewiesen werden. Schließlich ist nicht unwesentlich, daß der bislang Paratyphus-D-Untergruppe zählende Paratyphustyp Eastbourne trotz des Besitzes typischer O-Antigene der O-Gruppe Indolbildner ist. Wie wenig brauchbar im übrigen nun aber das Indolbildungsvermögen der Proteuskeime zur Unterscheidung von den Paratyphus-Enteritis-Keimen ist, geht unschwer aus meinen eigenen im Versuch 7 niedergelegten Untersuchungen, wie auch den dazugehörigen Schrifttum hervor.

Die Frage der Brauchbarkeit des Harnstoffabbaues zur Untersuchung der Proteuskeime von den Paratyphus-Enteritis-Keimen ist im Schrifttum bisher noch nicht weiter erörtert worden und sollte deshalb in eigenen Untersuchungen geprüft werden, zumal andere biochemische Untersuchungsverfahren hierfür nicht gegeben sind.

Versuchsordnung:

Zahl der geprüften Proteusstämme: 166

Zahl und Art der geprüften Paratyphusstämme: siehe Seite

Die Versuchsanstellung deckt sich mit der Versuchsanordnung zu Versuch 4.

Versuchsergebnis:

Von den untersuchten Paratyphus-Enteritis-Stämmen der Untergruppen A, B, C, D, E, G und I vermochte während einer 15-tägigen Beobachtung keiner Harnstoff abzubauen.

- 75 -

Sämtliche geprüften Paratyphus-Enteritis-Stämme unterschieden sich hierin in eindeutiger Weise von den 166 in eigenen Versuchen geprüften Proteusstämmen verschiedener Herkunft, die frühestens schon nach 2 Stunden sicher aber nach Ablauf von 4 Stunden den Ureaseabbau durch deutliche Rotfärbung der Phenolphthaleinlösung anzeigten.

Versuchsbewertung:

Der zeitliche Ablauf der positiven Reaktionen ermöglicht es, dieses Untersuchungsverfahren in den Dienst der bakteriologischen Fleischuntersuchung zu stellen, ohne damit die reichsamtlich vorgeschriebene Untersuchungsdauer überschreiten zu müssen. Die Anwendung dieser Untersuchungsmethode ist neu und bedarf kaum noch einer weiteren Überprüfung.

Zusammenfassung.

Die biochemischen Untersuchungsverfahren ermöglichen eine zuverlässige Aufteilung der bei Mensch und Tier anzutreffenden Proteuskeime und gleichzeitig auch ihre sichere Unterscheidung von den Keimen der Paratyphus-Enteritis-Gruppe. Zur Differenzierung der Proteuskeime werden die Prüfungen in Maltose, Aeskulin, Gelatine und Milch neben dem Nachweis der Gasbildung in Saccharoselösung benötigt. Dabei ermöglicht das Verhalten der Proteusstämmen in Maltoselösung eine Trennung der Angehörigen der Proteusgruppe in solche, die Maltose zu spalten vermögen (Untergruppe A) und in solche, die Maltose nicht anzugreifen vermögen (Untergruppe B). Die Maltose positiven Proteusstämmen können durch ein geringes oder starkes Aeskulin-Spaltungsvermögen in die Typen A 1 und A 2 aufgeteilt werden. Für beide Typen der Untergruppe A ist kennzeichnend, daß sie Milch ohne Säurebildung koagulieren und in Saccharoselösung innerhalb 24 Stunden Gas bilden.

Indol wird von den Typen der Untergruppe A bereits nach 24 Stunden gebildet. In Saccharoselösung vermögen sie bereits innerhalb 24 Stunden nachweisbare Säurebildung auszulösen.

Die Maltose negativen Proteusstämmen können in der Untergruppe B zusammengefaßt werden. Die Angehörigen dieser Unter-

- 36 -

gruppe lassen sich an Hand des hier untersuchten Materials nach ihrem Verhalten gegenüber Aeskulin, Milch und Saccharose in 7 gut gekennzeichnete Typen aufteilen.

Ganz allgemein kann auch gesagt werden, daß die biochemische Aktivität der zur Untergruppe B zugehörigen Proteusstäme geringer ist als jene der Untergruppe A. Wohl aus diesem Grunde tritt bei den Proteusstämmen der Untergruppe B die Indolbildung bei allen Typen dieser Untergruppe später, d.h. erst nach 24 Stunden auf und gelingt der Nachweis von Säure in Saccharoselösung ebenfalls erst mit Verzögerung, d.h. später als nach 24 Stunden.

Den Angehörigen beider Untergruppen eigen ist die Befähigung Glukose unter Säure und Gasbildung innerhalb 24 Stunden zu spalten und Harnstoff in der noch kürzeren Frist von 2 bis 4 Stunden abzubauen.

Sämtlichen Proteuskeimen gemeinsam ist außerdem das Unvermögen Arabinose, Rhamnose, Mannit und D-Tartrat anzugreifen.

Die Proteuskeime sind danach biochemisch ausreichend gekennzeichnet.

Das Harnstoffabbauvermögen dieser Erreger gestattet außerdem noch eine zuverlässige Unterscheidung der Proteuskeime von den Paratyphus-Enteritis-Bakterien, die hierzu nicht in der Lage sind. Diese Unterscheidung ist neu und deshalb von besonderer Bedeutung, weil bisher ein gleichbrauchbares, einheitliches Unterscheidungsverfahren nicht gegeben war. Dem hier ausgearbeitetem Verfahren kommt noch der Vorteil zu, daß die Reaktion nicht nur sehr frühzeitig eindeutige Ergebnisse zu liefern vermag, sondern auch jederzeit in einfacher Weise auf billigen Wege zu erreichen ist.

Ergänzend will schließlich noch bemerkt werden, daß die von Vogel (83) isgleichen Untersuchungsmaterial nachgewiesenen mäusepathogenen Stämme ohne Ausnahme zur Untergruppe B gehören, das heißt, Maltose negativ sind. Inwiefern die Maltosespaltung als Kennzeichen der apathogenen Proteusstäme zu bewerten ist, muß noch durch umfangreichere Untersuchungen in dieser Richtung geprüft werden. Dabei kann vielleicht auch von Bedeutung sein, zu welchen Typen der Untergruppe B die pathogenen Proteusbakterien gerechnet werden müssen.

- 37 -

Die von W i r s c h i n g (69) vorgenommene Aufteilung des gleichen Untersuchungsmaterials in 13 auf Grund ihres O-Antigengehaltes verschiedene Untergruppen deckt sich n i c h t mit der hier auf biochemischen Weg erreichten Untergruppeneinteilung.

Inwieweit die Behandlung eines größeren Untersuchungsmaterials zur Feststellung w e i t e r e r T y p e n führen kann, ist nicht abzusehen. Bei der biochemischen und serologischen Variabilität dieser Keime muß diese Möglichkeit eingeräumt werden.

Page Denied

Next 6 Page(s) In Document Denied

**Untersuchungen von Fleisch essbarer Tiere
unter Bezeichnung der pH-Wert-Bestimmung,
der Eber'schen Probe und der Bleiazetatprobe**

Fritz O s t h o f f

Aus der Bayerischen Landesanstalt für Tierseuchenbekämpfung
in Schleissheim
Direktor: Professor Dr. Hugo G r a u .
Vorgelegt von
Institut für Tierhygiene der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München
Komm.Vorstand: Professor Dr. M. R o l l e .

Untersuchungen von Fleisch essbarer Tiere unter Berücksichtigung der
pH-Wert-Bestimmung, der Eber'schen Probe und der Gleiazetatprobe.

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Fritz Osthoff
Tierarzt
aus
Kulkau/Posen

München 1950

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Geheimerat Professor Dr. Dr.h.c. R. D e n o l l

Referent: Professor Dr. M. R o l l e

Tag der Promotion: 26.2.1951

U N I - Druck, München 13, Amalienstr.85

Gewidmet meiner lieben Frau.

Inhaltsverzeichnis:

	<u>Seite</u>
A. Schrifttum	1
a) Fleisch schlechtbarer Haustiere	1
b) Fleisch von Wild	8
c) Fleisch von Geflügel	9
d) Fleisch von Fischen	9
B. Eigene Versuche	13
I. Versuchs-Anordnung	13
II. Untersuchungsergebnisse	16
C. Zusammenfassung	53
Schriftumsverzeichnis	57

- 1 -

A. S c h r i f t t u m .

Seit A n d r j e w s k i (1) auf die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Beurteilung von Fleisch hingewiesen hat, haben sich zahlreiche Fleischhygieniker mit der Frage der Brauchbarkeit dieses Untersuchungsvorfahrens befasst. Von den zahlreichen im Schrifttum hierüber erschienenen Veröffentlichungen sollen in erster Linie diejenigen zur Bewertung herangezogen werden, deren Versuchsergebnisse in der Literatur niedergelegt sind. (Vgl. Anhang, Tabelle I.)

a) Fleisch schlachtbarer Haustiere.

A n d r j e w s k i (1) hat auf Grund umfangreicher Untersuchungen am Fleisch schlachtbarer Haustiere folgende Durchschnittsergebnisse erzielt:

- 1.) Der vor Ablauf einer Stunde nach der Abschächtung irgend eines Schlachtieres untersuchte Muskelwasserextrakt zeigt ohne Ausnahme einen pH-Wert von 6,9 - 6,7.
- 2.) In den weiteren 16 - 20 Stunden sinkt die pH-Zahl auf den tiefsten Punkt. Dieser Punkt des grössten Säuregrades im Muskelgewebe gesunder Tiere entspricht bei Rind-, Kalb- und Schweinefleisch ziemlich genau pH 6,0, bei Pferdefleisch erreicht er gewöhnlich 5,7 - 5,8, bei Schaffleisch nur die pH-Zahl 6,1 - 6,2. Bei Aufbewahrung des Fleisches bei einer Temperatur von etwa 0° C bleibt die niedrigste pH-Zahl inmitten eines grösseren Fleischstückes solange unverändert, bis sich darin die Mikroben zu vermehren beginnen.
- 3.) Bei Aufbewahrung des Muskels bei einer höheren Temperatur (8-15° C) beginnt der pH-Wert des Fleisches bald nach Erreichung des tiefsten Punktes fortschreitend während 2 - 4 Tagen zu steigen, wobei es sich herausstellt, dass die pH-Zahl 6,5 an der Grenze steht zwischen dem Fleisch, das für gewöhnlich noch als gut gilt und eines, das schon einen schlechten Geruch aufweist und für den Konsum unzulässig ist. Das Steigen auf pH 6,6 und höher wurde immer beobachtet, sobald sich Anzeichen der Zersetzung fanden, und auf 7,0 - 7,5, sobald das Fleisch fortgeschrittener Zersetzung verfallen war.

Zu diesen sehr regelmässig beobachteten Erscheinungen bemerkt A n d r j e w s k i, dass selten (unter 1% bei mehreren hundert Untersuchungen) und zwar insbesondere bei Pferdefleisch der pH-Wert nach der Erreichung des tiefsten Punktes in den folgenden Tagen noch weiter sank

(pH 5,5 - 5,3) und dass gleichzeitig das Fleisch infolge saurer Gärung säuerlich zu riechen begann.

Fasst man die Ergebnisse von mehreren tausend vorgenommenen Messungen an Muskelwasserextrakten der fünf Arten gesunder Schlachttiere (Pferd, Rind, Kalb, Schwein, Schaf) zusammen, so erhält man folgende Kurve der pH-Werte des unter den üblichen Bedingungen bei einer Temperatur von 8 - 15° aufbewahrten Fleisches:

1. Aufbewahrungstag	2. - 3. Tag	4. - 7. Tag
		7,2 Durch
		7,0 Fäulnis
		6,8 vordarbenes
6,8		6,6 Fleisch
Frisches		6,5 Verdächtigtes
Fleisch	Tadelloses	Fleisch
6,4	Fleisch	6,4 Zum Konsum zugelassenes Fleisch
6,2	6,0 ... 6,0	6,2
6,0		6,0

Mit Recht hat Andrjewski darauf hingewiesen, dass die Veränderungen der H-Ionenkonzentration im Muskelgewebe krank geschlachteter Tiere ausserordentlich kompliziert und weitere Untersuchungen zur Klärung dieser Frage erforderlich sind.

Leonfeld (14) sieht sich auf Grund seiner zahlreichen Versuche nicht in der Lage, die Ansicht Andrjewskis von der mathematischen Verlässlichkeit der Methode der pH-Messung für die Beurteilung des Fleisches zu teilen. Er hält es vielmehr für bedeutungsvoll, neben dem Fleisch der oberflächlichen Schichten auch solches aus der Tiefe zur Untersuchung heranzuziehen.

Grütner (7) hält die Feststellung der H-Ionenkonzentration (Methode nach Andrjewski) zur Durchführung der Fleischschau für entbehrlich. Obwohl sie keines der bei der Schlachtvieh- und Fleischschau angewandten Untersuchungsverfahren zu ersetzen vermag, sieht Grütner in ihr als Haltbarkeitsprobe jedoch eine beachtliche Ergänzung der Befundaufnahme. Schliesslich weist Grütner auf Grund seiner zahlreichen Untersuchungen darauf hin, dass Abweichungen des pH-Wertes von der Norm zu keinerlei Rückschlüssen auf das Vorhandensein bestimmter Krankheiten

- 3 -

berechtigten, weil auch noch andere Vorgänge im Tierkörper, die man als Ursache der Reifestörung ansehen könnte, zu berücksichtigen sind.

Nach M a k a r y t a c h e f f (17) ist für frisches, geröstetes Fleisch der pH-Wert von 6,0 - 6,1 charakteristisch; für Fleisch mit verschiedenen Abweichungen von der Norm ist der pH-Wert grösser als 6,3. In Übereinstimmung mit G r ü t t n e r hält auch M a k a r y t a c h e f f die Methode nach A n d r j e w a k i nur in Verbindung mit allen sonst zur Beurteilung von Fleisch gebräuchlichen Untersuchungsverfahren für brauchbar. Nach M a k a r y t a c h e f f erweitert sich die H-Ionenkonzentration des Fleisches als ein wichtiges Mittel zur Beurteilung der Fleisch Eigenschaften erst dann, wenn auf Grund einer grossen Zahl von Beobachtungen der pH-Wert für verschiedene Fleischarten zuverlässig festgesetzt ist.

D o h n a l , V a c h a und M a l l a t (3) behaupten, dass das Fleisch gesunder Rinder und Schweine sofort zum Verbrauch gebracht werden soll, sobald sein pH-Wert nach der Zeit der Reife die pH-Zahl 6,6 erreicht hat.

Die Untersuchungen von G u t (8) zeigen, dass der Einfluss der Krankheit auf die pH-Werte des Fleisches von Schlachttieren sehr verschieden ist. G u t bewies experimentell durch seine pH-Bestimmungen an Fleisch kranker Schlachttiere die bekannte Tatsache, dass vor allem das Fleisch fieberkranker und im Zustand starker Entkräftung geschlachteter Tiere im Gegensatz zum Fleisch gesunder Tiere einen wesentlich abweichenden Verlauf der Veränderungen im Fleisch anzeigt. Bei der Messung der H-Ionenkonzentration drückt sich dieser Einfluss durch verhältnismässig hohe pH-Werte aus, so dass dieses Fleisch keine saure Reaktion erwirbt oder, sobald der gegenteilige Fall eintritt, die saure Reaktion wieder sehr rasch in die neutrale oder alkalische übergeht. G u t weist gleichzeitig aber auch darauf hin, dass selbst in Zersetzung befindliches Fleisch kranker Pferde stark sauer reagiert.

Nach E b e r l e (5) überschreitet der pH-Wert des gesunden Rindfleisches in kleinen Stücken, 6 - 8 Stunden nach der Schlachtung gemessen, die untere Grenze 6,7 nicht. Der pH-Wert des nach der Schlachtung 4 Tage lang im Kühlhaus aufbewahrten Rindfleisches weist keinen wesentlichen Unterschied vom pH-Wert des nur einige Stunden nach dem Abschachten untersuchten Fleisches auf. Mit Paratyphusekimen vom Typ Schottmüller und Typ Gaustedt künstlich infizierte Fleischstücke zeigen bis zum dritten Tag dieselben pH-Werte wie nicht infizierte Kontrollfleischstücke, wobei der pH-Wert am 3. Tag 6,5 beträgt und erst am 4. Tag auf 6,9 ansteigt. Die angeführten Bakterienstäme wirken also hemmend auf die natürlichen Zersetzungsprozesse des Muskelfleisches, eine Tatsache, die E b e r l e mit Recht als bedeutungsvoll für

- 4 -

die Fleischbeurteilung bewertet, da man in diesen Fällen auf Grund der pH-Bestimmung zu ganz falschen Folgerungen über den Genusswert solchen Fleisches kommen würde. Aus diesem Grund hält E b e r l e die pH-Wertbestimmung nur in Verbindung mit der bakteriologischen Fleischuntersuchung für zweckmäßig.

Von F o o y (6) wurde der Verlauf der pH-Werte in Fleisch studiert, das er dem Verderben aussetzte. Er kam dabei zu nachstehenden Schlussfolgerungen:

- 1.) Die pH-Zahl bei gut erstarrtem Fleisch von gesunden Rindern und Schweinen ist 6,0 und öfter kleiner als 6,0, niemals aber höher als 6,2. Die pH-Werte für Pferdefleisch liegen im allgemeinen etwas darüber, übersteigen aber niemals 6,2.
- 2.) Wird die pH-Zahl grösser als 6,2, dann beginnt die Fäulnis, ohne dass sie in der Regel mit den organoleptischen Methoden festgestellt werden kann.
- 3.) Erreicht der pH-Wert 6,4 oder 6,5, dann ist die Fäulnis meistens schon organoleptisch wahrzunehmen.
- 4.) Die pH-Zahl steigt nach F o o y s Erfahrungen in dem Maße an, als die Fäulnis fortschreitet. Unter diesem Gesichtspunkte hält F o o y die Bestimmung der H-Ionenkonzentration für die einzige Methode, um die postmortalen Veränderungen festzustellen und neben der Starre die beginnende und die eingetretene Fäulnis zu ermitteln.

Nach v. O s t e r t a g (20) ist die Reaktion der Muskulatur von Schlachttieren unmittelbar nach der Schlachtung alkalisch, zuweilen amphoter. Diese Reaktion hält bei Rindern, Schweinen und Pferden bei Sonnenwärme etwa 1 1/2 Stunden, bei kühler Witterung dagegen 3 - 3 1/2 Stunden an und geht dann in eine saure über. Bei Schafen tritt die saure Reaktion langsamer ein.

Bei notgeschlachteten Tieren kann die saure Reaktion erst nach 2 - 3 Tagen oder noch später sich einstellen und selbst völlig ausbleiben, sodass die Muskulatur bis zum Eintritt der Fäulnis alkalisch reagiert.

V a n O y e n (21) fasst die hygienische Bedeutung der pH-Bestimmung auf Grund seiner Untersuchungen wie folgt zusammen: Frisch geschlachtetes Fleisch schlachtbarer Haustiere, das 24 Stunden nach der Schlachtung einen pH-Wert von 6,8 oder höher aufweist, ist als untauglich zu betrachten. Fleisch mit pH-Werten von 6,2 - 6,8 sollte nach v a n O y e n nur auf der Freibank verkauft werden. Falls Zweifel bestehen, ob Fleisch verdorben ist oder nicht, deutet ein pH-Wert von 6,2 oder höher darauf hin, dass das Fleisch in das Inkubationsstadium der Fäulnis eingetreten ist.

- 5 -

Für Schweine beträgt dieser pH-Grenzwert 6,4.

S c h o o n (26) hat pH-Wert-Bestimmungen an 150 kranken Tieren am 1., 2. und 3. Tag post mortem vorgenommen. Während bei 27 notgeschlachteten Rindern nur in 4 Fällen Säuregrade von pH 6,3 bzw. 6,4 als unterste Stufe 4 x 8 Stunden p.mort. erreicht wurden und bei 8 kranken Pferden in 5 Fällen am 2. und 3. bzw. 4. Unterauchungstag postmort. pH-Werte von 5,8 - 6,3 gemessen werden konnten, lagen die pH-Werte bei kranken Schweinen, Schafen und Kälbern ohne Ausnahme während der gleichen Zeit in allen Fällen nahe der alkalischen Grenze.

P o s t m a (23) hat pH-Wert-Bestimmungen bei not- und krankgeschlachteten Pferden, Rindern, Kälbern, Schafen und Schweinen in grösserer Anzahl durchgeführt. Dabei wurde bei Pferden als niedrigster Wert pH 5,4 festgestellt. Bei Rindern betrug der niedrigste Wert pH 5,5, bei Schafen 5,6 und bei Kälbern 5,7. Nach P o s t m a bedarf die Beurteilung der pH-Zahl bei Schweinefleisch der besonderen Beachtung, weil sie stärker als bei anderen Fleischarten wechselt und insbesondere schon bei geringfügigen Abweichungen des Fleisches stark erhöht sein kann. Diese Unterschiede im pH-Wert betreffen auch die blassere und dunkler gefärbte Muskulatur und sind beim Schwein stärker ausgeprägt als beim Rind. P o s t m a rät deshalb an, die pH-Wert-Bestimmungen bei Schweinefleisch stets an mehreren Muskeln nebeneinander vorzunehmen.

L ü t k e f e l s (15) hat die Veränderung der H-Ionenkonzentration während und 24 Stunden nach dem Auftauen an 150 eingefrorenen Vorder- und Hintervierteln geprüft. Die Gefrierviertel kamen mit pH-Werten von 6,5 - 6,1 aus dem Lagerraum (-10° C, 90% Luftfeuchtigkeit) in den Auftauraum. Nach L ü t k e f e l s setzt die Veränderung des pH-Wertes beim Gefrierfleisch mit Beginn des Auftauprozesses durch die im Auftauraum herrschende höhere Temperatur (5-8° C) ein. Bei sämtlichen Vorder- und Hintervierteln wurde schon im Verlauf der Auftauperiode ein maximaler Säurewert erreicht, der bei den 150 Vordervierteln 5,99 und bei den 150 Hintervierteln 6,0 pH im Durchschnitt betrug. 39 Vorderviertel (26%) und 47 Hinterviertel (31,3%) hatten schon während der Dauer der Auftauperiode ihre Ausreifung beendet und zeigten am Ende des Auftauprozesses einen ansteigenden Wert von pH 6,2, der für Frischfleisch als kritisch zu beurteilen ist. Die nach Beendigung des Auftauprozesses im Kühlschrank der Verkaufsläden bei einer Temperatur von 4° C gemessenen pH-Werte verrieten in allen Fällen eine starke Steigerung gegenüber den im Auftauraum ermittelten Werten. 50 Vorderviertel und 68 Hinterviertel wiesen dabei die kritischen pH-Werte von 6,2 - 6,4 auf, ohne dass Fäulnisanzeichen grobsinnlich wahrgenommen werden konnten.

- 6 -

Bei den in die Kühlzellen des Schlachthofes (Temperatur 2° C) verbrachten Vierteln machte sich eine Erhöhung des bei Schluss der Aufzuperiode gefundenen pH-Wertes nicht oder nur schwach bemerkbar. Die kritischen pH-Werte von 6,2 und 6,3 wurden nur an 28 Vordervierteln (18,6%) und 29 Hintervierteln (19,3%) nach 24 Stunden erreicht. Dabei waren Fäulniserscheinungen grobennlich nicht feststellbar. L u t k e f e l a beobachtete eine weitgehende Übereinstimmung der pH-Werte beim Gefrierfleisch mit denen des Frischfleischs und sieht in der pH-Bestimmung des aufgetauten Gefrierfleischs ein wertvolles Mittel zur Beurteilung des Reifungszustandes und der vermutlichen Haltbarkeit des Gefrierfleischs.

Nach H a r t h (9) ist die pH-Wert-Bestimmung ein zuverlässiges Verfahren zum Nachweis beginnender Fleischfäulnis. Als Grenzwert wurde pH 6,25 bezeichnet.

W e v e r (28) hat sich lediglich mit der Untersuchung der H-Ionenkonzentration in der Muskulatur von Schlachtschweinen unter besonderer Berücksichtigung ihrer Veränderung bei transportierten und kranken Schweinen befasst. Nach W e v e r schwankt der normale pH-Wert im Fleisch gesunder und ausgeruhter Schlachtschweine 24 Stunden nach der Schlachtung zwischen 5,7 und 6,2. Schweine, bei denen im Fleisch der pH-Wert von 6,2 überschritten wird, müssen besonders sorgfältig geprüft werden. Diese Überprüfungen sind vor allem bei solchen Schweinen erforderlich, bei denen höhere Werte als 6,4 pH festgestellt wurden. Die günstigsten pH-Werte ermittelte W e v e r bei Schlachtschweinen, die überhaupt nicht transportiert worden waren. Ein normaler Transport der Schlachtschweine, wie er für die Viehmärkte notwendig ist, hat zwar einen gewissen Einfluss auf die H-Ionenkonzentration im Schweinefleisch; die hieraus sich ergebenden Veränderungen des pH-Wertes können aber als unerheblich bezeichnet werden, wenn die Schweine vor der Schlachtung ausreichende Ruhezeit und notfalls auch etwas Futter bekommen. Die höchsten pH-Werte wurden in der Muskulatur von ermüdeten, geschlechtlich erregten, mangelhaft ausgebluteten, an fieberhaften Erkrankungen (Rotlauf) leidenden Schweinen sowie bei Schweinen, die mit Leber- und Nierenschwellung, Gelbsucht, Knochenbrüchen und blutigen Muskelinfiltrationen behaftet waren, festgestellt. Bei chronischen Erkrankungen der Schlachtschweine, wie Tuberkulose, chron. Formen der Lungenbrustfellentzündung, Abszessung, Mümmern, und bei abnorm blasser und feuchter Muskulatur erreichte das Fleisch meist eine normale Säuerung. Geschlecht und Alter haben keinen wesentlichen Einfluss auf den pH-Wert des Fleisches ausgeübt. Nach Ansicht W e v e r s ist die pH-Wert-Bestimmung für die Beurteilung von Schweinen nicht so wichtig wie für die fleischbeschauliche Würdigung von Rindern und Pferden.

- 7 -

D ö r i n g (4) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu der Feststellung, dass die im Fleisch von tot- und krankgeschlachteten Tieren 24 Stunden nach der Schlachtung gemessenen pH-Werte im allgemeinen vom Grad der Erkrankung abhängig sind. D ö r i n g hat aber auch Säuerungswerte im Fleisch gefunden, die mit dem Befund der Schlachtvieh- und Fleischbeschau in Widerspruch standen und nicht zu erklären waren. D ö r i n g betont deshalb, dass es nicht möglich ist, von bestimmten pH-Werten auf einen gewissen Grad oder gar auf eine bestimmte Art der Erkrankung zu schließen. Nach D ö r i n g ist es auch nicht möglich, aus einer einmaligen pH-Wert-Bestimmung Rückschlüsse auf die Haltbarkeit des Fleisches zu ziehen und hält deshalb eine Wiederholung der pH-Messung 24 Stunden nach der Schlachtung für erforderlich. D ö r i n g erachtet die pH-Bestimmung für eine gute Handhabe, um eine ungenügende Säuerung im Fleisch festzustellen, aus der eine schnellere Verderbnis des Fleisches geschlossen werden kann. Fleisch mit pH-Werten über 6,2 und gleichzeitigen Abweichungen in der Fleischbeschau wird sich nicht normal halten. Bei pH-Werten von 6,6 und mehr ist die Gefahr einer schnellen Verderbnis stets gegeben, weshalb solches Fleisch nach D ö r i n g zum beschleunigten Verkauf an die Freibank überwiesen und keinesfalls zur Verarbeitung zu Wurst oder Dauerwaren verwendet werden soll.

K r i e g e r (13) hat bei seinen umfassenden pH-Wert-Bestimmungen an Fleisch verschiedener Herkunft wesentliche Beobachtungen gemacht. Er konnte feststellen, dass verschiedene Muskeln eines Tieres verschiedene H-Ionenkonzentrationen zeigen. Er empfiehlt, zur H-Ionenmessung Muskeln auszuwählen, die wenig Fett und Bindegewebe enthalten und nur einen geringen Blutgehalt aufweisen, weil es sich erwies, dass Muskulatur allein einen pH-Wert von 6,6, Sehne allein einen pH-Wert von 7,62, Blut allein einen solchen von 7,62 und schließlich Fett allein eine pH-Zahl von 8,43 ergaben und Mischungen aus dem erwähnten Material je nach ihrem Gehalt an Sehnen, Blut oder Fett in pH-Wert wesentlich voneinander abwichen. Auch K r i e g e r konnte feststellen, dass die Reaktion des Rindfleisches unmittelbar nach der Schlachtung eine saure, in vereinzelt Fällen eine neutrale oder sogar eine alkalische ist. Der Verlauf der Säuerung ist abhängig von der Aufbewahrungstemperatur des Fleisches. Sie ist am stärksten bei Zimmertemperatur nach 24 Stunden, bei Temperaturen um 0° erreicht sie ihr Maximum erst am 2., 3. oder 4. Tag. Der weitere Verlauf der H-Ionenkurve von Rindfleisch zeigt keinerlei Rückschlüsse auf den Zustand des Fleisches. Insbesondere ist die Feststellung bestimmter pH-Zahlen für das Stadium einer beginnenden oder bereits eingetretenen Fleischfäulnis nicht möglich.

- 8 -

M a k a r y t s c h e f f (16) verglich die Kurven der pH-Werte von Rindfleisch und Kamelfleisch, das bei einer Temperatur von 8 - 12° C aufbewahrt war und konnte dabei feststellen, dass sowohl der Reifungsprozess wie auch der ihm folgende Zersetzungsprozess im Kamelfleisch in den wesentlichen Zügen den gleichen Vorgängen im Rindfleisch entspricht. Wie das Rindfleisch, so hat auch das Kamelfleisch unmittelbar nach dem Schlachten eine schwach saure, fast neutrale Reaktion (6,8 pH). In diesem Stadium ist das Fleisch klebrig und trocken, typisch für frisches Kamelfleisch. In der Zeit bis zu 30 Stunden erfolgt ein allmähliches Ansteigen der Milchsäure im Fleisch, wobei gleichzeitig die Säuerung zunimmt (6,6 - 6,4 - 6,2 - 6,0), bis endlich das Höchststadium erreicht wird (pH 5,8 - 5,9). Das Fleisch ist in diesem Stadium himbeerrot und reif. Bei günstigen Aufbewahrungsbedingungen kann der niedrige pH-Wert 5,8 ohne Veränderung vier Tage bei einer Temperatur von 4° C beibehalten werden. Unter Bedingungen, die Fleischfäulnis begünstigen, nähert sich die Reaktion des Kamelfleisches nach 40 - 50 Stunden mehr und mehr einer schwach alkalischen Reaktion (pH 6,0 - 6,2 - 6,4 - 6,6 usw.). Bei pH 6,3 - 6,4 weist schon die organoleptische Untersuchung auf den beginnenden Zersetzungsprozess hin (Fäulnisgeruch).

b) Fleisch von Wild.

Von W i c h e r n (29) wurde der pH-Wert in der Muskulatur und seine Veränderung bei der Aufbewahrung des Wildbrets von 50 Stück Rehwild, 25 Stück Rotwild und 19 Stück Schwarzwild festgestellt. Der in der Muskulatur von R e h w i l d erreichte höchste Säuregrad entspricht durchweg einem pH-Wert von 5,9 - 6,0, gleicht also jenem von Rindfleisch. Je nach den Aufbewahrungsbedingungen bleibt dieser Wert kürzere oder längere Zeit bestehen. Bei R o t w i l d ist die Säuerung noch etwas intensiver, denn der pH-Wert ist hier um etwa 0,1 niedriger. Die Temperatur wirkt sich nicht ganz so stark aus wie beim Rehwild, weshalb die Zersetzungserscheinungen am Rotwild verhältnismäßig spät eintreten. Das S c h w a r z w i l d erreicht mit einem pH-Wert von 6,2 - 6,3 den geringsten Säuregrad von allen Schalenwildarten. Ihm ist die stärkste Empfindlichkeit gegen höhere Temperaturen und unsachgemäße Behandlung eigen. Das Wildbret kranken, erschöpften und unreifen Wildes erfährt eine geringe Säuerung, ähnlich der bei schwerkranken und notgeschlachteten Haustieren. Beachtlich ist, dass der in der Muskulatur des Wildes festgestellte Höchstsäurewert sich verhältnismäßig lange hält, ohne dass besondere Vorichtsmaßnahmen (Kühlung) angewandt werden.

- 9 -

c) Fleisch von Geflügel.

pH-Messungen an Geflügelfleisch wurden lediglich von O s t e r t a g (20) erwähnt. Danach reagiert die Muskulatur des Geflügels zunächst amphoter und nach 2 - 2 1/2 Stunden (bei Sonnenwärme wesentlich früher) sauer.

d) Fleisch von Fischen.

H i n t e r s a t z (11) hat in 141 Einzeluntersuchungen von jeweils 7 Tagen die pH-Zahl in der Muskulatur ermittelt. Zur Untersuchung gelangten 30 See- und 20 Flussfische, von denen 7 lebendfrisch, 10 blutfrisch und 33 in Zersetzung begriffen waren. H i n t e r s a t z stellte bei lebendfrischen Fischen pH-Werte von 6,9 - 6,58 - 7,05 - 7,2; bei blutfrischen Fischen pH-Werte von 6,76 - 6,98 - 7,8; bei Seefischen verschiedener Zersetzungsgrade pH-Werte zwischen 7,3 und 7,5 und bei Flussfischen verschiedener Zersetzungsgrade pH-Werte von 6,85 - 7,09 fest.

Bei Platt- und Rundfischen verhält sich die H-Ionenkonzentration nach den Untersuchungsergebnissen von H i n t e r s a t z folgendermaßen: Bei blutfrischen Plattfischen betragen die pH-Werte 6,6 - 6,9 - 6,9 - 6,9 - 7,7 bei blutfrischen Rundfischen 6,8 - 7,0 - 7,2 - 7,45 - 7,8, bei Plattfischen verschiedener Zersetzungsgrade 7,24 - 7,5 - 7,6, bei Rundfischen verschiedener Zersetzungsgrade 7,1 - 7,2 - 7,4.

H i n t e r s a t z hält auf Grund seiner Versuchsergebnisse die Messung der pH-Zahl im Fischfleisch allein zur Feststellung der Fischmülnis nicht für geeignet.

Die Untersuchungsergebnisse von P o l u e k t o f f (22) berechtigen zur Angabe einiger Durchschnittswerte der pH-Werte im Fleisch von frischen, verdächtig und verdorbenen Fischen. Danach beträgt der pH-Wert im Fleisch frischer Fische 6,6 - 6,8, bei Beginn der Zersetzung 6,9 und bei verdorbenen Fischen 6,9 - 7,2. P o l u e k t o f f glaubt, dass seine Feststellungen dazu berechtigen, mit Hilfe der pH-Wertmessung die Genussauglichkeit von Fischen zu bestimmen.

Ohne eigene Versuchsergebnisse im Schrifttum niedergelegt zu haben, nahmen H o r z n e r und M a n n (10), C a m u s (2), M e s s e n e r (18), H ö k k i (12), S c h o l e m a n n (24), S c h ö n b e r g (25), M o e l l e r und R i e v e l (13) und T e r w e r d a (27) zur Frage der Brauchbarkeit der pH-Wert-Bestimmung Stellung.

- 10 -

Herzner - Mann (10) und auch Mosaner (18) führen an, dass sich Fleisch nicht mehr zum Gebrauch als menschliches Nahrungsmittel eignet, wenn es den pH-Wert 6,2 besitzt.

Camus (2) beschäftigte sich mit den Schwankungen des pH-Wertes von Rindfleisch aus Metzgereien und fand, dass bei Temperatur von 5 - 18° C der pH-Wert in den ersten Stunden nach der Schlachtung 5,6 betrug und dass er sich auf der Aussenfläche mit Ansteigen der Temperatur schneller veränderte als im Innern des Muskels.

Hökl (12) weist darauf hin, dass man aus dem Verlauf der Säuerung Rückschlüsse auf den Vorrat an säurefähigem Material (Glykogen) und damit auf den intravitalen Zustand des Fleisches ziehen kann. Nach Hökl soll Fleisch, das wenig oder nur gering säuert, zur schnellen Verwendung kommen.

Scholleman (24) konnte feststellen, dass 32% der von ihm untersuchten, notgeschlachteten Rinder pH-Werte über 6,2 aufwiesen, ohne dass Veränderungen in der Beschaffenheit und Anzeichen geringer Haltbarkeit des Fleisches bestanden, weshalb der Verfasser die Ergebnisse der pH-Bestimmung nur für bedingt verwendbar hält.

Moeller und Rievel (19) weisen auf die Bedeutung der Säuerung des Fleisches für die Haltbarkeit desselben hin. Es ist bekannt, dass die Säuerung des Fleisches das Wachstum der Fäulniskeime hemmt. Ausserdem führt die Säurebildung zur Wasserbindung in der Muskulatur. Die kolloidalen Substanzen der Muskelfibrillen quellen dabei unter der Einwirkung der Säure und binden damit das Wasser. Da die Zersetzungseine aber freies Wasser zu ihrem Fortkommen benötigen, ist die Bedeutung der Wasserbindung unter dem Einfluss der Säure klar ersichtlich. Je stärker und schneller ein Muskel säuert, desto weniger freies Wasser enthält er und desto haltbarer wird er deshalb sein. Diese Erkenntnis berechtigt zu dem Schluss, dass die Haltbarkeit des Fleisches durch die Feststellung der Säuerung ermittelt werden kann. Der Gehalt an Glykogen, der Grad und Schnelligkeit der Säuerung der Muskulatur bestimmt, ist bei den einzelnen Tierarten und Muskelgruppen sowie bei gesunden und kranken Tieren verschieden gross und damit ist auch der pH-Wert Schwankungen unterworfen.

Nach Schönberg (25) reagiert Fleisch der schlachtbaren Haustiere in der Regel gleich nach der Schlachtung schwach alkalisch oder neutral. Etwa 2 Stunden nach der Schlachtung, mit Beginn der Totenstarre entsteht auf enzymatischem Wege aus dem Glykogen - Laktacidogen die Fleischmilchsäure und damit die saure Reaktion; nach 20 - 24 Stunden, spätestens 48 Stunden wird bei ausgeruhten und gesunden Schlachttieren

- 11 -

meistens ein pH-Wert von 5,8 bzw. 6,0 in der Muskulatur gemessen. Bei günstiger, pfleglicher Aufbewahrung in Kühlkammern (0 - 1° C) bleibt dieser pH-Wert von 6,0 längere Zeit bestehen, um dann allmählich mit fortschreitender Autolyse und dem Ansteigen der Bakterienzahl wieder nach dem Neutralpunkt 7,0 hin anzusteigen. Der Reifungsprozess im Fleisch ist weitgehend von der Lagertemperatur und der Eigenart des betreffenden Tieres abhängig. Rindfleisch, das einen pH-Wert von 6,2 hat, sollte bald verbraucht werden. Dabei ist zu beachten, dass im ausgereiften Fleisch gesunder und ausgeruhter Schweine oft ein pH-Wert bis zu 6,2 und im Schafffleisch Werte zwischen 5,6 und 6,2 gemessen werden. Fleisch, dessen pH-Wert 6,4 und darüber beträgt, muss unbedingt nach vorläufiger Beanstandung auf bakterielle Zersetzung untersucht werden.

Nach Schönb erg (25) bleibt der pH-Wert im Wildbret länger konstant als im Fleisch schlachtbarer Haustiere. Abgehangenes Rehwild hat einen pH-Wert von 6,0, Rotwild von 5,8 und Schwarzwild von 6,2.

Schönb erg (25) hält die pH-Messung im Fischfleisch für die Beurteilung der Seefische nicht für entscheidend, da diese in ihrer Muskulatur alkalische Reaktionen (pH 7,1 - 7,4) bereits dann zeigen, wenn sie noch voll genusstauglich sind.

Nachdem sowohl genusstaugliche als auch in Fäulnis befindliche Fischmuskulatur eine alkalische Reaktion besitzt, ist nach Terw er d a (27) die H-Ionenkonzentration für die Erkennung der Fischzersetzung nicht verwertbar. Der pH-Wert wird bei Fischen sehr stark durch die Fischart, die Haltung und Behandlung vor dem Tod sowie durch die Art der Aufbewahrung beeinflusst.

Aus diesen Gründen empfiehlt Terw er d a, die pH-Bestimmungen nur dann vorzunehmen, wenn die organoleptischen Untersuchungen Schwierigkeiten bereiten.

Die Schlussfolgerungen, welche das Schrifttum aus den zahlreichen Untersuchungsergebnissen (vgl. Anhang, Tabelle I) gezogen hat, berechtigen dazu, die Ergebnisse der pH-Wert-Messung mit Vorbehalt zur Beurteilung von Fleisch heranzuziehen. Die hier erforderlichen Einschränkungen sind bedingt durch Unterschiede:

- 1.) in der Tierart,
- 2.) in der Vorbereitung der Schlachttiere vor der Schlachtung (Ruhe, Transport, Aufregungen, Fütterung),
- 3.) im Gesundheits- und Mähezustand,
- 4.) in den Zeitabständen der pH-Messung nach dem Tode,

- 12 -

- 5.) in der Aufbewahrungstemperatur des Schlachtgutes,
- 6.) im Luftfeuchtigkeitsgehalt während der Aufbewahrung,
- 7.) zwischen verschiedenen Muskeln,
- 8.) in der Größe der zur Aufbewahrung und Messung gelangenden Fleischstücke,
- 9.) zwischen Oberfläche und Tiefe der Muskulatur,
- 10.) im Gehalt der Muskulatur an Fleisch, Sehnen, Fett und Blut.

Wie aus den Versuchsergebnissen des Schrifttums zu ersehen ist, beeinflussen diese Unterschiede den Ausfall der pH-Messung wesentlich. Eine zuverlässige Wertung der H-Ionenkonzentration erfordert deshalb eine weitgehende Würdigung der oben aufgeführten Gesichtspunkte, wenn Fehlschlüsse vermieden werden sollen. Um solchen zu entgehen, muss es für notwendig erachtet werden, dass neben der pH-Wert-Bestimmung in jedem Fall auch die Ergebnisse der organoleptischen Untersuchung allenfalls unter Zuhilfenahme weiterer Untersuchungsmethoden (bakteriologische Untersuchung, Eber'sche Probe, Bleiacetat-Probe) herangezogen werden. Bei Anerkennung dieser Erfordernisse vermisst man bei einem Großteil der im Schrifttum niedergelegten Untersuchungen genügend genaue Angaben über den organoleptischen Befund zum Zeitpunkt der Messungen. Nur in den wenigsten Fällen ist neben dem pH-Wert ein Hinweis gegeben, ob das betreffende Schlachtgut sich im Stadium der Genussuntauglichkeit, der beginnenden Zersetzung oder der bereits eingetretenen Verderbnis befand. Um diese Lücke auszufüllen, sollen nunmehr in eigenen Versuchen die Zusammenhänge zwischen dem pH-Wert und den organoleptischen Befunden am Fleisch der verschiedensten sauberen Tiere geklärt werden. Dazu war erforderlich, die Untersuchungen - soweit immer möglich - unmittelbar nach dem Tod des Tieres zu beginnen und sie in laufender Folge mindestens bis zum Eintritt der Genussuntauglichkeit des Untersuchungsmaterials fortzuführen. Erfährt das Untersuchungsmaterial während der Dauer der Untersuchung die auch im Verkehr in lebensmittelhygienischer Hinsicht erforderliche, pflegliche Aufbewahrung, so müsste es gelingen, ein klares Bild über den Ablauf der Fleischveränderungen zu gewinnen.

- 13 -

B. Eigene Versuche.

I. Versuchsordnung:

Den planmäßigen Untersuchungen wurde Fleisch der verschiedensten Tiere, wie es im Verkehr angetroffen wird und von tierärztlichen Sachverständigen der Lebensmittelüberwachung auf Genußtauglichkeit und Gebrauchswert beurteilt werden muss, unterstellt. Neben Schlachtgut, dessen Alter und Aufbewahrung vom Tag der Schlachtung an bekannt war, wurde auch Fleisch verschiedener Tiere untersucht, dessen Vorgeschichte (Schlachttag, Aufbewahrungsart und -dauer) nicht zu ermitteln war.

Im einzelnen ist von den verschiedenen untersuchten Fleischarten das Nachfolgende bekannt:

a) Fleisch schlachtbarer Haustiere und zwar von:

- 1.) Pferd, geschlachtet am 1. Untersuchungstag
- 2.) Rind, " " 1. "
- 3.) Schaf, " " 1. "
- 4.) Schwein, " " 1. "
- 5.) Ziege, " " 1. "
- 6.) Kaninchen, " " 1. "

b) Fleisch von Wild (Haar- und Federwild) und zwar von:

- 7.) Hirsch, Erlegungstag unbekannt, im aufgetauten Zustand
- 8.) Milschwein, Vorgeschichte unbekannt,
- 9.) Hase, Erlegungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand
- 10.) Fasan, Erlegungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand
- 11.) Wildente, Erlegungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand.

c) Fleisch von Geflügel und zwar von:

- 12.) Gans, Schlachttag unbekannt, küchennäßig hergerichtet,
- 13.) Ente, Schlachttag unbekannt, küchennäßig hergerichtet,
- 14.) Truthahn, Schlachttag unbekannt, küchennäßig hergerichtet,
- 15.) Haushuhn, geschlachtet am 1. Untersuchungstag, küchennäßig hergerichtet,
- 16.) Taube, geschlachtet am 1. Untersuchungstag, küchennmäßig hergerichtet.

d) Fleisch von Fischen (Flusssische und Seefische) und zwar von:

- 17.) Forelle, geschlachtet am 1. Untersuchungstag,
- 18.) Hecht, " " 1. "
- 19.) Karpfen, " " 1. "
- 20.) Schleie, " " 1. "
- 21.) Barbe, " " 1. "

- 14 -

- 22.) Aitel, Schlachtung am 1. Untersuchungstag,
 23.) Brachae, " " 1. "
 24.) Schied, " " 1. "
 25.) Aal, " " 1. "
 26.) Kabeljau, auf Eis geliefert
 27.) Schellfisch, " " "
 28.) Goldbarsch, " " "
 29.) Austernfisch, auf Eis geliefert
 30.) Seehecht, " " "
 31.) Scholle, " " "
 32.) Seezunge, " " "

Ausserdem wurden untersucht:

- 33.) Auster, getötet am 1. Untersuchungstag
 34.) Miesmuschel, " " 1. "
 35.) Frisch (Teichfrosch), küchenmäßig hergerichtet angekauft,
 36.) Weinberggchnecke, getötet am 1. Untersuchungstag, küchenmäßig
 hergerichtet.

Das Untersuchungsmaterial wurde während der gesamten Untersuchungs-
 dauer in einem trockenen Kühlraum bei ca. 3,5 - 5,0° C aufbewahrt.

Die Untersuchungen begannen in jedem Fall an handelsüblichem und
 vollgenussstauglichem Fleisch und wurden in 24stündigen Zeitabständen bis
 zum Eintritt der erwiesenen, erheblichen Verderbnis und völligen Genussun-
 tauglichkeit des betr. Schlachtgutes fortgesetzt.

Die Untersuchungen am Schlachtgut erstreckten sich auf die Erhebung
des organoleptischen Befundes, die Bestimmung der pH-Zahl, die Anstellung
 der Eberischen Probe und der Bleiacetatprobe.

Zu den einzelnen Untersuchungsmethoden ist noch zu bemerken:

1.) Die Erhebung des organoleptischen Befundes:

Das Fleisch der schlachtbaren Haustiere wurde nach den für die
 Fleischbeschau gültigen gesetzlichen Vorschriften beurteilt, wobei besonders
 auf Anzeichen der Verderbnis des Schlachtgutes geachtet wurde.

Die organoleptischen Untersuchungen an Wild, Geflügel und Fischen
 wurden nach den für die tierärztliche Lebensmittelüberwachung gegebenen
 Anweisungen vorgenommen. Auch hier wurde wiederum besonderer Wert auf eine
 frühzeitige Erkennung der Zersetzung gelegt.

In gleicher Weise wurde die organoleptische Beurteilung der Auster,
 Miesmuschel, Froschbehenkel und Weinberggchnecke angestellt.

- 15 -

2.) Die Bestimmung der pH-Zahl:

Die pH-Wert-Bestimmung wurde nach der Methode von A n d r j o w a k i durchgeführt: 10 bis 20 kleine fett- und bindgewebefreie Fleischstücke von zusammen 5 g Gewicht wurden aus der Muskulatur entnommen, in ein etwa 100 cm fassendes Erlenmeyerkölbchen mit eingeschliffenem Glasstopfen verbracht und 50 cm aqu. dest., das durch vorheriges Auskochen von der eventuell aufgenommenen Kohlensäure befreit war, hinzugefügt. Das Kölbchen blieb unter mehrmaligem Umschütteln während 10 Minuten bei Zimmertemperatur stehen. Dann wurde die Flüssigkeit durch ein angefeuchtetes Hartpapierfilter abfiltriert. Der so erhaltene Fleischextrakt wurde in einem Betriebsionometer nach T r e n e l der Firma L a u t o n a e h l & G e r, München, auf seinen Milionenwert untersucht, nachdem die Benützung eines elektrisch arbeitenden Messinstrumentes nach Angaben des Schrifttums und langjährigen Erfahrungen der Landesanstalt allen anderen Untersuchungsmethoden überlegen ist.

Beim Auftreten besonders auffälliger pH-Werte, das heisst solcher, die im Rahmen des gegebenen Versuches unerwartet waren, wurde die Untersuchung zur gleichen Stunde wiederholt. Unterschiede in den Untersuchungsergebnissen traten dabei in keinem Falle auf.

3.) Die Durchführung der Eber'schen Probe:

Die Eber'sche Probe wurde in Eber'schen Reagenzglas vorgenommen. Die Fassung des Reagenzglases wurde ca. 2 Fingerbreiten hoch mit Ebers Reagens (1 Teil Salzsäure, spez. Gewicht 1,125, 1 Teil Äther und 3 Teile Alkohol - 96%) gefüllt. Der zum Reagenzglas gehörige Glasstab wurde bei der Versuchsanstellung tief in das zu untersuchende Fleisch eingestossen und darin mehrmals gedreht, sodass schließlich kleinste Fleischteilchen an dem Glasstab haften blieben. Dann wurde der Glasstab auf kürzestem Weg in das Reagenzglas versenkt, ohne dass dabei das untere Ende des Glasstabes mit dem Eber'schen Reagens in Berührung kam.

Abchliessend wurde der Gummistopfen, der vom Glasstab durchbohrt ist, so fest aufgedrückt, dass ein zuverlässiger Abschluss gegeben war.

Bei positiver Reaktion stiegen alsbald Chlorammoniumnebel auf. Diese Nebel waren bei hochgradiger Fäulnis sehr dicht und füllten das Glas völlig an (starke Reaktion \leftrightarrow). Schwache Nebelbildung wurde als geringgradige Reaktion (+), stärkere Nebelbildung als mittelgradige Reaktion (++) bezeichnet. Die Ableseung der Reaktionen wurde zweckmässig vor einem dunklen Hintergrund vorgenommen.

Die Reaktion trat in der Regel schon nach wenigen Sekunden auf; eine Beobachtungsdauer von 15 Minuten konnte deshalb als ausreichend erachtet werden.

- 16 -

4.) Die Anstellung der Bleiazetatprobe:

Weisses Filtrierpapier wurde mit 1%iger wässriger Bleiazetatlösung durchfeuchtet und in den Deckel eines Überfalldeckelglases eingelegt. Auf den Boden des Deckelglases wurden ca. 10 g des zu untersuchenden Schlachtgutes verbracht.

Bei Auftreten von Schwefelwasserstoff verfärbt sich das mit Bleiazetat durchfeuchtete Filtrierpapier anfänglich gelblich braun, später bräunlich bis dunkelbraun und schliesslich schwärzlich mit einem feinen Silberglanz. Nachbeobachtungen im Schrifttum und der Anstalt benötigt das Zustandekommen der Reaktion 15 - 30 Minuten, manchmal auch länger. In den vorliegenden Versuchen wurde deshalb die Bleiazetatprobe nach 15, 30, 60 und 120 Minuten abgelesen. Die Proben wurden während dieser Zeit bei Zimmertemperatur (20° C) aufbewahrt.

Eine leicht gelbliche Verfärbung des Filtrierpapieres wurde als geringgradige Reaktion (+), eine bräunliche Verfärbung als mittelgradige Reaktion (++) und eine schwärzliche Verfärbung als starke Reaktion (+++) bezeichnet.

Sämtliche Ergebnisse der verschiedenen Untersuchungen wurden in die Versuchsprotokolle: Tabelle II 1 - 36 (Anhang) eingetragen.

II. Untersuchungsergebnisse:

Um die an jedem Schlachtgut während einer längeren Untersuchungsdauer erhobenen zahlreichen Untersuchungsergebnisse verschiedener Art einzeln, in laufender Folge und schliesslich auch in ihrem gegenseitigen Zusammenhang bewerten zu können, war es erforderlich, sie in einer kurzgefassten Zusammenstellung nebeneinander aufzuführen, wie das in der Folge in allen Versuchen gegeben ist.

Die gewählten Darstellungen gewähren auf den ersten Blick eine klare Übersicht über die erzielten Einzelergebnisse und gestatten damit unschwer eine Bewertung der einzelnen Untersuchungsverfahren. Sie ermöglichen darüber hinaus in der dabei vorgenommenen Gegenüberstellung auch jederzeit einen Vergleich der Ergebnisse verschiedener Untersuchungsmethoden und zeigen eine gegenseitige Unterstützung verschiedener Verfahren an.

Den tabellarischen Übersichten ist mit Rücksicht auf den Wert einer eingehenden Würdigung aller Untersuchungsergebnisse eine textliche Auswertung beigegeben, die am Schluss der genannten Untersuchungen eine Gesamtzusammenfassung gefunden hat.

Zeichenerklärung für die folgenden Tabellen:

+	=	positiv
-	=	negativ
±	=	Übergangsbefund
pH	=	pH-Wert
E.P.	=	Eber'sche Probe
B.P.	=	Bleiazetatprobe
I	=	genussstauglich
II	=	verderben, aber noch genussstauglich
III	=	genussuntauglich

- 17 -

1. P f e r e : geschlechtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,2 - 5,0° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,5	-	-	+		
2.	-	6,2	-	-	+		
3.	-	5,9	-	-	+		
4.	-	5,6	+	-	+		
5.	-	5,6	+	-	+		
6.	-	5,6	+	-	+		
7.	-	5,6	+	-	+		
8.	+	5,65	+	-	+		
9.	+	5,7	+	-	+		
10.	+	5,8	+	-		+	
11.	+	5,8	++	-		+	
12.	+	5,9	+++	-			+
13.	+	6,05	+++	-			+
14.	+	6,0	+++	-			+
15.	+	6,0	+++	-			+
16.	+	6,0	+++	-			+
17.	+	6,0	+++	-			+
18.	+	6,2	+++	-			+
19.	+	6,4	+++	-			+
20.	+	6,6	+++	-			+
21.	+	6,7	+++	-			+
22.	+	6,85	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund zeigte bereits am 8. Tag bei einem pH-Wert von 5,65 die beginnende Verderbnis an. Am 10. Tag war das Pferdefleisch bei einem pH-Wert von 5,8 verderben, aber noch genussfähig, um dann am 12. Tag bei einem pH-Wert von 5,9 genussunfähig zu werden.

pH-Grenzwert 5,8.

Die Eber'sche Probe war am 4. Tag bei einem pH-Wert von 5,6 und negativen organoleptischen Befund schwach positiv und am 12. Tag in Übereinstimmung mit eingetretener Genussunfähigkeit bei einem pH-Wert von 5,9 stark positiv. Die Bleisacetatprobe versagte vollkommen.

- 18 -

2. R i n d; geschlaebtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,2 - 5,0° C.

Unt.-Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,6	-	-	+		
2.	-	6,25	-	-	+		
3.	-	5,8	+	-	+		
4.	-	5,6	++	-	+		
5.	-	5,6	++	-	+		
6.	-	5,55	++	-	+		
7.	-	5,6	++	-	+		
8.	-	5,6	++	-	+		
9.	-	5,7	++	-	+		
10.	+-	5,75	++	-		+	
11.	+-	5,75	++	-		+	
12.	+	5,75	++	-			+
13.	+	5,65	++	-			+
14.	+	5,65	++	-			+
15.	+	5,7	+++	-			+
16.	+	5,7	+++	-			+
17.	+	5,7	+++	-			+
18.	+	5,75	+++	-			+
19.	+	5,8	+++	-			+
20.	+	5,9	+++	-			+
21.	+	6,2	+++	-			+
22.	+	6,3	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund bestimmte am 10. Tag bei einem pH-Wert von 5,75 das Rindfleisch als verdorben, aber noch genussauglich zu bezeichnen. Am 12. Tag wurde das Fleisch auf Grund des organoleptischen Befundes bei einem pH-Wert von 5,75 als genussuntauglich erklärt. Da sich dieser pH-Wert in den ersten 8 Tagen der Verderbnis hielt, kann ein pH-Grenzwert nicht angegeben werden. Die Eber'sche Probe war bereits am 3. Tag bei einem pH-Wert von 5,8 und negativem organoleptischem Befund schwach positiv, am 4. Tag bei einem pH-Wert von 5,6 mittelgradig und erst am 15. Tag in Übereinstimmung mit der bereits am 12. Tag eingetretenen Genussuntauglichkeit bei einem pH-Wert von 5,7 stark positiv. Die Bleizetatprobe versagte vollkommen.

3. S c h a f ; geschlachtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,2 - 5,0 C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,4	-	-	+		
2.	-	6,2	-	-	+		
3.	-	6,0	+	-	+		
4.	-	5,9	++	-	+		
5.	-	5,9	++	-	+		
6.	-	5,9	+	-	+		
7.	-	6,2	+	-	+		
8.	-	6,4	+++	-	+		
9.	-	6,45	+++	-	+		
10.	+	6,5	+++	-		+	
11.	+	6,1	+++	-		+	
12.	+	6,25	+++	-			+
13.	+	6,4	+++	-			+
14.	+	6,4	+++	-			+
15.	+	6,4	+++	-			+
16.	+	6,55	+++	-			+
17.	+	6,7	+++	-			+
18.	+	6,6	+++	-			+
19.	+	6,6	+++	-			+
20.	+	6,4	+++	-			+
21.	+	6,7	+++	-			+
22.	+	7,3	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund veranlasste am 10.Tag, bei einem pH-Wert von 6,5 das Schafffleisch als verdorben, aber noch genuss- tauglich zu erklären. Am 12.Tag war das Fleisch infolge seiner grobinnlichen Veränderungen bei einem pH-Wert von 6,25 bereits genussuntauglich.

pH-Grenzwert 6,5 - 6,1.

Die Eber'sche Probe war bei negativem organoleptischem Befund am 3.Tag bei einem pH-Wert von 6,0 schwach positiv, am 8.Tag bei ebenfalls negativem organoleptischem Befund und einem pH-Wert von 6,4 stark positiv.

Die Blutzetatprobe vorzagte wiederum.

- 20 -

4. Schwein: geschlachtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,2 - 5,0 ° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	5,7	-	-	+		
2.	-	5,7	++	-	+		
3.	-	5,7	++	-	+		
4.	-	5,7	++	-	+		
5.	-	5,7	++	-	+		
6.	-	5,7	+++	-	+		
7.	-	5,75	+++	-	+		
8.	-	5,75	+++	-	+		
9.	-	5,75	+++	-	+		
10.	←	5,75	+++	-		+	
11.	←	5,75	+++	-		+	
12.	+	5,75	+++	-			
13.	+	5,75	++	-			+
14.	+	5,9	++	-			+
15.	+	6,0	+++	-			+
16.	+	6,15	+++	-			+
17.	+	6,3	+++	-			+
18.	+	6,3	+++	-			+
19.	+	6,3	+++	-			+
20.	+	6,4	+++	-			+
21.	+	6,9	+++	-			+
22.	+	7,15	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund gab am 10.Tag bei einem pH-Wert von 5,75 Veranlassung, das Fleisch als verderben, aber noch genussauglich zu bezeichnen. Am 12.Tag war das Fleisch infolge seiner grobainnlichen Veränderungen bei einem pH-Wert von 5,75 genussuntauglich. Beachtlich ist, dass der pH-Wert vom 1.-13.Tag 5,7 bzw. 5,75 betrug, obwohl während dieser Zeit das Schweinefleisch am 10.Tag verderben, aber noch genussauglich und am 12.Tag genussuntauglich wurde. Ein pH-Grenzwert kann deshalb nicht angegeben werden; die Methode versagte.

Die Eber'sche Probe war bereits am 2.Tag bei einem pH-Wert von 5,7 schwach und vom 6.Tag ab stark positiv, obwohl der organoleptische Befund erst am 10.Tag die beginnende und am 12.Tag die eingetretene Verderbnis verriet. Die Diazotatprobe versagte vollkommen.

- 21 -

5. Z i e g e : geschlachtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,2 - 5° C.

Unt-Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,3	-	-	+		
2.	-	6,4	-	-	+		
3.	-	6,45	-	-	+		
4.	-	6,1	-	-	+		
5.	-	5,85	-	-	+		
6.	-	6,15	-	-	+		
7.	-	6,15	-	-	+		
8.	-	6,1	+	-	+		
9.	-	6,1	+	-	+		
10.	←	6,15	+	-		+	
11.	←	6,2	↔	-		+	
12.	+	6,35	↔	-			+
13.	+	6,35	↔	-			+
14.	+	6,3	↔	-			+
15.	+	6,2	↔↔	-			+
16.	+	6,3	↔↔	-			+
17.	+	6,7	↔↔	-			+
18.	+	6,6	↔↔	-			+
19.	+	6,8	↔↔	-			+
20.	+	6,9	↔↔	-			+
21.	+	6,9	↔↔	-			+
22.	+	7,0	↔↔	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund verriert am 10. Tag bei einem pH-Wert von 6,15 die beginnende Verderbnis. Vom 12. Tag ab war das Ziegenfleisch bei einem pH-Wert von 6,35 bereits verderben und gussuntauglich.

pH-Grenzwert 6,15 - 6,35.

Die Eber'sche Probe war am 8. Tag bei einem pH-Wert von 6,1 und damit 2 Tage vor Auftreten grobsinnlicher Veränderungen schwach positiv. Am 11. Tag hatte diese Probe bei pH 6,2 und einem organoleptischen Übergangsbefund eine mittelgradig starke und vom 15. Tag ab bei wesentlichen Veränderungen des Fleisches und einem pH-Wert von 6,2 eine stark positive Reaktion. Die Eber'sche Probe lieferte danach bei der Untersuchung von Ziegenfleisch wenig brauchbare Ergebnisse, da sie bereits 2 Tage vor Beginn der Zersetzung schon positive Werte aufwies.

Die Bleiazetatprobe versagte auch hier.

- 22 -

6. Kaninchen: geschlachtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,2 - 5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,4	+++	-	+		
2.	-	5,9	+++	-	+		
3.	-	6,0	++	-	+		
4.	-	6,1	+	-	+		
5.	-	6,0	++	-	+		
6.	-	6,2	++	-	+		
7.	-	6,0	+	-	+		
8.	-	6,3	++	-	+		
9.	-	6,5	+	-	+		
10.	-	6,0	+	-	+		
11.	+	6,0	+	-		+	
12.	+	6,2	+++	-		+	
13.	+	6,4	+	-			+
14.	+	6,05	++	-			+
15.	+	6,5	+++	-			+
16.	+	6,45	+++	-			+
17.	+	6,6	+++	-			+
18.	+	6,6	+++	-			+
19.	+	6,4	+++	-			+
20.	+	6,6	+++	-			+
21.	+	6,8	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund wies am 11. und 12. Tag bei pH-Werten von 6,0 - 6,2 auf eine beginnende Verderbnis, aber noch Genuss-tauglichkeit hin. Vom 13. Tag ab war das Kaninchenfleisch bei einem pH-Wert von 6,4 bei eindeutigen organoleptischen Befund verdorben und genussuntauglich.

pH-Grenzwert 6,0 - 6,4.

Die Eber'sche Probe zeigte ein auffälliges Verhalten: Sie war vom 1. bis zum letzten Untersuchungstag in wechselnder Stärke positiv und vermochte danach nicht, die Fleischbeurteilung zu unterstützen.

Die Bleiazetatprobe versagte wiederum.

- 23 -

7. Hirsch: Erlogungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand aufbewahrt bei 3,7 - 4,8° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	5,7	++	-			
2.	←	5,8	++	-	+		
3.	+	5,85	++	-		+	
4.	+	5,7	++	-			+
5.	+	5,6	++	-			+
6.	+	5,7	+++	-			+
7.	+	5,7	+++	-			+
8.	+	5,8	+++	-			+
9.	+	5,8	+++	-			+
10.	+	5,6	+++	-			+
11.	+	5,7	+++	-			+
12.	+	6,0	+++	-			+
13.	+	6,4	+++	-			+
14.	+	6,2	+++	-			+
15.	+	6,3	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund war am 2. Tag bei einem pH-Wert von 5,8 fraglich und vom 3. Tag bei einem pH-Wert von 5,85 eindeutig positiv. Die frühzeitige Verderbnis des sonst im allgemeinen haltbaren Wildbrets muss darauf zurückgeführt werden, dass es erst nach unbestimmter Einfrierungsdauer, aufgetaut, zur Untersuchung gelangte. Nachdem der pH-Wert nach Eintritt der Zersetzung wiederholt nach der sauren Seite absank, kann ein pH-Grenzwert nicht angegeben werden.

Mit Rücksicht auf die Vorgeschichte des Wildbrets erstaunt der Ausfall der Eber'schen Probe nicht; sie war vom 1.-5. Tag bei pH-Werten zwischen 5,6 und 5,8 schwach, vom 6. Tag ab stark positiv.

Die Bleiazetatprobe brachte keinerlei Ergebnis.

- 24 -

8. Wildschwein: Vorgeschichte unbekannt, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,7 - 4,8° C.

Unt.-Tag	erganelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,45	+	-	+		
2.	-	6,4	+	-	+		
3.	-	6,2	+	-	+		
4.	-	6,0	+	-	+		
5.	-	5,9	+	-	+		
6.	-	6,45	++	-	+		
7.	←	6,15	++	-		+	
8.	←	6,2	++	-		+	
9.	+	6,0	++	-			+
10.	+	5,7	++	-			+
11.	+	6,0	+++	-			+
12.	+	6,3	+++	-			+
13.	+	6,25	+++	-			+
14.	+	6,2	+++	-			+
15.	+	6,7	+++	-			+

Auswertung: Der erganeleptische Befund saute am 7. und 8. Tag bei pH-Werten von 6,15 - 6,2 auf die beginnende Zersetzung aufmerksam. Der pH-Wert-Abfall zwischen dem 1. und 5. Tag und wiederum zwischen dem 6. und 10. Tag erscheint besitzlich.

Dem Grenzwert von 6,15 - 6,0 kann demnach nur untergeordnete Bedeutung zuerkannt werden.

Die Eber'sche Probe war von 1. - 5. Tag bei pH-Werten zwischen 5,9 und 6,45 schwach positiv, während des zweiten pH-Wert-Abfalls vom 6. - 10. Tag und bei pH-Werten von 5,7 - 6,45 mittelgradig stark positiv. Bei pH-Werten von 6,0 - 6,7 in der Zeit vom 11. - 15. Tag fiel sie stark positiv aus.

Die Bliazetatprobe versagte wiederum.

- 25 -

9. H a s e : Zerlegungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand aufbewahrt
im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	5,8	+	-	+		
2.	-	5,8	++	-	+		
3.	+	5,7	+++	-		+	
4.	+	5,8	+++	-			+
5.	+	5,8	+++	-			+
6.	+	5,8	+++	-			+
7.	+	5,8	+++	-			+
8.	+	5,9	+++	-			+
9.	+	5,9	+++	-			+
10.	+	6,3	+++	-			+
11.	+	6,0	+++	-			+
12.	+	6,0	+++	-			+
13.	+	6,1	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund wies bereits am 3.Tag bei einem pH-Wert von 5,7 auf die beginnende Zersetzung des Wildbrets hin und zeigte schon einen Tag später bei einem pH-Wert von 5,8 die Genussuntauglichkeit an. Auch hier muss die frühzeitige Verderbnis auf die unbekanntes Vorgeschichte, den Einfrier- und Auftauprozess zurückgeführt werden. Da sich der pH-Wert mehrere Tage vor und längere Zeit nach Eintritt der Zersetzung annähernd auf gleicher Höhe hielt (5,7 - 5,8), kann ein pH-Grenzwert nicht angegeben werden.

Die Ebenische Probe war am 1.Tag bei einem pH-Wert von 5,8 schwach positiv, am 2.Tag bei einem pH-Wert von ebenfalls 5,8 mittelgradig stark positiv, um am 3.Tag mit eingetretener Genussuntauglichkeit stark positiv zu werden.

Die Bleizetatprobe brachte stets negative Ergebnisse.

- 26 -

10. F a s s a n: Erlegungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand aufbewahrt
im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	5,8	-	-	+		
2.	-	6,0	→	-	+		
3.	←	5,8	→	-		+	
4.	+	5,8	→	-			+
5.	+	5,9	→	-			+
6.	+	5,9	→	-			+
7.	+	6,0	→	-			+
8.	+	5,9	→	-			+
9.	+	5,9	→	-			+
10.	+	6,0	→	-			+
11.	+	6,0	→	-			+
12.	+	6,0	→	-			+
13.	+	5,9	→	-			+

Auswertung: Der organeleptische Befund wies am 3.Tag bei einem pH-Wert von 5,8 auf die beginnende Zersetzung hin. Auch hier muss der auffällig rasche Verfall des sonst guthaltbaren Wildbrets mit der unbekanntem Vorgeschichte, dem Einfrier- und Auftauprozes in Verbindung gebracht werden. Zur Zeit des Beginns der Zersetzung (am 3.Tag) betrug der pH-Wert 5,8. Da sich die pH-Werte innerhalb von 13 Tagen an frischem und verderbenem Wildbret innerhalb der geringen Spanne von 5,8 und 6,0 bewegen, kann ein Grenzwert nicht angegeben werden.
Die Eber'sche Probe war bereits an unverderbenem Wildbret (2.Tag) bei einem pH-Wert von 6,0 positiv.
Die Bleiazetatprobe versagte.

- 27 -

11. Wildente: Erlegungstag unbekannt, in aufgetautem Zustand aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,3	++	-	+		
2.	-	6,1	+	-	+		
3.	±	6,0	+++	-		+	
4.	+	6,0	+++	-			+
5.	+	6,0	+++	-			+
6.	+	6,1	+++	-			+
7.	+	6,1	+++	-			+
8.	+	6,2	+++	-			+
9.	+	6,3	+++	-			+
10.	+	7,1	+++	-			+
11.	+	6,4	+++	-			+
12.	+	6,4	+++	-			+
13.	+	6,5	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund zeigte bei einem pH-Wert von 6,0 am 3.Tag die beginnende Zersetzung an. Am 4.Tag war das Wildbret bei einem pH-Wert von 6,0 auf Grund seiner grob sinnlichen Veränderungen genussuntauglich. Unbekannte Vorgeschichte, der Gefrier- und Auftauprozesse müssen für die rasch eingetretene Zersetzung verantwortlich gemacht werden, weil bekannt ist, dass sich Wildenten bei Kühlung Aufbewahrung auffallend lange frisch erhalten. Die geringen Unterschiede im pH-Wert vor und unmittelbar nach Eintritt der Verderbnis lassen auch hier die Festsetzung eines pH-Grenzwertes nicht zu. Die Eber'sche Probe war während der ganzen Versuchsdauer positiv, mit Eintritt der Genussuntauglichkeit des Wildbrets (3.Tag) stets stark positiv. Die Bleizotatprobe verlief auch hier durchwegs negativ.

- 28 -

12. S a n n e : Schlachttag unbekannt, küchenmäßig hangerichtet, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,3 - 5,0° C.

Unt.Tag	erganelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	5,9	++	-	+		
2.	-	5,9	++	-	+		
3.	-	6,0	++	-	+		
4.	-	6,0	++	-	+		
5.	-	6,0	++	-	+		
6.	-	6,2	++	-	+		
7.	←	6,35	++	-		+	
8.	←	6,4	++	-		+	
9.	+	6,7	++	-			+
10.	+	6,75	++	-			+
11.	+	6,9	+++	-			+
12.	+	7,1	+++	-			+
13.	+	7,2	+++	-			+
14.	+	7,35	+++	-			+
15.	+	7,8	+++	-			+
16.	+	7,9	+++	-			+
17.	+	8,0	+++	-			+

Auswertung: Auf Grund des erganeleptischen Befundes musste am 7. Tage bei einem pH-Wert von 6,35 das Schlachtgut als vorderben, aber noch genussauglich bezeichnet werden. Schon am 9. Tag waren die Veränderungen an der Schlachtgans bei einem pH-Wert von 6,7 so erheblich, dass diese als genussuntauglich anzusehen war. Der pH-Wert stieg während des Stadiums der Genussauglichkeit (1.-6. Tag) von 5,9 auf 6,2 an, betrug während der kritischen Zeit (7. u. 8. Tag) 6,35 bzw. 6,4 und erhöhte sich planmäßig bis zum 17. Tag auf 8,0 pH.

pH-Grenzwert 6,35 - 6,4.

Die Eber'sche Probe war während der gesamten Untersuchungszeit positiv und erat im fortgeschrittenen Stadium der Fäulnis stark positiv.

Die Bleiazetatprobe versagte auch hier.

- 29 -

13. Ente: Schlachttag unbekannt, küchenmässig hergerichtet, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,3 - 5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,0	→→	-	+		
2.	-	6,0	→→	-	+		
3.	-	6,0	→→	-	+		
4.	-	6,0	→→	-	+		
5.	-	6,0	→→	-	+		
6.	-	6,0	→→	-	+		
7.	→	6,05	→→	-		+	
8.	→	6,1	→→	-		+	
9.	+	6,2	→→	-			+
10.	+	6,2	→→	-			+
11.	+	6,2	→→→	-			+
12.	+	6,3	→→→	-			+
13.	+	6,4	→→→	-			+
14.	+	6,8	→→→	-			+
15.	+	7,0	→→→	-			+
16.	+	7,1	→→→	-			+
17.	+	7,15	→→→	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund veranlasste dazu, am 7.Tag bei einem pH-Wert von 6,05 das Schlachtgut als verdorben, aber noch genuss- tauglich zu bezeichnen. Vom 9.Untersuchungstag ab und bei einem pH-Wert von 6,2 war die Ente genussuntauglich. Die pH-Zahlen steigen auch bei diesem Schlachtgut während der Untersuchungs- dauer planmässig an. Verhältnismässig lange (1. - 6.Tag) hielt sich der pH-Wert auf 6,0 und stieg dann fortlaufend mit fortschrei- tender Zersetzung auf 7,15 an.

pH-Grenzwert 6,05 - 6,2.

Die Eber'sche Probe erwies sich in diesem Fall als unbrauchbar. Sie war während der gesamten Untersuchungen positiv. Die Bleisulfatprobe hatte in allen Fällen ein negatives Ergebnis.

- 30 -

14. T r u t h a h n i: Schlachttag unbekannt, küchenmäßig hergerichtet, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,5 - 5,0° C.

Unc.Tag	erganelept. Befund	pH.	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	5,85	+	-	+		
2.	-	5,8	+	-	+		
3.	-	5,8	+	-	+		
4.	-	5,8	+	-	+		
5.	-	5,8	+	-	+		
6.	-	5,8	+	-	+		
7.	←	5,8	+	-		+	
8.	←	5,8	+	-		+	
9.	+	5,9	+	-			+
10.	+	5,9	+	-			+
11.	+	5,9	++	-			+
12.	+	6,0	++	-			+
13.	+	6,0	++	-			+
14.	+	6,5	++	-			+
15.	+	6,9	+++	-			+
16.	+	6,9	+++	-			+
17.	+	7,0	+++	-			+

Auswertung: Der erganeleptische Befund wies am 7.Tag bei einem pH-Wert von 5,8 auf die beginnende Verderbnis hin und war am 9.Tag so stark ausgeprägt, dass das Schlachtgut bei einem pH-Wert von 5,9 als gausuntauglich anzusehen war. Die pH-Werte stiegen nach langanhaltender Säuerung von 5,8 pH erst am 9.Tag, dem Tag der eingetretenen Gausuntauglichkeit, auf 5,9 und in der Folge bis zum 17.Tag planmäßig bis auf 7,0 an.

pH-Grenzwert 5,8 - 5,9.

Die Eber'sche Probe war auch hier von Anfang des Versuches an positiv und zwar schwach positiv bei pH-Werten von 5,8 - 5,9, mittelgradig stark bei pH-Werten von 6,0 - 6,5 und stark positiv bei pH-Werten von 6,5 - 7,0.

Die Bielazetatprobe war stets negativ.

- 31 -

15. H a u s h u h n: geschlachtet am 1. Untersuchungstag, küchenmäßig
hergerichtet, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,3 - 5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,0	+	-	+		
2.	-	6,0	+	-	+		
3.	-	5,9	+	-	+		
4.	-	6,0	+	-	+		
5.	-	6,1	+	-	+		
6.	-	6,0	+	-	+		
7.	-	6,0	+	-	+		
8.	-	6,0	+	-	+		
9.	-	6,0	++	-	+		
10.	←	6,1	++	-		+	
11.	←	6,1	++	-		+	
12.	+	6,35	+++	-			+
13.	+	6,7	+++	-			+
14.	+	6,7	+++	-			+
15.	+	6,5	+++	-			+
16.	+	6,7	+++	-			+
17.	+	6,7	+++	-			+
18.	+	6,8	+++	-			+
19.	+	6,8	+++	-			+
20.	+	6,9	+++	-			+
21.	+	6,9	+++	-			+
22.	+	7,0	+++	-			+

Auswertung: Am 10. Tag gab der organoleptische Befund Veranlassung, bei einem pH-Gehalt von 6,1 das Schlachtgut als verderben, aber noch genussauglich zu bezeichnen. Am 12. Tag waren bei einem pH-Wert von 6,35 die Veränderungen so weit fortgeschritten, dass das Schlachthuhn nicht mehr genussauglich war. Der pH-Wert stieg mit nur unwesentlichen Schwankungen zwischen den pH-Werten von 5,9 - 6,1 in den ersten 11 Tagen vom Eintritt der Genussuntauglichkeit des Schlachtgutes an planmäßig auf 7,0.

pH-Grenzwert 6,1 - 6,35.

Die Eber'sche Probe war auch hier an allen Untersuchungstagen positiv und zwar vom 12. Tag, dem Beginn der Genussuntauglichkeit des Haushuhnes ab, stark positiv.

Die Bleiazetatprobe versagte.

-32-

16. T a u b e : geschlachtet am 1. Untersuchungstag, küchenmäßig hergestellt, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,3 - 5,0° C.

Unt.Tag	erganelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,1	+	-	-		
2.	-	5,85	+	-	+		
3.	-	6,3	+	-	+		
4.	-	6,0	+	-	+		
5.	-	5,9	+	-	+		
6.	-	5,9	+	-	+		
7.	-	6,0	+	-	+		
8.	-	6,0	++	-	+		
9.	-	6,0	++	-	+		
10.	+	6,1	++	-		+	
11.	+	6,4	++	-		+	
12.	+	6,4	+++	-			+
13.	+	6,8	+++	-			+
14.	+	6,8	+++	-			+
15.	+	6,9	+++	-			+
16.	+	6,8	+++	-			+
17.	+	6,8	+++	-			+
18.	+	6,9	+++	-			+
19.	+	6,8	+++	-			+
20.	+	6,75	+++	-			+
21.	+	6,9	+++	-			+
22.	+	7,0	+++	-			+

Auswertung: Der erganeleptische Befund zeigte am 10. Tag bei einem pH-Wert von 6,1 die einsetzende Zersetzung und am 12. Tag bei einem pH-Wert von 6,4 die eingetretene Genussuntauglichkeit der Schlachttube an. Der pH-Wert bewegte sich in den ersten 10 Untersuchungstagen und während der Zeit der Genussuntauglichkeit der Ware in Grenzen von 5,85 - 6,1. Mit Beginn der Zersetzung stieg der pH-Wert von 6,1 auf 6,4 an, um vom Zeitpunkt der Genussuntauglichkeit ab weiter bis auf 7,0 anzusteigen.

pH-Grenzwert 6,1 - 6,4.

Die Eber'sche Probe war an allen Untersuchungstagen positiv und zwar bei pH-Werten von 5,85 - 6,0 schwach, von 6,1 - 6,4 mittelgradig und von 6,4 - 7,0 stark positiv.

Die Bleiazetatprobe war stets negativ.

17. Forelle: geschlechtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,1 - 4,5° C.

Unt.Tag	organelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,0	+	-	+		
2.	-	7,0	+	-	+		
3.	-	7,0	+++	-	+		
4.	-	7,0	++	-	+		
5.	-	7,0	+++	-	+		
6.	-	7,1	+++	-	+		
7.	-	7,0	+++	-	+		
8.	-	7,0	+++	-	+		
9.	+	7,0	+++	-			+
10.	+	6,9	+++	-			+
11.	+	6,9	+++	-			+
12.	+	6,9	+++	-			+
13.	+	7,0	+++	-			+
14.	+	7,0	+++	-			+
15.	+	7,1	+++	-			+
16.	+	7,45	+++	-			+
17.	+	7,2	+++	-			+
18.	+	7,3	+++	-			+
19.	+	7,1	+++	-			+

Auswertung: Am 9. Tag gaben die grobsinnlichen Veränderungen bei einem pH-Wert von 7,0 Veranlassung, den Fisch als genussuntauglich zu erklären. Bis zu diesem Tag schwankten die pH-Werte zwischen 7,0 und 7,1. Nach Eintritt der Verderbnis unterschritten sie den Neutralpunkt nur für die Dauer von 3 Tagen um 0,1, um dann über 7,0 bis auf 7,45 anzusteigen. Nachdem sich die pH-Werte innerhalb der ersten 15 Tage vom Neutralpunkt kaum entfernten und damit sowohl am genussuntauglichen als auch verderbenen Fisch in gleicher Höhe gemessen wurden, ist die Angabe eines Grenzwertes nicht möglich.

Die Ebor'sche Probe war vom 3. Untersuchungstag ab trotz bestehender Genussuntauglichkeit mehren stark positiv, weshalb ihr eine Bedeutung nicht zuerkannt werden kann.

Die Bleiazetatprobe verlief in allen Fällen negativ.

- 34 -

18. H e c h t : geschlachtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,1 - 4,5° C.

Unt.Tag	erganelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,85	+++	-	+		
2.	-	6,9	++	-	+		
3.	-	6,8	++	-	+		
4.	-	7,0	+++	-	+		
5.	-	6,9	++	-	+		
6.	-	6,95	+++	-	+		
7.	-	6,9	+++	-	+		
8.	-	6,9	++	-	+		
9.	-	7,0	+++	-	+		
10.	-	7,0	+++	-	+		
11.	+	7,0	+++	-			+
12.	+	6,9	+++	-			+
13.	+	7,1	+++	-			+
14.	+	7,2	+++	-			+
15.	+	7,3	+++	-			+
16.	+	7,4	+++	-			+
17.	+	7,5	+++	-			+

Auswertung: Der erganeleptische Befund veranlasste erst verhältnismässig spät, nämlich am 11. Tag, bei einem pH-Wert von 7,0 die Erklärung der Genussuntauglichkeit. Mit nur geringfügigen Abweichungen erhöhte sich die pH-Zahl während der 17tägigen Untersuchung von 6,85 auf 7,5, ohne am 11. Tag den Eintritt der Genussuntauglichkeit durch eine Steigerung des pH-Wertes anzuzeigen. Erst in den letzten 5 Tagen, also 2 Tage nach Beginn der Zersetzung, stieg die pH-Zahl vom Neutralpunkt planmässig auf 7,5 an. Ein Grenzwert kann deshalb nicht angegeben werden. Die Eber'sche Probe war sogar am lebend- sowie blutfrischen Fisch stark positiv. Die Bliazetatprobe versagte.

- 35 -

19. Karpfen : Schlachtung am 1. Untersuchungstag, Aufbewahrung im Kühlraum bei 4,1 - 4,5° C.

Unt. Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,9	+	-	+		
2.	-	6,85	+++	-	+		
3.	-	6,85	++	-	+		
4.	-	6,9	+++	-	+		
5.	-	6,7	+	-	+		
6.	-	6,8	+++	-	+		
7.	-	6,7	+++	-	+		
8.	-	6,6	+++	-	+		
9.	+	6,8	+++	-			+
10.	+	6,7	+++	-			+
11.	+	6,7	+++	-			+
12.	+	6,8	+++	-			+
13.	+	6,8	++	-			+
14.	+	6,85	+++	-			+
15.	+	6,9	+++	-			+
16.	+	6,7	+++	-			+
17.	+	6,8	+++	-			+
18.	+	7,0	+++	-			+
19.	+	7,2	+++	-			+

Auswertung: Die grob sinnlichen Veränderungen waren am 9. Tag bei einem pH-Wert von 6,8 derart, dass der Karpfen als genussuntauglich bezeichnet werden musste. Der pH-Wert bewegte sich an genussuntauglichen Fisch in den ersten 8 Untersuchungstagen in Grenzen von 6,6 - 6,9. An bereits verderbten Fisch stiegen die pH-Werte vom 9. Tag ab von 6,8 auf 7,2 an.

Unter den gegebenen Verhältnissen kann beim Fehlen charakteristischer Veränderungen des pH-Wertes während der kritischen Zeit ein Grenzwert nicht angegeben werden.

Die Eberleche Probe war auch an genussuntauglichen Fisch wiederholt stark positiv.

Eine besondere Bedeutung kann ihr danach nicht zugesprochen werden.

Die Bleizetatprobe war bei allen Untersuchungen negativ.

- 36 -

20. S e h l e i e : Schlachtung am 1. Untersuchungstag, Aufbewahrung im Kühlraum bei 4,0 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	R.P.	I	II	III
1.	-	7,0	+++	-	+		
2.	-	7,05	+++	-	+		
3.	-	7,05	++	-	+		
4.	-	7,0	+++	-	+		
5.	-	6,85	+++	-	+		
6.	-	6,8	+++	-	+		
7.	-	6,9	+++	-	+		
8.	-	6,9	+++	-	+		
9.	+	6,9	+++	-			+
10.	+	6,9	+++	-			+
11.	+	7,0	+++	-			+
12.	+	6,9	+++	-			+
13.	+	7,0	+++	-			+
14.	+	7,2	+++	-			+
15.	+	6,7	+++	-			+
16.	+	6,75	+++	-			+
17.	+	6,7	+++	-			+
18.	+	6,7	+++	-			+
19.	+	6,6	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund machte am 9.Tag bei einem pH-Wert von 6,9 die Schleiße genussuntauglich. Vor diesem Tag bewegte sich der pH-Wert in Grenzen von 6,8 - 7,05. Nach Eintritt der Genussuntauglichkeit hielten sich die pH-Werte in den Grenzen von 6,9 - 7,2; sie unterschieden sich demnach nicht wesentlich vor und nach dem Eintritt der Verderbnis.

Ein pH-Grenzwert kann deshalb nicht angegeben werden.

Auch die Eberleiche Probe kann zur Beurteilung der Genussfähigkeit nicht herangezogen werden, da sie von ersten bis zum letzten Tag stark positiv war.

Die Bleizetatprobe war, wie in allen früheren Fällen, auch hier negativ. Für die Beurteilung des Lebensmittels stand in diesem Fall nur der organoleptische Befund zur Verfügung.

- 37 -

21. Barbe: Schlachtung am 1. Untersuchungstag, Aufbewahrung im Kühlraum bei 4,0 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,15	+	-	+		
2.	-	7,15	++	-	+		
3.	-	7,15	+++	-	+		
4.	-	7,2	+++	-	+		
5.	-	7,2	+++	-	+		
6.	-	7,2	+++	-	+		
7.	-	7,2	+++	-	+		
8.	-	7,2	+++	-	+		
9.	+	7,15	+++	-			+
10.	+	7,2	+++	-			+
11.	+	7,2	+++	-			+
12.	+	7,25	+++	-			+
13.	+	7,2	+++	-			+
14.	+	7,2	+++	-			+
15.	+	7,4	+++	-			+
16.	+	7,05	+++	-			+
17.	+	7,2	+++	-			+
18.	+	7,5	+++	-			+
19.	+	7,2	+++	-			+

Auswertung: Nach dem organoleptischen Befund trat die Genussuntauglichkeit der Barbe am 9. Tag mit einem pH-Wert von 7,15 ein. Vor und nach diesem Tag hielt sich der pH-Wert konstant über 7,0 und zwar vor Eintritt der Verderbnis in Grenzen von 7,15 - 7,2, nach Eintritt der Verderbnis zwischen 7,15 und 7,4. Ein Grenzwert der pH-Zahl ist nicht zu erkennen. Die Eber'sche Probe versagte auch hier; denn sie war auch vor Eintritt der Verderbnis schon stark positiv. Die Bleiazetatprobe verlief wiederum negativ. Auch bei der Barbe stand zur Beurteilung der Genussuntauglichkeit nur der organoleptische Befund zur Verfügung.

- 38 -

22. A i t e l : Schlachtung am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,0 - 4,5° C.

Unt.Tag	organelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,25	+	-	+		
2.	-	7,25	+++	-	+		
3.	-	7,15	++	-	+		
4.	-	7,3	+++	-	+		
5.	-	7,2	+++	-	+		
6.	-	7,1	++	-	+		
7.	-	7,1	+++	-	+		
8.	-	7,0	+++	-	+		
9.	-	7,2	+++	-	+		
10.	-	7,15	+++	-	+		
11.	+	7,1	+++	-			+
12.	+	7,1	+++	-			+
13.	+	7,2	+++	-			+
14.	+	7,25	+++	-			+
15.	+	7,6	+++	-			+
16.	+	7,5	+++	-			+
17.	+	7,7	+++	-			+

Auswertung: Das Aitel erwies sich als etwas haltbarer. Nach dem organoleptischen Befund trat erst am 11. Tag bei einem pH-Wert von 7,1 die Genussuntauglichkeit des Fishes ein. Auch beim Aitel hielt sich der pH-Wert von 1. bis zum letzten Untersuchungstag über 7,0, und zwar vor Eintritt der Verderbnis in Grenzen von 7,0 - 7,3, nach Eintritt der Verderbnis zwischen Werten von 7,1 - 7,7, wobei die höheren Werte über 7,5 erst mit vorgeschrittener Verderbnis erreicht wurden.

Auch hier kann wegen der gegebenen Überschneidungen ein pH-Grenzwert nicht festgelegt werden.

Die Ebor'sche Probe mit durchwegs positiven und die Bleiazetatprobe mit durchwegs negativen Ergebnissen scheidet für die Beurteilung der Genussuntauglichkeit aus.

- 39 -

23. B.r.a.c.h.s.e.: Schlachtung am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,0 - 4,5° C.

Unt.Tag	organelept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,2	-	-	+		
2.	-	7,1	++	-	+		
3.	-	6,9	+++	-	+		
4.	-	7,1	++	-	+		
5.	-	7,1	+++	-	+		
6.	-	7,1	++	-	+		
7.	-	7,1	++	-	+		
8.	-	7,0	+++	-	+		
9.	-	7,15	+++	-	+		
10.	-	6,85	+++	-	+		
11.	+	7,0	+++	-			+
12.	+	7,0	++	-			+
13.	+	7,1	+++	-			+
14.	+	7,2	+++	-			+
15.	+	7,4	+++	-			+
16.	+	7,2	+++	-			+
17.	+	7,4	+++	-			+

Auswertung: Die Brachse war am 11. Tag gänzlich untauglich (pH-Wert 7,0). Die pH-Werte bewegten sich im allgemeinen um den Neutralpunkt, wobei sie vor Eintritt der Zersetzung in Grenzen von 6,85 - 7,2 wohl etwas niedriger waren als nach eingetretener Gänzlichkeitsuntauglichkeit in Grenzen von 7,0 - 7,4. Ein pH-Grenzwert markierte sich danach auch in diesem Falle nicht. Die Eber'sche Probe mit stets positivem und die Bleiazetatprobe mit stets negativem Ergebnis waren wiederum für die Beurteilung der Gänzlichkeitsuntauglichkeit nicht zu gebrauchen.

- 40 -

24. S e h i e d: Schlaetzung am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kuhlraum bei 4,0 - 4,5° C.

Unt.Tag	organelept Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,25	+	-	+		
2.	-	7,25	+++	-	+		
3.	-	7,15	++	-	+		
4.	-	7,3	++	-	+		
5.	-	7,2	+++	-	+		
6.	-	7,2	+++	-	+		
7.	-	7,2	+++	-	+		
8.	-	6,9	+++	-	+		
9.	-	7,2	+++	-	+		
10.	-	7,0	+++	-	+		
11.	+	7,0	+++	-			+
12.	+	7,0	++	-			+
13.	+	7,1	+++	-			+
14.	+	7,1	+++	-			+
15.	+	7,1	+++	-			+
16.	+	7,4	+++	-			+
17.	+	7,5	+++	-			+

Auswertung: Der organeleptische Befund war am 11.Tag bei einem pH-Wert von 7,0 erstmals positiv, weshalb der Fisch von diesem Tag ab als genussuntauglich erklärt werden musste. Der pH-Wert hielt sich mit Ausnahme des 6.Tages (6,9) auf und über dem Neutralpunkt.

Ein Grenzwert kann nicht ersehen werden.

Die Eber'sche Probe war stets positiv, die Bleiazetatprobe negativ.

Beide Proben scheiden deshalb für die Beurteilung des Fisches aus.

- 41 -

25. A a I: geschlachtet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 4,0 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,65	-	-	+		
2.	-	6,6	-	-	+		
3.	-	6,4	+++	-	+		
4.	-	6,4	++	-	+		
5.	-	6,4	++	-	+		
6.	-	6,4	+	-	+		
7.	-	6,4	++	-	+		
8.	-	6,3	+	-	+		
9.	-	6,7	+	-	+		
10.	-	6,45	++	-	+		
11.	+	6,5	+	-			+
12.	+	6,6	+++	-			+
13.	+	6,5	+	-			+
14.	+	6,5	++	-			+
15.	+	6,7	+++	-			+
16.	+	6,6	+++	-			+
17.	+	6,4	+++	-			+

Auswertung: Der organoleptische Befund gab am 11.Tag bei einem pH-Wert von 6,5 Veranlassung, den Aal für genussuntauglich zu erklären. Bezeichnenderweise hielten sich die pH-Werte während der gesamten Untersuchungsdauer zwischen 6,3 und 6,7, wobei Werte von 6,6 und 6,7 sowohl vor als auch nach dem Eintritt der Genussuntauglichkeit gemessen wurden.

Ein pH-Grenzwert kann deshalb nicht festgesetzt werden.

Die Eber'sche Probe war vom 3.Tag ab positiv, also schon zu einer Zeit, als der Fisch noch voll genussfähig war.

Der Bleizetatprobe mit stets negativem Ergebnis kann eine Bedeutung nicht zuerkannt werden.

- 42 -

26. Kabeljau : Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,0	+++	-	+		
2.	-	7,3	+++	-	+		
3.	-	7,3	+++	-	+		
4.	-	7,5	+++	-	+		
5.	-	7,7	+++	-	+		
6.	-	7,65	+++	-	+		
7.	-	7,5	+++	-	+		
8.	-	7,7	+++	-	+		
9.	+	7,5	+++	-			
10.	+	7,4	+++	-			+
11.	+	7,6	+++	-			+
12.	+	7,8	+++	-			+
13.	+	7,8	+++	-			+
14.	+	8,0	+++	-			+
15.	+	7,7	+++	-			+
16.	+	7,9	+++	-			+
17.	+	8,1	+++	-			+

Auswertung: Am 9.Tag zeigte der Kabeljau bei einem pH-Wert von 7,5 so starke Veränderungen, dass er als genussuntauglich zu bezeichnen war. Der pH-Wert stieg vom 1.Untersuchungstag ab über den Neutralpunkt an und betrug bei fortgeschrittener Fäulnis 7,8 - 8,1.

Nachdem auch am volltauglichen Fisch schon pH-Werte von 7,7 gemessen wurden, kann ein pH-Grenzwert wiederum nicht bestimmt werden.

Besichtlich ist der Ausfall der Eber'schen Probe: sie war am volltauglichen Fisch ebenso stark positiv wie am verdorbenen. Ihr kommt deshalb genau so wenig Bedeutung zu wie der stets negativen Bleiazetatprobe.

- 43 -

27. Schellfisch: Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,7	+++	-	+		
2.	-	6,8	+++	-	+		
3.	-	6,8	+++	-	+		
4.	-	6,9	+++	-	+		
5.	-	7,2	+++	-	+		
6.	-	7,1	+++	-	+		
7.	-	6,8	+++	-	+		
8.	-	7,0	+++	-	+		
9.	+	6,9	+++	-			+
10.	+	6,8	+++	-			+
11.	+	7,0	+++	+			+
12.	+	7,0	+++	+			+
13.	+	7,1	+++	+			+
14.	+	7,1	+++	+			+
15.	+	6,9	+++	+			+
16.	+	7,0	+++	+			+
17.	+	7,4	+++	+			+

Auswertung: Nach dem organoleptischen Befund war der Schellfisch am 9. Tag bei einem pH-Wert von 6,9 gessuntauuglich. Nachdem der pH-Wert am gessuntauuglichen und am verdorbenen Fisch den Neutralpunkt wiederholt überschreitet, kann ein Grenzwert nicht erkannt werden.

Die Ergebnisse der Eber'schen Probe sind für die Beurteilung der Gessuntauuglichkeit nicht zu gebrauchen, da sie auch am volltauglichen Fisch bereits stark positiv waren.

Die Bleiazetatprobe setzte 2 Tage nach Beginn der Verderbnis des Schellfisches mit schwach positiven Reaktionen ein. Das verspätete Auftreten positiver Reaktion spricht dieser Probe die Brauchbarkeit ab.

- 44 -

28. Goldbarsch: Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt. Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,9	+++	-	+		
2.	-	7,0	+++	-	+		
3.	-	7,5	+++	-	+		
4.	-	7,4	+++	-	+		
5.	-	7,45	+++	-	+		
6.	-	7,8	+++	-	+		
7.	+	7,7	+++	-			+
8.	+	8,05	+++	-			+
9.	+	7,6	+++	-			+
10.	+	7,5	+++	-			+
11.	+	7,7	+++	+			+
12.	+	7,5	+++	+			+
13.	+	7,8	+++	++			+
14.	+	7,6	+++	++			+
15.	+	7,5	+++	++			+
16.	+	7,7	+++	++			+
17.	+	7,7	+++	++			+

Auswertung: Der organoleptische Befund zwang zur Beurteilung des Fisches am 7. Tag (pH-Wert 7,7) als genussuntauglich. Die pH-Werte lagen schon vom 2. Untersuchungstag ab über dem Neutralpunkt und erreichten sowohl an genussuntauglichen als auch an verderbenen Fisch eine Höhe von 7,8 pH. Ein Grenzwert war deshalb auch hier nicht zu ermitteln. Die Eberleche Probe war an genussuntauglichen wie auch verderbenen Fisch stets gleich stark positiv. Die Bliniazetatprobe lieferte auch beim Goldbarsch erst verspätet und zwar erst 4 Tage nach Eintritt der Verderbnis positive Werte, die mit ansteigender Fäulnis an Stärke zunahm.

- 45 -

29. A u s t e r n f i s c h: Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	S.P.	I	II	III
1.	-	6,3	+++	-	+		
2.	-	6,35	+++	-	+		
3.	-	6,6	+++	-	+		
4.	-	6,8	+++	-	+		
5.	-	7,2	+++	-	+		
6.	-	7,2	+++	-	+		
7.	+	7,1	+++	-			+
8.	+	7,2	+++	-			+
9.	+	6,9	+++	-			+
10.	+	6,8	+++	-			+
11.	+	7,05	+++	+			+
12.	+	6,9	+++	+			+
13.	+	6,7	+++	-			+
14.	+	6,8	+++	-			+
15.	+	6,9	+++	-			+
16.	+	6,9	+++	-			+
17.	+	7,5	+++	+			+

Auswertung: Nach dem organoleptischen Befund war der Austernfisch am 7.Tag bei einem pH-Wert von 7,1 verdorben und genussuntauglich. Der pH-Wert stieg bis zum Eintritt der Verderbnis von 6,3 auf 7,2 an, um im verdorbenen Fisch vorübergehend wieder auf 6,7 abzufallen.

Eine pH-Grenzwertbestimmung ist danach nicht möglich.

Die Eber'sche Probe lieferte an allen Untersuchungstagen ein gleich stark positives Ergebnis. Sie konnte deshalb zur Beurteilung nicht herangezogen werden.

Die Bleiazetatprobe lieferte an dem bereits verdorbenen Fisch sowohl positive als auch negative Befunde, weshalb ihr eine Bedeutung nicht beigegeben werden kann.

- 46 -

30. S e e h e c h t : Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei
3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,7	+++	-	+		
2.	-	6,85	+++	-	+		
3.	-	7,0	+++	-	+		
4.	-	7,2	+++	-	+		
5.	-	7,4	+++	-	+		
6.	-	7,5	+++	++	+		
7.	+	7,3	+++	++			+
8.	+	7,4	+++	-			+
9.	+	7,4	+++	-			+
10.	+	7,5	+++	-			+
11.	+	7,4	+++	-			+
12.	+	7,5	+++	-			+
13.	+	7,6	+++	-			+
14.	+	7,7	+++	-			+
15.	+	7,6	+++	-			+
16.	+	7,7	+++	-			+
17.	+	8,1	+++	-			+

Auswertung: Wegen starker grobsinnlicher Veränderungen musste der Seehecht am 7.Tag bei einem pH-Wert von 7,3 als genaunauntauglich bezeichnet werden. Der pH-Wert lag lediglich an den ersten beiden Untersuchungstagen unter dem Neutralpunkt. Er stieg dann bis zum 12.Tag nur allmählich an, um lediglich in den letzten Tagen und bei ausgeprägter Fäulnis auf 8,1 anzusteigen. Ein Grenzwert war nicht erkennbar.

Die Eber'sche Probe war wiederum an allen Untersuchungstagen stark positiv. Die Bleifacetatprobe dagegen zeigte am Tage vor und am Tage des Beginns nachweisbarer Zersetzung ein mittelgradig stark positives Ergebnis. An allen anderen Tagen hatte sie ein negatives Ergebnis.

Beiden letztgenannten Untersuchungsmethoden kommt deshalb eine praktische Bedeutung im vorliegenden Fall nicht zu.

- 47 -

31. Scholle: Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,0	+++	-	+		
2.	-	7,05	+++	-	+		
3.	-	7,0	+++	-	+		
4.	-	6,9	+++	-	+		
5.	-	7,0	+++	-	+		
6.	-	7,2	+++	-	+		
7.	+	7,2	+++	-			+
8.	+	7,25	+++	-			+
9.	+	7,35	+++	-			+
10.	+	7,2	+++	-			+
11.	+	7,7	+++	-			+
12.	+	7,9	+++	-			+
13.	+	8,1	+++	-			+
14.	+	8,0	+++	-			+
15.	+	7,8	+++	-			+
16.	+	8,0	+++	-			+
17.	+	7,9	+++	-			+

Auswertung: Am 7.Tag war bei einem pH-Wert von 7,2 die Scholle genseuntauglich. Der pH-Wert hielt stets an genseuntauglichen Fisch um 7,0, um nach Eintritt der Zersetzung bis auf 8,1 anzusteigen.

Die unmittelbar vor und nach dem Eintritt der Zersetzung ermittelten geringen Unterschiede des pH-Wertes lassen die Festsetzung eines pH-Grenzwertes nicht zu.

Nachdem die Eber'sche Probe an allen Untersuchungstagen ein positives, die Bleizetatprobe dagegen zur gleichen Zeit ein negatives Ergebnis zeitigte, können beide Methoden zur Beurteilung der Genseuntauglichkeit nicht herangezogen werden.

- 48 -

32. Seezung e: Auf Eis geliefert, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,5° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,5	+++	-	+		
2.	-	6,8	+++	-	+		
3.	-	6,7	+++	-	+		
4.	-	6,8	+++	-	+		
5.	-	6,8	+++	-	+		
6.	-	6,85	+++	-	+		
7.	+	6,7	+++	-			+
8.	+	7,0	+++	-			+
9.	+	7,0	+++	-			+
10.	+	6,9	+++	-			+
11.	+	7,0	+++	-			+
12.	+	7,2	+++	-			+
13.	+	7,8	+++	-			+
14.	+	7,8	+++	-			+
15.	+	7,7	+++	+			+
16.	+	7,8	+++	+			+
17.	+	7,8	+++	+			+

Auswertung: Erhebliche organoleptische Veränderungen gaben am 7.Tag bei einem pH-Wert von 6,7 Anlass, die Seezung als verdorben und genussuntauglich zu erklären. Der pH-Wert hielt sich am genussauglichen Fisch unter 7,0, am verdorbenen Fisch dagegen mit zwei Ausnahmen (7. und 10.Tag) über 7,0.

Die Ausnahmen machen es unmöglich, einen Grenzwert anzugeben.

Die Eher'sche Probe war am genussauglichen und am genussuntauglichen Fisch gleichmäßig stark positiv.

Die Bleiazetatprobe zeigte mit Stögiger Verspätung die eingetretene Zersetzung an.

Beide Hilfsmethoden waren danach für die Beurteilung der Genussauglichkeit nicht zu gebrauchen.

- 49 -

33. Auster: Getötet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt im Kühlraum bei 3,5 - 4,7° C.

Unt. Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,3	-	-	+		
2.	+	6,6	-	-			
3.	+	6,4	-	-			+
4.	+	6,4	-	-			+
5.	+	6,4	+	-			+
6.	+	6,3	++	-			+
7.	+	6,3	+	-			+
8.	+	6,3	+	-			+
9.	+	6,2	+	-			+

Auswertung: Entsprechend der geringen Haltbarkeit solchen Fleisches war die Auster bereits nach einem Tag infolge ihres organoleptischen Befundes bei einem pH-Wert von 6,6 als verdorben und genussuntauglich anzusehen. Bemerkenswert ist, dass der pH-Wert an allen Untersuchungstagen unter 6,6 lag und mit zunehmender Fäulnis eine Senkung erfuhr. Ein pH-Grenzwert war nicht zu erkennen. Die Eber'sche Probe wurde erst 4 Tage nach Beginn der Genussuntauglichkeit schwach positiv. Die Bleiazetatprobe hatte an allen Untersuchungstagen ein negatives Ergebnis. Beide Methoden konnten also zur Beurteilung nicht herangezogen werden.

- 50 -

34. Miesmuschel : getötet am 1. Untersuchungstag, aufbewahrt bei 3,5 - 4,7° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	7,2	+	-	+		
2.	-	7,2	+	-	+		
3.	+	7,0	+	-			
4.	+	7,0	++	-			+
5.	+	7,1	+++	-			+
6.	+	7,1	++	-			+
7.	+	6,3	++	-			+
8.	+	6,7	+	-			+
9.	+	6,7	+	-			+
10.	+	6,9	+	-			+
11.	+	7,4	+	-			+
12.	+	7,2	+	-			+
13.	+	6,7	++	-			+

Auswertung: Die Miesmuschel war am 3. Tag bei einem pH-Wert von 7,0 nicht mehr genusstauglich, ihr Fleisch war an diesem Tag bereits misfarbig und schmierig. Der pH-Wert lag sowohl am frischen Muschelfleisch als auch am verdorbenen um 7,0.

Ein pH-Grenzwert ist nicht gegeben.

Die Eber'sche Probe zeigte am frischen und am verdorbenen Muschelfleisch positive Werte.

Die Bleizetatprobe war wiederum in allen Fällen negativ.

Beide Hilfsmethoden versagten danach.

- 51 -

35. Frosch (Teichfrosch): küchenmäßig hergerichtet angekauft,
aufbewahrt bei 4,0 - 5,0° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	6,7	+	-	+		
2.	-	6,85	++	-	+		
3.	+	7,0	++	-			
4.	+	6,5	++	-			+
5.	+	6,5	+++	-			+
6.	+	6,6	+++	-			+
7.	+	7,0	+++	+			+
8.	+	7,55	+++	+			+
9.	+	7,8	+++	+			+
10.	+	8,0	+++	+			+
11.	+	8,0	+++	+			+
12.	+	7,8	+++	+			+
13.	+	7,8	+++	+			+
14.	+	7,9	+++	+			+
15.	+	8,0	+++	+			+

Auswertung: Da Froschhälften ebenfalls wenig haltbar sind, zeigten sie bereits am 3. Tag bei einem pH-Gehalt von 7,0 so wesentliche Veränderungen, dass sie auf Grund des organoleptischen Befundes als verdorben und genussuntauglich bezeichnet werden mussten. Unter 7,0 liegende pH-Werte wurden sowohl vor wie nach Eintritt der Zersetzung gemessen. pH-Werte über 7,5 (= 8,0) traten erst bei vorgeschrittener Zersetzung auf.
Ein pH-Grenzwert kann demnach auch hier nicht festgelegt werden. Die Eber'sche Probe war sowohl im genussuntauglichen als auch im verdorbenen Froschfleisch positiv.
Die positiven Ergebnisse der Bleiazetatprobe hinkten wiederum nach; sie traten erst 4 Tage nach Beginn der Fleischzersetzung auf.

- 52 -

36. Weinbergsschnecke: getötet am 1. Untersuchungstag,
küchenmäßig hergerichtet, aufbewahrt im Kühlraum
bei 4,0 - 4,7° C.

Unt.Tag	organolept. Befund	pH	E.P.	B.P.	I	II	III
1.	-	8,5	+	-	+		
2.	-	8,4	-	-	+		
3.	-	8,7	-	-	+		
4.	+	9,0	-	-			+
5.	+	8,7	-	-			+
6.	+	8,5	-	-			+
7.	+	8,8	+				+
8.	+	8,65	+				+
9.	+	8,8	+				+

Auswertung: Nach dem organoleptischen Befund war das Fleisch der Weinbergsschnecke am 4. Tag bei dem auffällig hohen pH-Gehalt von 9,0 verdorben und genussuntauglich. Der pH-Wert war vor und nach eingetretener Verderbnis über 8,3; ein pH-Grenzwert kann nicht gesehen werden.

Die Eber'sche Probe war am 1. und den 3 letzten Untersuchungstagen, also sowohl zur Zeit der Genussauglichkeit als auch zur Zeit der Genussuntauglichkeit schwach positiv.

Die Bleiazetatprobe war vor und nach Eintritt der Zersetzung negativ. Beide Proben erwiesen sich hiermit als für die Beurteilung unbrauchbar.

C. Zusammenfassung.

An für den menschlichen Genuss bestimmtem Fleisch von 35 verschiedenen Tierarten wurden insgesamt 2 481 Einzeluntersuchungen vorgenommen, und zwar 621 organoleptische Prüfungen, 621 pH-Wertmessungen, 621 Eber'sche Proben und 618 Bleiazetatproben.

Den zahlreichen Ergebnissen dieser umfangreichen Untersuchungen kann entnommen werden:

- 1.) Die pH-Wertbestimmung an Fleisch kann nur dann der Beurteilung des Fleisches auf seine Tauglichkeit dienlich sein, wenn ein deutlich ausgeprägter pH-Wert den Eintritt der Verderbnis des Schlachtgutes anzeigt. Solche pH-Grenzwerte wurden ermittelt an Fleisch von Pferd, Schaf, Ziege, Kaninchen, Gans, Ente, Truthahn, Haushuhn und Haustaube. Die gefundenen pH-Grenzwerte des fett- und bindegewebsfreien bzw. -armen Muskelfleisches betragen bei:

Pferd	5,8 pH
Schaf	6,1 - 6,5 pH
Ziege	6,15 - 6,35 pH
Kaninchen	6,0 - 6,4 pH
Gans	6,35 - 6,4 pH
Ente	6,05 - 6,2 pH
Truthahn	5,8 - 5,9 pH
Haushuhn	6,1 - 6,35 pH
Haustaube	6,1 - 6,4 pH.

Die eindeutigsten pH-Grenzwerte wurden bei der Untersuchung von Fleisch des Haugesflügels festgestellt.

Der gewonnene Einblick gibt bei einem Vergleich der eigenen verwertbaren Untersuchungsergebnisse mit jenen des Schrifttums anerkennende Veranlassung, die Bedeutung der pH-Wertmessung für die praktische Fleischbeurteilung nicht zu überschätzen; denn in Ermangelung eines feststellbaren pH-Grenzwertes bei Rind- und Schweinefleisch, sämtlichen untersuchten Wildbrutarten (Hirsch, Wildschwein, Haso, Fasan und Wildente), den zur Verfügung stehenden Süßwasser- und Seefischen (Rund- und Plattfischen) und bei Austern, Meeresmuschel und Weinbergschnecke bestand keine Möglichkeit, die Bestimmung der H-Ionenkonzentration für die Beurteilung der Genuss-tauglichkeit beizuziehen.

- 54 -

- 2.) Die Eber'sche Probe konnte bei der Untersuchung sämtlicher Fleischarten keine befriedigenden Ergebnisse aufweisen; sie war in der Mehrzahl der untersuchten Fälle schon bei organoleptisch einwandfreiem und noch vollgenussfähigem Fleisch geringgradig bis stark positiv oder hinkte mit geringgradig positiven Ergebnissen trotz mehrtägiger Verderbnis nach (Auster, Weinbergtschnecke).
Diese Versäuerungen an frischem Fleisch und an verdorbenem Schlachtgut können auch nicht abgeglichen werden durch die stark positiven Reaktionen an hochgradig verdorbenem Fleisch, weil hier in allen Fällen schon der organoleptische Befund bereits in überzeugender Weise die fortgeschrittene Zersetzung sinnfällig bekundet.
Somit kann der Eber'schen Probe eine Brauchbarkeit bei der Beurteilung von Fleisch, das für den menschlichen Genuss bestimmt ist, in lebensmittelhygienischer Beziehung nicht zuerkannt werden.
- 3.) Die Bleiazetatprobe lieferte gering- bis mittelgradig positive Ergebnisse nur an Seefischen (Schellfisch, Goldbarsch, Austernfisch, Seehecht und Seezunge) sowie an Frischfleisch im verdorbenen Zustand, während sie bei Fleisch aller anderen untersuchten Tierarten selbst bei hochgradiger Zersetzung und vollkommener Genussuntauglichkeit desselben ein eindeutig negatives Ergebnis zeitigte.
Wenn auch Fehlergebnisse an unverdorbenem Fleisch, wie sie bei der Eber'schen Probe häufig auftraten, bei der Bleiazetatprobe unterblieben, so ermöglichen die positiven Reaktionen an verdorbenem Fleisch trotzdem keine günstige Bewertung des Verfahrens, weil diese Ergebnisse entweder höchst lückenhaft sind (Austernfisch, Seehecht) oder mit erheblichen Verspätungen nach Eintritt der Zersetzung folgen (Schellfisch, Goldbarsch, Seezunge, Frisch).
Es wird aus diesen Gründen keine Möglichkeit gesehen, der Bleiazetatprobe auch nur beschränkter Wert, z.B. bei der Untersuchung und Beurteilung des Fleisches von Seefischen und Fröschen, einzuräumen.
- 4.) Die organoleptischen Untersuchungen bieten bei besorgter, notfalls wiederholter Durchführung einer eingehenden Überprüfung des Aussehens von oberflächlichen und tieferen Schichten, der Konsistenz, des Geruches - allenfalls unter Zuhilfenahme der Kochprobe - zuverlässige Anhaltspunkte für die Beurteilung von Fleisch dann, wenn diesen Teiluntersuchungen die hierfür unbedingt erforderlichen Erfahrungen im Umgang mit Fleisch der verschiedensten Tierarten zur Seite stehen.

- 55 -

Die Nachteile eines solchen Verfahrens, das nur auf den Sinneswahrnehmungen fußt und deshalb individuellen Schwankungen unterworfen ist, bedürfen insbesondere in forensischen Fällen keiner Begründung.

Aus diesem Grunde wird der nur beschränkte Wert der pH-Messungsergebnisse und das Versagen der Eber'schen Probe und der Bleiazotatprobe Veranlassung geben, nach anderen Untersuchungsmethoden Ausschau zu halten, welche die Ergebnisse der organoleptischen Methode zu stützen vermögen. Dabei wird der bakteriologischen Untersuchung von Fleisch auch dann noch eine überragende Bedeutung zukommen, wenn feststeht, dass auch dieses erprobte Verfahren nicht in allen Fällen die Ursache und den Grad beginnender Fleischverderbnis zu erfassen vermag.

Der zur Dissertation gehörige Anhang mit den Tabellen I und II kann in der Originalarbeit beim Dekanat eingesehen werden.

- 56 -

An Schlusse meiner Arbeit ist es mir eine angenehme Pflicht,
Herrn Direktor Prof. Dr. Hugo G r a u für die mir an der Anstalt gegebene
Möglichkeit zur Durchführung vorliegender Dissertation meinen ergebensten
Dank auszusprechen.

Meinen aufrichtigen Dank sage ich ferner Herrn Oberregierungs- und
Veterinär rat Dr. Max H o p f e n g ä r t n e r für die wertvolle Anlei-
tung und Beihilfe bei der Fertigstellung seiner Arbeit.

Page Denied

Next 646 Page(s) In Document Denied

II: 95

L'HELMINTHOLOGIE EN UNION SOVIETIQUE

K. I. SRIABINE, ACADEMICIEN, DIRECTEUR DE L'INSTITUT K. I. SRIABINE D'HELMINTHOLOGIE DE L'U.R.S.S. A MOSCOU.

En U.R.S.S., c'est seulement après la Grande Révolution d'Octobre qu'a été stimulé le développement de l'helminthologie sur des bases véritablement scientifiques. En effet, le jeune Etat soviétique, — entreprenant l'édification du socialisme sur le sixième du globe, — ne pouvait certainement pas rester inactif devant la pullulation des helminthes chez les gens et chez les animaux, état de chose qui durait depuis de nombreux millénaires.

Soucieux du développement des sciences dans le jeune Etat, le Gouvernement soviétique organisa les premiers services spécialisés de recherches scientifiques helminthologiques.

Le premier d'entre eux fut le service d'helminthologie de l'Institut vétérinaire expérimental de l'U.R.S.S., organisé le 16 novembre 1920; service qui, après quelques années, devint autonome et prit le nom d'Institut K. I. Scriabine d'helminthologie de l'U.R.S.S. Peu avant, les premières chaires de parasitologie avaient été créées près des Ecoles supérieures vétérinaires.

De cette façon, en U.R.S.S., d'un côté, les recherches scientifiques d'helminthologie étaient poussées très activement, et, d'un autre côté, sur les bancs de l'école, de jeunes vétérinaires acquéraient les rudiments de l'helminthologie pour pouvoir dans leur future pratique appliquer les mesures anthelminthiques.

ORGANISATION DES TRAVAUX D'HELMINTHOLOGIE EN U.R.S.S.

L'helminthologie soviétique se développe suivant quatre lignes de base; chacune de ces lignes possède un centre de planification d'études méthodiques scientifiques et un réseau périphérique correspondant de services de recherches.

La théorie biologique d'helminthologie est établie par le Laboratoire central d'helminthologie de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S. qui dirige le travail des réseaux de services ayant comme base les académies des sciences des Républiques de l'Union Soviétique et les filiales de l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S.

Le centre d'helminthologie vétérinaire est l'Institut d'helminthologie de l'U.R.S.S. qui porte le nom de l'académicien K. I. Scriabine; il dirige le travail des réseaux de services et de laboratoires des instituts de recherches scientifiques périphériques, ainsi que ceux des instituts vétérinaires et des stations vétérinaires expérimentales.

Le centre de médecine helminthologique est l'Institut du paludisme, de parasitologie et d'helminthologie qui dirige le travail des réseaux des services helminthologiques, des instituts sanitaires épidémiologiques et des stations de lutte contre l'impaludisme.

Le centre de phytohelminthologie est le service correspondant de l'Institut K. I. Scriabine d'helminthologie de l'U.R.S.S.

Suivant ces quatre lignes, les services centraux d'helminthologie étudient profondément les problèmes théoriques, tandis que les services de recher-

ches scientifiques périphériques s'occupent des travaux scientifiques pratiques concernant les problèmes intéressants chaque zone ou contrée et dirigent l'action pratique des vétérinaires soignant les helminthiases.

Les services centraux d'helminthologie, comme aussi les chaires de parasitologie des écoles supérieures poursuivent un important travail pour la création de cadres d'helminthologistes en préparant ceux-ci au doctorat et au travail scientifique et aussi en organisant des stages spéciaux d'instruction.

Toutes les possibilités sont mises en oeuvre pour préparer des cadres tant dans les domaines scientifiques que pratiques, comprenant non seulement médecins et vétérinaires, mais aussi du personnel subalterne et des travailleurs de laboratoire; des cours spéciaux d'helminthologie ont été organisés, des spécialistes ont fait des tournées de conférences, des rapports ont été établis sur différentes questions scientifiques et pratiques d'helminthologie, des postes de stagiaires ont été créés dans les services scientifiques d'helminthologie, des médecins et vétérinaires locaux ont été appelés à participer aux expéditions spéciales d'helminthologie et s'y sont qualifiés dans cette science, on a profité des congrès et conférences scientifiques de différentes branches médicales, vétérinaires et biologiques pour présenter des rapports sur l'helminthologie.

La Société des helminthologues de l'Union Soviétique près l'Académie des Sciences de l'U.R.S.S., qui comprend environ 800 membres représentant toutes les branches tant scientifiques que pratiques de l'helminthologie, joue un grand rôle dans le développement de cette science comme aussi pour élever

la qualification des cadres d'helminthologues.

Dans les assemblées de cette société on examine les rapports scientifiques, on organise des discussions et on pratique de larges échanges d'idées sur les expériences scientifiques et pratiques.

La planification est le caractère spécifique des travaux scientifiques et pratiques dans le domaine de l'helminthologie. En principe, la planification des sciences helminthologiques est établie de façon à ce que l'ensemble des réseaux des services helminthologiques étudient dans leur ordre d'importance les thèmes les plus actuels et pour que des helminthologues hautement qualifiés puissent résoudre les questions les plus importantes posées pratiquement par la production socialiste. La planification a donné la possibilité d'éviter dans certains cas de poursuivre parallèlement des mêmes recherches expérimentales; de plus, il a été possible de choisir pour les services périphériques des thèmes qui correspondent, premièrement, aux aptitudes de leurs travailleurs et, secondement, touchent des problèmes particulièrement intéressants pour leur région.

La planification des recherches helminthologiques a permis de poser pour leur solution de grands problèmes d'importance nationale, de façon à ce qu'ils soient étudiés par de grands collectifs de travailleurs en tenant compte que chacun d'entre eux mène son travail suivant les conditions spécifiques climato-géographiques locales ainsi que les conditions de production et de vie.

Enfin, la planification des travaux de recherches scientifiques a donné la possibilité d'arrêter le travail sur des problèmes déjà résolus soit par des services soviétiques soit à l'étranger.

La planification est établie de la même façon pour les travaux pratiques de lutte contre les helminthiases suivant le plan général d'Etat de mesures sanitaires.

Toutes les mesures de lutte contre les helminthiases de l'homme et des animaux domestiques et d'élevage sont réglementées par les autorités soviétiques par voie d'instructions et de directives ad hoc qui sont obligatoires pour leur mise en pratique par les services médicaux et vétérinaires. Ces instructions sont périodiquement révisées et mises au point suivant les derniers progrès scientifiques et pratiques.

L'helminthologie soviétique donne une grande importance à la vulgarisation des mesures anthelminthiques parmi les larges couches de la population, mettant en oeuvre pour cela les plus différentes méthodes de propagande scientifique.

De même, on accorde en Union Soviétique une grande importance à ce que médecins et vétérinaires soient de plus en plus qualifiés en helminthologie. Les services centraux soviétiques d'helminthologie trouvent une grande force dans leurs relations avec les médecins et vétérinaires helminthologues des différentes régions, travaillant scientifiquement ou pratiquement, qui sont, dans leur grande majorité, des disciples de l'école scientifique soviétique d'helminthologie.

L'élévation au point de vue helminthologique de la qualification des travailleurs scientifiques, des médecins praticiens, des étudiants et du personnel subalterne médical et vétérinaire est grandement facilitée par l'édition en U. R. S. S. de nombreux livres concernant les différentes branches scientifiques et pratiques de l'helminthologie. Les lecteurs soviétiques ont à leur dis-

position de très nombreux ouvrages sur l'helminthologie; monographies, vademecum, manuels, ouvrages de vulgarisation; on édite des placards, on crée des films sur des thèmes helminthologiques. L'Académie des Sciences de l'U. R. S. S. a commencé l'édition de l'ouvrage en 16 volumes "Les trématodes de l'homme et des animaux".

De tout ceci, il découle qu'en U. R. S. S., à tous les échelons, les travaux d'helminthologie sont orientés, d'après plan, pour la prise systématique de mesures de salubrité protégeant la population et les animaux de l'invasion par les helminthes.

PRINCIPES ET METHODES DE LUTTE CONTRE LES HELMINTHIASES EN U. R. S. S.

Dès les premiers pas de leur action, les helminthologues soviétiques ont accompli une réforme radicale dans la méthode de lutte contre les helminthiases, lui donnant dans son principe une nouvelle direction, la tirant de l'étroite voie de la seule thérapeutique pour la mettre sur la large voie des mesures de salubrité médico-prophylactiques. Dans ces buts, il a fallu non seulement détruire les vieilles notions, séculairement enracinées, mais créer de nouvelles conceptions sur de nouveaux principes. Ce n'est pas l'expulsion des "vers", mais la lutte contre la pullulation de ces parasites; non pas la seule administration de vermifuges au patient, mais la combinaison de moyens thérapeutiques radicaux avec des mesures anthelminthiques prophylactiques; non pas l'action sur les helminthes seulement au stade imago, mais l'extermination de ces parasites à tous les stades de leur développement; non seulement les soins particuliers à des individus, mais de

larges mesures de salubrité médicales et vétérinaires protégeant toute la population et les animaux; non seulement l'acte humanitaire consistant à aider un malade, mais une grande action sanitaire ayant une importance économique pour l'Etat, étroitement liée avec les tâches de l'édification socialiste.

Voilà les principes de bases de l'helminthologie soviétique.

L'école d'helminthologie soviétique donne de cette science la nouvelle détermination suivante:

"L'helminthologie est une science complexe théorique et appliquée qui, d'un côté, étudie tous les aspects du monde des organismes parasitaires comprenant les plathelminthes, nématelminthes, équinoxyens, annélides, et, d'un autre côté, étudie toutes les nombreuses maladies de l'homme, des animaux et des plantes qui résultent de l'invasion de leurs organes et de leurs tissus par ces parasites. Les trois principales branches de l'helminthologie appliquée sont la recherche des moyens de lutte les plus efficaces contre les helminthiases de l'homme, des animaux domestiques, et contre les maladies des plantes de culture causées par des vers, de façon à les appliquer d'après plan, afin, d'abord de raréfier, puis de liquider complètement ces maladies qui portent de très importants préjudices à la santé publique, à l'élevage et à l'agriculture".

Avant la Révolution, personne ne définissait ainsi l'helminthologie et personne ne pouvait poser devant cette science ces tâches fixées par l'Etat. C'est en cela que ressort le caractère de l'helminthologie soviétique.

Cette nouvelle notion des tâches scientifiques et pratiques de l'helminthologie a déterminé la nécessité de mettre

au point de nouveaux principes et méthodes pour cette science.

1. Avant tout, il a été nécessaire de mettre au point de nouvelles méthodes permettant d'établir une nomenclature complète qualitative et quantitative de tous les helminthes qui envahissent tous les organes et tissus de tel ou tel animal. Ceci a été fait et mis en pratique dans les recherches helminthologiques et a reçu le nom de méthode de complet dénombrement helminthologique suivant Seriabine.

2. La large mise en pratique de cette méthode dans les travaux des expéditions d'helminthologues qui, - depuis les premières années d'existence de l'Etat soviétique, - ont été systématiquement organisées pour l'étude de la faune helminthique de l'homme et des animaux dans les différentes zones climato-géographiques de l'Union Soviétique, a joué un grand rôle en donnant la possibilité de découvrir la loi de propagation des helminthes, d'établir leurs aires d'existence, d'apprécier différents facteurs ayant une influence sur la pullulation ou la non existence de tels ou tels helminthes dans différentes zones géographiques.

Ces recherches sont à l'origine de la nouvelle direction donnée aux travaux établissant la répartition géographique des helminthes en U.R.S.S., travaux qui ont une grande importance théorique et pratique.

3. L'helminthologie soviétique a pour la première fois appliqué à l'étude des helminthiases les principes épidémiologiques et épizootologiques et mis au point un nouveau principe de leur classification, les partageant en deux catégories principales: les géohelminthiases et les biohelminthiases. Cette classification a établi une différence suivant les

agents intermédiaires d'infection provoquant des helminthiases chez les animaux. Si l'intermédiaire est un corps inanimé, la classe est celle des géohelminthes; si l'intermédiaire est un individu quelconque, la classe est celle des biohelminthes. Les principes de lutte prophylactique doivent être absolument différents pour chacune de ces deux classes (géo- et biohelminthes).

4. L'helminthologie soviétique a sévèrement jugé l'ancienne thérapeutique anthelminthique à cause de son complet isolement des méthodes prophylactiques. Pour cette raison elle a mis en pratique la *deshelminthisation*, méthode suivant laquelle le patient est libéré des helminthes en portant attention à ce que le milieu extérieur soit complètement purgé de tout élément d'invasion. En d'autres mots, la *deshelminthisation* est basée sur le principe de la mise en pratique simultanée de méthodes thérapeutiques et prophylactiques.

5. L'helminthologie soviétique a mis au point un système exact de contrôle permettant de vérifier l'efficacité de la *deshelminthisation*.

6. Des mesures de salubrité ont été mises au point et en pratique et on a donné à cette méthode le nom de *deshelminthisation avant l'imago*. Le principe de cette méthode est d'administrer l'helminthicide alors que le parasite n'est pas encore arrivé au stade adulte (sexué) dans les organes de son hôte, c'est-à-dire dans la période où les symptômes cliniques de maladie ne sont pas encore apparus chez l'animal. Ayant, par cette *deshelminthisation* précoce obtenu l'expulsion de l'organisme de l'hôte des helminthes non adultes, n'ayant ni oeufs ni larves, nous empêchons tout d'abord les symptômes cliniques d'apparaître et aussi le déve-

loppement de la maladie, puis nous protégeons les pâturages et le lieu d'habitat de la dissémination de germes viraux provenant de parasites sexuels.

L'helminthologie soviétique a élaboré une méthode biologique de *deshelminthisation* des pâturages par voie de planification de leur utilisation, ce qui a donné de bons résultats en ce qui concerne les *géohelminthiases* des moutons, les strongylooses de chevaux (avec maintien en troupeau), et les distomatoses des ruminants.

PRINCIPAUX RESULTATS DE L'HELMINTHOLOGIE SOVIETIQUE

Une nouvelle organisation des travaux d'helminthologie en U.R.S.S. et aussi la mise au point et en pratique de nouveaux principes dans les méthodes de lutte contre les helminthiases a permis à l'helminthologie soviétique d'obtenir des résultats concrets dans les domaines scientifiques et pratiques.

1. Etude dans sa ligne fondamentale de la faune helminthique parmi la population de l'U.R.S.S., les animaux domestiques et à fourrure, et les plantes de culture.

L'analyse d'un très important matériel nous a permis d'avancer dans l'étude des caractères de la faune helminthique dans différents habitats: toundras, taigas, steppes, déserts, etc. Je parle ici de la direction à laquelle j'ai donné le nom de *géohelminthologie*.

Les travaux pour l'étude de la faune helminthique de l'U.R.S.S. ont une sérieuse importance pratique, elles ont donné la possibilité aux services médicaux et vétérinaires de prendre des mesures anthelminthiques sur des bases scientifiques et d'après plan sur tout le territoire de l'Union Soviétique. Ils ont permis d'établir les limites d'accoumo-

lation des helminthes à l'état parasitaire dans l'organisme de différents individus, réunissant de cette façon un important matériel pour des études sur les épizooties. Ceci a permis d'établir le rôle de différents représentants de la faune "sauvage" dans la propagation des invasions parasitaires de l'homme, des animaux domestiques et des animaux à fourrure; et a aussi permis de s'orienter dans les questions de la circulation des helminthes dans la nature.

Nous avons maintenant en U.R.S.S. une représentation générale des particularités caractéristiques de la faune pour certaines classes de vers parasitaires. Nous comprenons clairement à présent comment s'opèrent les invasions par les helminthes de l'homme et de chaque espèce d'animaux domestiques et de chasse et de pêche (mammifères, oiseaux et poissons).

Nous ne constatons pas seulement ces maladies, mais, ce qui est plus important, il nous a été possible dans de nombreux cas d'établir avec certitude le motif de leur existence; l'étude d'épidémie et d'épizooties nous ayant permis d'éclaircir cette question.

Ces travaux ont donné la possibilité de réviser et ensuite de radicalement réorganiser la systématique, tant pour les grandes que pour les petites unités taxonomiques, d'indiquer la voie des relations philogéniques entre certains groupes d'helminthes, de découvrir de nouveaux agents d'invasion, et d'enrichir l'anatomie et la biologie des vers parasitaires de faits observés des plus intéressants. Ces travaux nous ont permis d'entreprendre l'étude de la société des vers parasitaires, d'indiquer leur répartition régulière dans tel ou tel organe de l'hôte suivant la zone d'habitat, ouvrant ainsi le première page d'une nouvelle direction dans notre science:

Helminthoxenologie. Ces travaux ont enrichi la biologie générale et la parasitologie de toute une série de déductions et de généralisations.

La science soviétique a déchiffré le cycle de développement de toute une série d'helminthes pathogènes et cela a donné la possibilité d'élaborer tout un complexe de mesures prophylactiques spécifiques contre les helminthiases, basées sur une subtile étude des lois biologiques de leurs agents.

3. L'helminthologie soviétique a mis au point une méthode de diagnostic sur l'hôte vivant de toute une série d'helminthiases de l'homme et des animaux domestiques.

4. De nouvelles méthodes thérapeutiques effectives contre les helminthiases des hommes et des animaux ont été élaborées.

5. On a mis au point des méthodes de *déshelminthisation* des milieux extérieurs des éléments d'invasion (*déshelminthisation* des fumiers, des matières fécales, des eaux d'égout, des sols, organisation d'abreuvoirs hygiéniques, etc.).

6. L'helminthologie soviétique a ces dernières années mis au point une nouvelle théorie de *dévastation* des helminthes, qui consiste en une complète destruction de tels ou tels helminthes à tous les stades de leur cycle biologique par des méthodes d'action mécaniques, physiques, chimiques et biologiques.

Les expériences des chercheurs soviétiques ont brillamment démontré la possibilité de réaliser ces mesures de *dévastation*. En particulier le docteur L. M. ISSAËV a obtenu la *dévastation* des dragonneaux de l'homme par voie de *déshelminthisation* chirurgicale des porteurs, complétée par la *déshelminthisation* des eaux; le docteur A. M. PÉTROV a obtenu la *dévastation* des helminthes

pathogènes des martres et des zibelines dans les fermes d'élevage par la *dés-helminthisation* individuelle de chacun de ces animaux de prix, complétant naturellement son action par de sévères mesures sanitaires anthelminthiques.

Enfin, le docteur Podiapolskaia a obtenu de bons résultats dans la lutte contre le ténia de l'homme et avec les cysticerques des animaux domestiques dans la région de Kirov, opérant la *dés-helminthisation* non seulement des malades demandant un secours médical, mais aussi de tous les citoyens chez lesquels, après un examen systématique, des téniaïdés étaient découverts. Ce travail fut mené de front avec des vétérinaires spécialistes.

Il est nécessaire d'élargir et d'approfondir le travail de *dévastation* des helminthes, en employant pour cela tous les progrès scientifiques et toute l'expérience pratique acquise.

Il est temps de reconnaître qu'aujourd'hui l'humanité ne peut plus être indifférente à l'invasion séculaire des hommes et des animaux par les vers parasitaires; on doit résolument entreprendre une transformation de la nature qui ne donne plus de possibilités biologiques d'existence au monde des helminthes. Leur *dévastation* est la voie qui mènera à des temps où l'humanité n'aura plus à souffrir de ces parasites.

Naturellement, le but de notre marche hardie en avant est de protéger la santé et la vie de l'homme, et d'élever sa capacité de travail; de préserver la santé et la vie et d'élever la productivité de tous les genres d'animaux domestiques et utiles, et de lutter pour augmenter les récoltes de toutes les plantes de culture.

Voilà pourquoi, pour la première fois dans la vie de l'humanité, des plans

sont mis en application en Union Soviétique pour la suppression complète des invasions par les helminthes.

The Principal Successes of Helminthology in the U.S.S.R.

Summary

The development and progress of helminthology, as a complex science partaking of the nature of biology, medicine and veterinary medicine, were not stimulated until after the Great October Revolution.

The first centres of helminthological research in medicine, veterinary medicine, biology and phytohelminthology were sent, some 300 specialized helminthologists began to be formed. Up to the present, some 300 specialized helminthological expeditions have been organized, and entrusted with the task of studying the helminthological fauna of man, domestic animals and wild animals, with discovering the breeding-grounds of the most pathogenic helminths, and with working out methods of combating helminthosis. The salient characteristic of the study and practice of helminthology in the U. S. S. R. is planning. All measures for combating helminthosis in man and animals are regulated by instructions and directions which are compulsory on the veterinary and medical services. The popularization of anti helminthological measures among the broad masses proceeds on a large scale. Monographs, manuals, popular treatises and public notices about helminthology are issued, and films made on helminthological subjects -- with the following results: --

1. The helminthic fauna of the population of the U. S. S. R., as well as of domestic animals, game and fish, have been studied in their fundamental aspects.
2. The cycles of development of numerous pathogenic helminths have been traced.
3. Methods of diagnosis of the living host and of effective treatment of the helminthosis in man and animals have been elaborated.
4. The theory of the extermination of helminths has been developed. It consists in total destruction of the helminths, at all stages of their biological cycle, by mechanical, physical, chemical and biological methods.

The Soviet Union considers that man should not resign himself to the permanent pollution of helminths in himself and in

the animals, but that he should proceed resolutely to such a transformation of nature as would leave to the world of helminths no biological possibility of existence. It is the theory of extermination which points out the road towards the future epoch of civilization: the helminthotic epoch.

We are marching boldly forward towards the goal of protecting the life and health of human beings, preserving the life and health of all species of domestic and useful animals, and raising their productivity in the economic field; and we are striving to increase the yield of all cultivated crops.

This explains why our country, for the first time in the history of human civilization, has undertaken the task of putting an end, by planned and radical methods, to the inroads of the helminths.

Die wichtigsten Erfolge der Helminthologie in U.S.S.R.

Zusammenfassung

Die Helminthologie, eine komplexe, biologisch, medizinisch und veterinärmedizinisch interessierte Wissenschaft, konnte sich erst nach der grossen Oktober-Revolution entwickeln und zu Erfolgen kommen.

Es wurden vorerst helminthologische Forschungsabteilungen im Dienste der Medizin, der Veterinärmedizin, der Biologie und der Phytohelminthologie geschaffen und in Helminthologie spezialisierte Aerzte ausgebildet. Bis heute sind ungefähr 300 helminthologische Spezialexpeditionen zum Studium der Würmer der menschlichen Bevölkerung, der Haustiere und der wildlebenden Tiere, zur Aufdeckung der gefährlichen Warmherde und zur Ausarbeitung von Methoden zur Bekämpfung des Wurmbefalles durchgeführt worden. Die Planmässigkeit ist für die helminthologische Forschung und Praxis in USSR charakteristisch. Alle Massnahmen zur Bekämpfung der menschlichen und tierischen Wurmkrankheiten sind an Hand von Direktiven und Instruktionen, die für den ärztlichen und tierärztlichen Dienst ver-

bindlich sind, genauestens geregelt.

Für die Verbreitung der antihelminthischen Massnahmen in weiter Bevölkerungsschichten wird in Grossen gesorgt. Es werden Monographien, Handbücher, populärwissenschaftliche Schriften, Plakate im Zusammenhang mit Helminthologie publiziert. Auch Filme über helminthologische Themen wurden gedreht. Folgende Resultate wurden erzielt:

1. Die Würmer der menschlichen Bevölkerung der CSSR, der Haustiere, der Jagd- und fischbaren Tiere wurden von Grund aus studiert.
2. Von vielen Parasiten sind die Entwicklungszyklen aufgedeckt worden.
3. Methoden zur Wurmdiagnose am lebenden Wirt und wirksame Wurmkuren für Mensch und Tier sind ausgearbeitet worden.
4. Die Theorie der totalen Vernichtung der Würmer, das heisst, die Zerstörung aller Stadien eines bestimmten Parasiten zugleich mit Hilfe von mechanischen, physikalischen, chemischen und biologischen Methoden wurde ausgearbeitet.

Die Sowjet-Union ist der Ansicht, dass die Menschheit sich nicht einfach mit der seit Jahrhunderten bestehenden Verwurmung von Mensch und Tier abfinden darf, sondern dass sie entschlossen daran gehen muss, die Umwelt der Würmer so zu modifizieren, dass die Parasiten sich nicht mehr entwickeln und vermehren können.

Die Theorie der vollständigen Vernichtung der Würmer zeigt uns den Weg zu einer zukünftigen Zivilisation ohne Parasiten.

Unsere Anstrengungen haben den Schutz der Gesundheit und des Lebens der Menschen, aller Haus- und Nutztierarten und die Steigerung ihrer Produktivität zum Nutzen der Wirtschaft zum Ziel. Der Kampf gilt auch den Bodenwürmern. Es sollen grössere Ernten aller Kulturpflanzen erzielt werden.

Unser Land hat sich als erstes in der Geschichte der menschlichen Zivilisation die Aufgabe gestellt, radikal und planmässig die Wurminvasionen zum Verschwinden zu bringen.

Page Denied

Next 940 Page(s) In Document Denied