

(Aus dem Institut für vet.-med. Parasitologie und Zoologie der Universität Berlin.  
Direktor: Prof. Dr. R. WETZEL.)

## EIN BEITRAG ZUR PHYSIOLOGIE UND ZUM WIRT-PARASIT- VERHÄLTNIS VON GRAPHIDIUM STRIGOSUM (TRICHOSTRON- GYLIDAE, NEMATODA).

Von

KARL ENIGK.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 12. Mai 1938.)

### Inhaltsübersicht.

A. Einleitung S. 386. — B. Allgemeine Bemerkungen über den Entwicklungs-  
kreis von *Graphidium strigosum* S. 387. — C. Physiologische Untersuchungen an  
den parasitischen Entwicklungsstufen von *Graphidium strigosum*. 1. Das Ab-  
streifen der Scheide bei der invasionsfähigen Larve S. 387. — 2. Versuche zur künst-  
lichen Haltung der dritten entschiedenen Larve S. 390. — 3. Versuche zur künst-  
lichen Haltung der vierten Larve und des geschlechtsreifen Tieres S. 392. — 4. Beob-  
achtungen über die Physiologie der Verdauung S. 394. — 5. Untersuchungen über  
die Exkretion S. 397. — D. Untersuchungen über das Wirt-Parasitverhältnis. 1. Ein-  
fluß des Alters des Wirtstieres auf das Angehen der Invasion S. 400. — 2. Einfluß  
des Eintrocknens der Larven auf das Angehen der Invasion S. 401. — 3. Einfluß  
des Futters auf das Angehen der Invasion S. 402. — 4. Einfluß eines Futterwechsels  
auf die bestehende Invasion S. 404. — 5. Untersuchungen über die Eiablage und  
die Lebensdauer von *Graphidium strigosum* S. 405. — 6. Die Nahrung von *Graphidium  
strigosum* im Wirtstiere S. 406. — 7. Einfluß der Invasion auf das Wirtstier S. 407. —  
a) Hämatologische Untersuchung S. 407. b) Serologische Untersuchung S. 408.  
c) Prüfung des Körpergewichtes S. 409. — 8. Beobachtungen über die Resistenz  
gegen Neuansteckungen S. 410. — E. Zusammenfassung S. 412. — Schrifttum S. 413.

### A. Einleitung.

Über die Physiologie der Helminthen ist noch wenig bekannt. Dies bezieht sich  
auf den Ablauf der Lebensvorgänge selbst wie auch auf die durch die Würmer  
bedingte Einwirkung auf das Wirtstier. Das Wissen um diese Wechselwirkungen  
zwischen Parasit und Wirt führt zum Verständnis der pathogenen Wirkung der  
einzelnen Wurmart, der Frage der Wirtsspezifität und der Resistenz. Darüber  
hinaus ist die Kenntnis der Lebensbedingungen der Helminthen im Wirt geeignet,  
die Grundlage für eine Bekämpfung durch Änderung der Umweltfaktoren zu er-  
reichen. Das Ziel erscheint besonders erstrebenswert bei Würmern, die mit den  
bisherigen zur Verfügung stehenden Wurmmitteln nicht gefaßt werden können.  
Hierhin gehören vor allem die im Labmagen und Dünndarm der Wiederkäuer para-  
sitierenden Trichostrongylien. In diesem Sinne nahm ich daher Versuche mit  
einem Trichostrongylien auf. Aus wirtschaftlichen Gründen benutzte ich den im  
Magen des Kaninchens lebenden Trichostrongylien *Graphidium strigosum* (DUJAR-  
DIN 1845). Die durchgeführten Untersuchungen beziehen sich einmal auf ver-  
schiedene physiologische Fragen bei den parasitischen Entwicklungsstufen sowie  
auf Fragen der Wechselbeziehungen zwischen Parasit und Wirt. Es ist nicht möglich,  
im Rahmen einer einzigen Arbeit die Vielheit der Probleme zu lösen. Es kam viel-  
mehr darauf an, diejenigen Punkte herauszufinden, die geeignet erscheinen, eine  
Grundlage für die notwendigen chemischen und chemisch-physikalischen Unter-  
suchungen zu schaffen.

## B. Allgemeine Bemerkungen über den Entwicklungskreis von *Graphidium strigosum*.

Die Entwicklung von *Graphidium strigosum* gleicht der bei den anderen Trichostrongyliden. Das dünnschalige Ei befindet sich zur Zeit der Ablage im fortgeschrittenen Morulastadium. Bei einer Temperatur von 20° C entwickelt sich in 20—24 Stunden ein Embryo, der nach weiteren 8—10 Stunden schlüpft. Die postembryonale Entwicklung zeigt die bei den Trichostrongyliden üblichen 5 Stufen, die durch je eine Häutung voneinander getrennt sind. Die erste Häutung findet bei 20° C nach 24—30 Stunden, die zweite Häutung 2—3 Tage später statt. Die zweite Larvenhaut wird aber nicht abgestreift; sie umgibt die Larve als Scheide und ermöglicht es ihr, schädigenden Einflüssen weitgehend zu widerstehen. Nach der Aufnahme durch den Wirt verläßt die Larve ihre Scheide. Die dritte Larve geht damit zum parasitischen Leben über. Die dritte Häutung findet am 3.—4. Tage nach der Aufnahme, die vierte Häutung am 8.—9. Tage statt. Die Präpatentperiode dauert 12 Tage (WETZEL und ENIGK, 1937).

## C. Physiologische Untersuchungen an den parasitischen Entwicklungsstufen von *Graphidium strigosum*.

### 1. Das Abwerfen der Scheide bei der invasionsfähigen Larve.

Die per os aufgenommenen dritten Larven streifen im Magen des Wirtstieres innerhalb 12—15 Stunden die zweite Haut ab, die als Scheide in der Außenwelt zum Schutze diente. Es soll untersucht werden, welche Faktoren das Abwerfen der Scheide bewirken.

*Schrifttum.* Von der Annahme ausgehend, daß das Entscheiden der Strongylidenlarven durch Verdauungssäfte des Wirtstieres bewirkt wird, untersuchten bereits LEICHTENSTERN (1898) und LAMBINET (1902) die Einwirkung des menschlichen Magensaftes auf die dritte Larve von *Ancylostoma duodenale*. Sie konnten darin aber kein Enthäuten erreichen. VEGLIA (1915) beobachtete in der Spülflüssigkeit aus der Mundhöhle eines Schafes entschiedene Larven von *Haemonchus contortus* und schließt hieraus, daß bereits die Speichelinwirkung den Vorgang auslöst. MÖNNIG (1926) konnte in schwacher Salzsäurelösung ein Enthäuten von Trichostrongylidenlarven erreichen. In 5%iger Sodalösung stellte WETZEL (1929) ein Entscheiden von Pferdestrongylidenlarven fest. LAPAGE (1933), (1935 a und b) untersuchte den Vorgang bei Larven von *Haemonchus*-, *Ostertagia*- und *Trichostrongylus*arten in zahlreichen Lösungen. Er kam zu dem Ergebnis, daß das Entscheiden am schnellsten vor sich geht, wenn die Larven in schwache Salzsäurelösung und anschließend in schwache NatronlaugeLösung gebracht werden. Jede Lösung für sich vermag den Vorgang nicht auszulösen. Fermente spielen nach LAPAGE keine Rolle.

*Eigene Untersuchungen.* Bei den entschiedenen Larven von *Graphidium strigosum* wurde festgestellt, daß bei einer Temperatur von 39° C in Wasser oder in physiologischer Kochsalzlösung in den ersten 3 Tagen nur ganz vereinzelt ein Entscheiden zu beobachten ist, obwohl die Larven bei der höheren Temperatur lebhaft bohrende Bewegungen in der Scheide ausführen. Die Körpertemperatur allein vermag also das Enthäuten

nicht auszulösen. Dagegen ist in niedrig prozentigen Säuren und Laugen bereits nach 12—24 Stunden ein Entscheiden zu beobachten. Die Zahl der entschiedenen Larven ist bei gleicher Konzentration abhängig von der Art der angewandten Säure bzw. Lauge. Von den Säuren ist am wirksamsten die Salzsäure; weniger wirksam sind zweiwertige Säuren, wie die Schwefelsäure, und noch weniger dreiwertige Säuren, wie die Phosphorsäure, ferner auch organische Säuren, wie die Essigsäure. Durch Laugen wird ganz allgemein ein weit geringerer Prozentsatz zum Enthäuten gebracht als durch Säuren. Natron- und Kalilauge haben noch die beste Wirkung, während durch Barytlauge nur wenig Larven zum Entscheiden zu bringen sind. Die Beeinflussung der Scheide durch die Säuren und Laugen ist wahrscheinlich eine Quellungswirkung.

Die chemische Zusammensetzung der Scheide ist noch nicht bekannt. *Martin* (1913) nimmt an, sie bestehe aus Chitin, was *Goodey* (1922) verneint, da die Hüllen sich in Laugen auflösen. Die Cuticula geschlechtsreifer Nematoden (Ascariden) besteht nach *MAGATH* (1928), *MUELLER* (1927), *CHITWOOD* (1936) aus verschiedenen Eiweißstoffen, insbesondere Albuminen und Glykoproteinen. Es ist wahrscheinlich, daß auch die Cuticula der Larven aus gleichen oder ähnlichen Eiweißkörpern zusammengesetzt ist, die unter der Einwirkung von Säuren und Laugen quellen. Die Säuren und Laugen ordnen sich nach ihrem Quellungsvermögen nach der *MICHAELISS*chen Ionenreihe. Ihrem Quellungsvermögen parallel geht ihre Wirkung auf das Entscheiden der Larven. Die Quellung führt zu einer klebrigen Beschaffenheit der Hülle, was daran kenntlich wird, daß kleine Partikel an ihr haften bleiben. Bringt man z. B. invasionsfähige Larven in 0,2%ige Salzsäurelösung, der etwas gepulverte Tierkohle zugesetzt wurde, so sind bereits nach 5 Stunden die bescheideten Larven mit zahlreichen Kohlepartikelchen beladen. Gleichzeitig wird die Scheide durchlässig. Eine zugesetzte Farblösung dringt in den Zwischenraum zwischen Scheide und Larve ein. Beide Erscheinungen treten nicht auf, wenn die Larven in Wasser gehalten werden und sind in den einzelnen Säuren und Laugen bei gleicher Konzentration verschieden. Bei der Salzsäure sind sie am stärksten ausgeprägt. Die Wirksamkeit der einzelnen Säuren und Laugen auf das Entscheiden innerhalb bestimmter Zeitabschnitte ist aus der Tabelle 1 zu ersehen.

Tabelle 1.

0,2%ige Lösung von	Von den Larven sind entschieden nach				
	15 Std. %	24 Std. %	36 Std. %	48 Std. %	72 Std. %
Salzsäure . . . . .	30	50	80	90	95
Schwefelsäure . . . . .	5	20	25	30	30
Phosphorsäure . . . . .	0	3	3	3	3
Essigsäure . . . . .	3	10	15	15	25
Kaliumhydroxyd . . . . .	0	5	15	25	40
Natriumhydroxyd . . . . .	0	5	15	25	40
Bariumhydroxyd . . . . .	0	0	2	5	5

Eine Beschleunigung erfährt das Entscheiden in den sauren Lösungen durch Zusatz von Pepsin. In einer 0,2%igen Salzsäurelösung, der 0,5% Pepsin zugefügt wurde, sind nach 15 Stunden bereits 60%, nach 24 Stunden 90% der Larven entscheidet. Ein Zusatz von Labferment oder Pankreatin vermag in alkalischen wie auch sauren Lösungen den Vorgang nicht zu beschleunigen.

Zu der Säure- und Fermentwirkung kommt noch ein dritter Faktor: die aktive Tätigkeit der Larven. Deutlich wird dies, wenn man Larven aus einer wenigstens 6 Monate alten Kultur in eine 0,2%ige Salzsäure und 0,5% Pepsin enthaltende Flüssigkeit bringt. Hier enthäuten sich innerhalb 24 Stunden nur 40% der Larven im Vergleich zu denen, die aus einer nur 14 Tage alten Kultur stammen. Ein ähnliches Ergebnis erhält man, wenn die Larven 2 Tage unter Sauerstoffabschluß gehalten werden. Diese Larven sind bereits so stark geschädigt, daß sie zum Teil nicht mehr imstande sind, die durch Salzsäurepepsin angedaute Scheide zu durchstoßen. Die bohrenden Bewegungen der Larve in der Scheide sind besonders lebhaft bei Salzsäureeinwirkung, so daß man einen spezifischen Einfluß der Salzsäure annehmen möchte. In 0,2%iger Salzsäure vermögen auch die entschiedenen Larven viele Tage zu leben, während sie in gleichprozentiger Schwefelsäure und den anderen genannten Säuren sowie in den Laugen in spätestens 2—3 Tagen zugrunde gehen. Es ist anzunehmen, daß auch die noch in der Scheide befindlichen Larven durch letztere geschädigt werden. Einen spezifisch anregenden Einfluß der Salzsäure nehmen auch MÖNNIG (1927) und LAPAGE (1935) bei anderen Trichostrongylidenlarven an. Aber nicht auf alle Strongylidenlarven übt die Salzsäure diese Wirkung aus. So ist bei invasionsfähigen Larven der Pferdestrongyliden ein solcher Einfluß nicht vorhanden. Auch ist die Quellungswirkung der Salzsäure auf die Scheide durch Zusatz von Tierkohle kaum darzustellen. Die Larven der Pferdestrongyliden sterben in 0,2%iger Salzsäurelösung nach 30—48 Stunden ab, ohne sich zu entscheiden. Dagegen sind diese Larven in einer 0,2%igen Natronlaugelösung tagelang sehr beweglich. Hier ist auch das Ankleben von Kohlepartikelchen nach wenigen Stunden zu beobachten. Wahrscheinlich ist dieses verschiedene Verhalten durch eine andere chemische Zusammensetzung der Scheide erklärlich. Auch die unterschiedliche Resistenz der beschiedenen Larven gegen äußere Einflüsse deutet auf eine verschiedene Zusammensetzung der Hülle hin. So sind die Larven von *Graphidium strigosum* gegen Eintrocknung weit empfindlicher als die Pferdestrongylidenlarven (ENIGK 1934, WETZEL und ENIGK 1937). Der Fermenteinfluß ist bei diesen Larven noch deutlicher als bei den *Graphidium*-Larven; denn in der Natronlaugelösung kommt es erst nach Zusatz von Pankreatin zum Entscheiden, und zwar sind nach 24 Stunden 40%, nach 48 Stunden 90% entscheidet.

*Ergebnis.* Bei dem Entscheiden der invasionsfähigen Larven sind 3 Faktoren beteiligt: Säuren bzw. Laugen, Fermente und die aktive

Tätigkeit der Larven. Die Wirksamkeit dieser Komponenten ist einerseits abhängig von der chemischen Zusammensetzung der Scheide, andererseits von dem spezifischen Einfluß der Säuren bzw. Laugen auf die Larven, worin die Anpassung an die Entwicklung im Wirtstiere zu erkennen ist. Die Larven von *Graphidium strigosum* siedeln sich bereits im Magen an, während die Pferdestrongylidenlarven erst im Dickdarm in die Schleimhaut eindringen.

## 2. Versuche zur künstlichen Haltung der dritten entschiedenen Larve.

Nach dem Entscheiden dringt die dritte Larve von *Graphidium strigosum* im Wirtstier in die Krypten der Fundusdrüsen Schleimhaut ein und unterzieht sich hier am 3.—4. Tage nach der Invasion der dritten Häutung. Ich stellte mir die Aufgabe zu untersuchen, wieweit diese Entwicklungsstufe in künstlichen Kulturen gehalten werden kann, und unter welchen Bedingungen die dritte Häutung vor sich geht.

*Schrifttum.* VEGLIA (1915) kultivierte das erste parasitische Stadium von *Haemonchus contortus* mehrere Wochen, ohne allerdings die dritte Häutung auslösen zu können. LAPAGE (1933) prüfte das Verhalten von Trichostrongylidenlarven der Wiederkäuer in zahlreichen Kulturmedien. Von einer großen Anzahl Larven hatten sich 10 der dritten Häutung unterzogen, die aber sämtlich tot waren, als sie aufgefunden wurden. LAPAGE (1933) nimmt selbst an, daß es Zufallsbefunde waren. Planmäßig konnte er die Häutung nicht hervorrufen.

*Eigene Untersuchungen.* Als Kulturflüssigkeit wurde zunächst physiologische Kochsalzlösung benutzt, der verschiedene Kohlehydrate (Traubenzucker, Rohrzucker, Reis- und Kartoffelstärke) und Eiweißstoffe (Albumin, Fibrin, Pepton in Konzentrationen von 0,5—3%) zugesetzt wurden. Das Kultivieren wurde in kleinen Petrischalen bei 39° C vorgenommen, und zwar zum Teil unter Sauerstoffzutritt, zum Teil bei sehr niedriger Sauerstoffspannung im Anaerobentopf nach ZEISSLER. Ein steriles Kultivieren ist leider nicht möglich. Die aus Kotkulturen angereicherten Larven können einer Desinfektionslösung nicht lange ausgesetzt werden, ohne nicht selbst Schaden zu leiden. In der Salzsäure-Pepsinlösung, in der die Larven zum Entscheiden gebracht werden, wird zwar das Bakterienwachstum zum größten Teil unterdrückt. Fadenpilze dagegen, so das immer vorhandene *Oidium lactis*, vermehren sich bei den anzuwendenden Säuregraden. Um das Bakterienwachstum in den Kulturen hintanzuhalten, ist es notwendig, die Kulturflüssigkeit möglichst oft zu erneuern. Dies geschah durch Abpipettieren der überstehenden und Zugießen neuer Flüssigkeit, was alle 12 Stunden vorgenommen wurde. Ein Kulturgefäß, wie es COUTELEN (1927) beim Züchten von Echinokokkenblasen verwandte, das eine vollständige Erneuerung der Kulturflüssigkeit gestattet, ist nicht brauchbar, da die Larven auch durch feine Gewebe als Trennungsmembran restlos hindurchgehen. Das gleiche gilt für die in der Botanik gebräuchlichen, zum Teil recht komplizierten Apparate, die einen ständigen Wechsel der Kulturflüssigkeit

gestatten (ZINZEDZE 1935, MEHRLICH 1935, LINDBERGH 1935, MARSH 1936). Die  $p_H$ -Bestimmung der Kulturflüssigkeiten erfolgte mit Farbindikatoren nach der Tröpfchenmethode von FELTON (1921), die OOMEN (1926) verbesserte. Zur Kontrolle dienten Pufferlösungen von bekanntem  $p_H$ . Der  $p_H$ -Gehalt der Kulturflüssigkeit wurde durch Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Salzsäure oder Natronlauge geändert. Hierbei ergab sich, daß die Larven bei einem  $p_H$  von 8,0 und höher in 24 Stunden oder wenig später verendeten. Dagegen vertrugen sie eine saure Reaktion gut. Bei einem  $p_H$  von 1,0 waren die Larven sogar sehr lebhaft, doch starben sie hier nach 2 Tagen. Am günstigsten für die Lebensdauer der Larven war ein  $p_H$  von 3,0—4,0.

Während bei einem Teil der Larven eine Weiterentwicklung überhaupt nicht festzustellen war, konnte man bei anderen beobachten, daß die alternierend angeordneten Darmzellen zu einem Darmrohr sich gliederten. Bei einzelnen Larven kam es zu einer geringgradigen Nahrungsaufnahme. In Kulturen, denen Lackmuslösung zugesetzt war, wurde einige Male eine geringe Aufnahme von Farbstoff beobachtet, dabei anzeigend, daß eine saure Reaktion im Mitteldarm der Larve herrscht. Bei der Mehrzahl der Larven kam aber keine Nahrungsaufnahme zustande. Im Wirtstier nimmt die dritte Larve viel Nahrung zu sich, sobald sie an die Schleimhaut gelangt ist. Bei Larven, die einem Kaninchen 2 Tage vor dem Töten verabreicht worden waren, wurde im Darmkanal eine farblose, amorphe Masse beobachtet, in der sich einzelne Granula befanden. Sehr wahrscheinlich ist es Mucus und Magensaft. Da in den Kulturen fast keine Nahrungsaufnahme erfolgte, war die Lebensdauer in Kohlehydrat- und eiweißhaltigen Flüssigkeiten nicht länger als in einer 0,2%igen Salzsäurelösung. Bei ständigem Wechsel des Kulturmediums konnten die Larven bis 5 Wochen lebend gehalten werden. Unter anaeroben Bedingungen gingen die Larven bereits nach 1 Woche zugrunde. Als Nahrung dienten ihnen die in den Mitteldarmzellen aufgespeicherten Reservestoffe. Wie die Glykogenfärbung nach BAUER (1933) bewies, waren bei Larven, die bereits längere Zeit sich in der Salzsäurelösung befanden, nur noch Spuren von Glykogen in den Mitteldarmzellen vorhanden. Dagegen waren Fettsubstanzen auf Grund der Fettfärbung nach GOODEY (1930) noch in unverminderter Menge anwesend. GIOVANNOLA (1936) betrachtet das Fett als Reservestoff. Vielleicht ist es aber ein nicht weiter verwertbares Abbauprodukt, da die Larven doch wohl schon einen anoxybiotischen Stoffwechsel haben, wie weiter unten noch ausgeführt wird. Die Larven gingen schließlich zugrunde, ohne sich weiter zu entwickeln.

In weiteren Versuchen wurde den Kulturen eine Agargrundlage gegeben. Ferner wurde der Kulturflüssigkeit Gelatine oder Leinsamenschleim beigemischt, um die Beweglichkeit der Larven herabzumindern, in der Absicht, daß dadurch die dritte Häutung ausgelöst werden könnte. Diese kam aber nicht zustande. Auch der Zusatz von Fermenten (Pepsin,

Lab, Pankreatin) hatte keinen Einfluß auf die Weiterentwicklung. Die reguläre Futteraufnahme und die dritte Häutung sind demnach wohl von spezifischen Faktoren abhängig. Der Zusatz einiger Tropfen frischen Kaninchenblutes, Kaninchenserums oder -fibrins sowie ausgewaschener roter Blutkörperchen vermochte nicht die Häutung auszulösen. Bei einem Zusatz von 20—50% Kaninchenserum gingen die Larven in 1—2 Tagen zugrunde. Ich plante deshalb, Magensaft vom Kaninchen den Kulturen zuzusetzen. Hierzu wurde der sog. kleine Magen angelegt, ausgeführt nach der Methode von BICKEL. Die 4 auf diese Weise operierten Kaninchen gingen leider innerhalb 24 Stunden nach der Operation ein. Das Kaninchen ist für diese Operationen ein ungünstiges Objekt. Beim Kaninchen wird physiologisch der Magen niemals leer. Bei der Ausführung der Operation ist es aber nicht zu umgehen, den vorhandenen Mageninhalt zu entfernen. Ferner ist es schwer, das Kaninchen nach Ausführung der Operation so zu fixieren, daß die Gummikanüle frei hängen bleibt. Zu dieser Operation ist eine andere Tierart zu wählen. Wenn es gelingt, durch Zusatz von Magensaft in Kulturen die dritte Häutung auszulösen, vermag man in weiteren Versuchen festzustellen, ob Fermente oder andere Substanzen die wirksamen Faktoren sind. Man wird dann auch einen Einblick gewinnen, worin die Wirtsspezifität besteht.

*Ergebnis.* Es ist bisher nicht gelungen, in künstlichen Kulturen die natürlichen Bedingungen für die dritte entscheidete Larve zu schaffen.

### 3. Versuche zur künstlichen Haltung der vierten Larve und des geschlechtsreifen Tieres.

Die nach der dritten Häutung sich entwickelnde vierte Larve unterzieht sich im Magen des Wirtstieres am 8. und 9. Tage der letzten Häutung, aus der die fünfte Stufe entsteht, die innerhalb 4—5 Tagen geschlechtsreif wird. Um Untersuchungen an lebenden vierten Larven und geschlechtsreifen Tieren durchführen zu können, wurde zunächst versucht, sie in Kulturen zu halten.

*Schrifttum.* Kulturversuche mit Rundwürmern, die im Darm von Warmblütern parasitieren, wurden bisher fast nur mit Ascariden durchgeführt (BUNGE 1883, 1890, WEINLAND 1904, FLURY 1912, HALL 1917, FISCHER 1924, MEIER 1931, ADAM 1932, HARNISCH 1933, HOFFMANN 1934, WAECHTER 1934, KRÜGER 1936). Diese Versuche dienten aber weniger dem Zweck, eine optimale Kulturmethode zu ermitteln, sondern man hielt die Tiere nur einige Tage in physiologischen Lösungen, um Stoffwechselbeobachtungen anstellen zu können. Mit Trichostrongyliden hat DAVEY (nach LAFAGE 1937) Kulturversuche vorgenommen. Die Arbeit ist noch nicht veröffentlicht.

*Eigene Untersuchungen.* Die Würmer wurden in physiologischen Lösungen in kleinen PETRI-Schalen gehalten, denen Kohlehydrate und Eiweißstoffe in verschiedenen Konzentrationen zugesetzt wurden. Es ergab sich hierbei, daß von den Kohlehydraten Traubenzucker am meisten die Lebensdauer begünstigt. Deshalb wurde den Kulturlösungen stets

2,5% Traubenzucker zugesetzt. Weiterhin war durch einen Zusatz von Albumin in einer Konzentration von 0,5—2,0% ein besseres Gedeihen zu beobachten. Auch Kaninchenserum in derselben Konzentration hatte die gleiche Wirkung. Ein Serumgehalt von 5% und höher schädigte aber die Würmer. Als günstigste Wasserstoffionenkonzentration wurde ein  $p_H$  von 4,0—5,5 ermittelt. Innerhalb dieser recht weiten Spanne wurde kein unterschiedlicher Einfluß bemerkt. Bei höherer oder niedrigerer Wasserstoffionenkonzentration waren die Würmer anfangs lebhafter beweglich, gingen aber in wenigen Tagen zugrunde. Einen mäßigen Wechsel des osmotischen Druckes vertragen die Tiere recht gut. In 10%iger Traubenzuckerlösung werden die Tiere innerhalb von 2 Stunden unbeweglich, wobei sie durch starke Kontraktion etwa um  $\frac{1}{4}$  der Körperlänge kürzer werden. Bringt man sie innerhalb 8 Stunden in eine 2,5%ige Traubenzuckerlösung zurück, werden sie wieder lebhaft beweglich. Nach den Untersuchungen von SCHOPFER (1931, 1933) sind alle parasitischen Nematoden poikilomotisch.

Ein häufiger Wechsel der Kulturflüssigkeit ist notwendig, da die Stoffwechselprodukte der Würmer schädigend wirken. Hinzu kommt, daß stets Bakterien vorhanden sind, die aus dem Darm der Würmer stammen und sich in der Kulturflüssigkeit vermehren. Die Würmer wurden deshalb alle 12 Stunden, in einem Teil der Versuche alle 8 Stunden umgesetzt. Bei Sauerstoffzutritt gelang es mir, auf diese Weise *Graphidium strigosum* 18—21 Tage lang in Kultur zu halten. Etwa die Hälfte der Würmer ging aber schon nach 6—8 Tagen zugrunde. Bei den vierten Larven ging die letzte Häutung nicht vor sich.

Die Kultivierung wurde auch bei sehr niedriger Sauerstoffspannung im Anaerobentopf nach ZEISSLER durchgeführt. Die Tiere wurden hier innerhalb eines Tages unbeweglich und starben spätestens nach 4 Tagen. Hieraus ist nicht zu schließen, daß *Graphidium* den Sauerstoff benötigt. Die Haltung in einem stark luftverdünnten Raume ist für die Würmer sicher schädlich. Die anaerobe Kultivierung der Helminthen ist durch Ersetzen der sauerstoffhaltigen Luft mit einer sauerstofffreien Wasserstoff- oder Stickstoffatmosphäre vorzunehmen. Auf Grund der Erfahrungen mit anderen parasitologisch lebenden Rundwürmern ist anzunehmen, daß auch *Graphidium* und alle anderen Trichostrongyriden anoxybiotisch leben, d. h. daß sie die Fähigkeit besitzen, bei Sauerstoffabschluß, aber auch bei Zutritt von Sauerstoff leben zu können (ALT und TISCHER 1931, v. BRAND 1934, HARNISCH 1935, KRÜGER 1936). Auch andere Helminthen leben anoxybiotisch, wie bei *Fasciola hepatica* durch WEINLAND und v. BRAND (1926), v. BRAND und WEISE (1932), HARNISCH (1932), VOGEL und v. BRAND (1933) und bei *Moniezia expansa* durch v. BRAND (1933) festgestellt wurde. Wie schwierig aber diese Frage zu entscheiden ist, zeigt, daß auch in neuerer Zeit einige Forscher zu dem



Ergebnis kommen, daß Sauerstoff für die Helminthen lebensnotwendig ist (SLATER 1925, MUELLER 1928, 1929; ADAM 1932).

Wenngleich die Helminthen die Fähigkeit besitzen, auch bei einer höheren Sauerstoffspannung leben zu können, als sie im Darm herrscht, und deshalb die künstliche Haltung bei Sauerstoffzutritt vielleicht keine entscheidende Rolle spielt, so muß aber doch festgestellt werden, daß bei der oben aufgeführten Kulturmethode die normalen Lebensbedingungen nicht gegeben sind, sonst müßte eine Kultivierung über einen längeren Zeitraum hin möglich sein. Die physiologischen Beobachtungen an den Tieren in der Kultur sind deshalb mit Vorbehalt zu behandeln und durch Beobachtungen an Wurmern aus dem Wirtstier zu ergänzen.

*Ergebnis.* Die vierten Larven und die geschlechtsreifen Tiere konnten 18—21 Tage in künstlichen Kulturen gehalten werden. Jedoch konnte bei den vierten Larven die letzte Häutung nicht beobachtet werden.

#### 4. Beobachtungen über die Physiologie der Verdauung.

Über den Ablauf der Verdauung bei parasitischen Nematoden liegen morphologische Untersuchungen vor, die fast ausschließlich an Spulwürmern durchgeführt wurden (v. KEMNITZ 1912, MUELLER 1929, hier Angabe des weiteren Schrifttums). Chemische Untersuchungen wurden nur zur Feststellung der Stoffwechsellprodukte durchgeführt, die wiederum bei Spulwürmern vorgenommen wurden (BUNGE 1883, 1890; WEINLAND 1901—1904, FLURY 1912, FISCHER 1924, ADAM 1932, HARNISCH 1933 und 1935, KRÜGER 1936). In meinen Versuchen mußte ich mich als Nichtchemiker ebenfalls auf morphologische Beobachtungen beschränken. Wenngleich dies eine weniger exakte Methode ist, so ist doch zu bedenken, daß bei der Kleinheit der Trichostrongyriden eine chemische Erfassung des Stoffwechsels noch größeren Schwierigkeiten begegnet, als dies bereits bei Ascariden der Fall ist. Weiterhin bedeuten hier die durch die Darmbakterien geschaffenen Produkte eine größere Fehlerquelle. Die geringe Größe und Durchsichtigkeit der Würmer hat andererseits den Vorteil, daß man am lebenden Tier mikroskopische Beobachtungen machen kann, die an größeren Wurmern nicht möglich sind.

##### a) Die Reaktion des Darmkanales.

*Schrifttum.* Über die Reaktion des Darminhaltes parasitischer Nematoden liegen bisher keine Angaben vor. Für den freilebenden Rundwurm *Chromadora baltica* gibt SCHNEIDER (1906) an, daß im Mitteldarm saure Reaktion herrsche. Dies wird von RAUTHER (1907) bestätigt. Von nahe verwandten Tiergruppen hat NIRENSTEIN (1920) den Oligochaeten *Chaetogaster diaphanus* untersucht. Er konnte durch Verfütterung von mit Kongorot getränktem Fließpapier im Darminhalt saure Reaktion nachweisen.

*Eigene Untersuchungen.* In den einzelnen Versuchen setzte ich der Kulturflüssigkeit Farbindikatoren zu. Als Kulturmedium wurde nur eine 2,5%ige Traubenzuckerlösung bei einem  $p_H$  von 7,0 benutzt, um das Auftreten von Salz- und Eiweißfehlern möglichst zu vermeiden (MICHAELIS

1932, THIEL und COCH 1934, THIEL und SCHULZ 1934). Von den Indikatoren mußte eine recht hohe Konzentration zugesetzt werden, da sonst eine deutliche Färbung des Darminhaltes nicht zustande kam. Bis zu 20 Tropfen des Indikators wurden auf 15 ccm Kulturflüssigkeit gegeben. Die Würmer lebten allerdings nicht länger als 4—5 Tage in diesen Lösungen. Doch wurde in dieser Zeit meistens das Ziel erreicht. Eine Resorption der Indikatoren wurde nicht beobachtet, wenn man von dem basischen Vitalfarbstoff Neutralrot absieht.

Im Oesophaguslumen ist mit Ausnahme des Bulbus oft kein Inhalt vorhanden, so daß die Feststellung der Reaktion nur bei einer kleinen Anzahl von Tieren gemacht werden konnte. Mit Ausnahme des Bulbus-teiles glich die Reaktion der in der Kulturflüssigkeit vorhandenen. Im Lumen des Bulbus war die Reaktion der des Mitteldarmes ähnlich, wohl durch Regurgitieren von Darminhalt. Im Anfang des Mitteldarmes war der Darminhalt meist deutlich gefärbt. Mit Beginn des zweiten Viertels nahm die Intensität der Färbung stark ab. Eine Färbung des gesamten Mittel- und Enddarmes gelang nur mit Lackmus. In der Tabelle 2 ist der Farbausschlag der einzelnen Indikatoren im Mitteldarm angegeben.

Tabelle 2.

Farbindikator	Farbausschlag	Anzeigend einen pH von
Lackmus	rot	niedriger als 7,0
Thymolblau	gelb	höher als 2,8
Bromphenolblau	violett	höher als 4,6
Bromkresolgrün	grün bis grau	4,4—4,8
Methylrot	rot bis orange	4,4—5,0
Bromkresolpurpur	gelb	niedriger als 5,1
Bromthymolblau	gelb	niedriger als 6,0
Phenolrot	gelb	niedriger als 6,7
Kresolrot	gelb	niedriger als 7,1

*Ergebnis.* Am Beginn des Mitteldarmes ist ein  $p_H$  von 4,4—4,8 vorhanden. Es gelang nicht, mit Bromphenolblau, Bromkresolgrün und Methylrot eine Färbung im weiteren Ver-

lauf des Mitteldarmes zu erreichen. Wahrscheinlich werden die Farbstoffe schnell zerlegt. Auf Grund des Verhaltens von Lackmus kann deshalb nur geschlossen werden, daß im weiteren Verlauf des Mitteldarmes und im Enddarm ein  $p_H$  von unter 7,0 vorhanden ist.

*b) Untersuchungen über den Fermentgehalt des Darminhaltes.*

*Schrifttum.* Durch chemische Untersuchungen stellte KOBERT (1903) in verschiedenen Auszügen des Körpergewebes von Hundespulwürmern eine Amylase und eine Zymase fest, außerdem noch die Glykoside Salicin und Helicin spaltende Fermente. CHITWOOD (1938) ermittelte im Oesophagus des Schweinespulwurmes ein proteolytisches Ferment. BONDOUY (1910) stellte in der Leibessubstanz von *Strongylus equinus* eine Lipase fest. An lebenden Hakenwürmern beobachteten YAMADA und INOUGE (1934), daß das Wirtsgewebe verdaut wird, bevor es zum Enddarm des Wurmes gelangt. Nur rote Blutkörperchen werden nicht verdaut, eine Beobachtung, die schon WELLS (1931) machte. Durch die morphologischen Untersuchungen der Anheftungsstellen verschiedener parasitischer Rundwürmer ist das Vorhandensein proteolytischer Fermente wahrscheinlich gemacht (HOEPLI

1927, WETZEL 1928, 1930; SCHUURMANS STEKHOVEN 1932, LAPAGE 1937, hier weiteres Schrifttum).

*Eigene Untersuchungen.* Zur Feststellung proteolytischer Fermente wurde der Kulturflüssigkeit mit Carmin gefärbtes Fibrin, aus Kaninchenblut gewonnen, zugesetzt. Während im Anfangsteil des Mitteldarmes gefärbte Fibrinflocken verschiedener Größe zu sehen waren, waren im Endteil stets nur feine Carminstäubchen zu beobachten. Aus diesem Befund wird geschlossen, daß das Fibrin aufgelöst worden ist, und daß demnach ein proteolytisches Ferment im Darmkanal von *Graphidium strigosum* vorhanden ist.

Um das Vorhandensein kohlehydratspaltender Fermente festzustellen, wurde den Kulturen Stärke zugegeben, da hier mikroskopisch eine Verdauung der Partikel beobachtet werden kann. Es mußte hierzu Reisstärke genommen werden, da bei Kartoffel- und Maisstärke wegen der Größe der Stärkekörnchen eine Aufnahme nicht möglich ist. Die Reisstärke wurde geschlemmt, um nur ganze Stärkekörnchen den Kulturen zuzusetzen. Die Stärkesuspension wurde 10%ig angesetzt, und zwar zu jedem Versuch stets frisch. Von dieser Suspension wurden der Kulturflüssigkeit einige Tropfen zugesetzt. Beim Zufügen roher Stärke wurde beobachtet, daß die Stärkekörnchen den Darm unverändert passierten, um sich im Endteil des Mitteldarmes anzuhäufen. In weiteren Versuchen wurde Reisstärke verwendet, die 30 Min. bei 60° gehalten worden war. Diese gequollenen Stärkekörnchen wurden teilweise im Darmkanal aufgelöst. Man konnte Stärkepartikelchen von verschiedener Größe beobachten. Im Endteil des Mitteldarmes sammelten sich nur einzelne verschieden große Körnchen an. Nach diesem Befund ist zu schließen, daß *Graphidium strigosum* rohe Stärke nicht zu verdauen vermag. Wird durch höhere Temperaturen die Hüllsubstanz zerstört, dann werden die Stärkekörnchen teilweise verdaut.

Zum Nachweis einer Lipase wurde zuerst Milch als Kulturmedium benutzt, die mit einigen Tropfen Nilblausulfat versetzt war. Die Magenswürmer gingen in diesen Kulturen innerhalb 24 Stunden ein, ebenso bei Zusatz anderer Fette zu der Kulturflüssigkeit, so daß eine Untersuchung auf fettspaltende Fermente nicht vorgenommen werden konnte. — Weiteren Untersuchungen bleibt vorbehalten, wo die Fermente gebildet werden. Auf Grund der Beobachtungen an Anheftungsstellen wird allgemein angenommen, daß die Oesophagusdrüsen ein proteolytisches Ferment sezernieren. Nach SCHUURMANS STEKHOVEN (1932) werden bei den Ascariden auch im Mitteldarm Fermente gebildet.

*Ergebnis.* Im Mitteldarm von *Graphidium strigosum* ist eine Protease und eine Amylase vorhanden.

### c) Die Resorption des Darminhaltes.

*Schrifttum.* Über die Art der Aufnahme der Nahrungsstoffe in die Mitteldarmzellen liegen morphologische Untersuchungen vor (v. KEMNITZ 1912, QUACK 1913,

MARTINI 1916, HETHERINGTON 1923, CHITWOOD 1931). An Hand von Serienschnitten wurde hier versucht, die physiologischen Vorgänge der Resorption zu erkennen.

*Eigene Untersuchungen.* Ich stellte mir die Aufgabe, am lebenden Tier zu beobachten, in welchem Darmabschnitt die Aufnahme der Nahrung vor sich geht. Zu diesem Zwecke wurde den Kulturen gepulverte Holz- und Tierkohle zugesetzt. Die Aufnahme von Kohlepartikelchen war aber nicht stark genug, um die Resorption beobachten zu können. Es wurde deshalb versucht, Magenwürmer im Wirtstiere mit Kohle zu füttern. Zu diesem Zwecke wurde einem mit *Graphidium* befallenen Kaninchen täglich 4mal je 15 ccm einer dicken Kohleaufschwemmung verabreicht. Nachdem dies 10 Tage lang durchgeführt worden war, wurde das Kaninchen getötet. Bei den Magenwürmern konnte eine Aufnahme von Kohle festgestellt werden. In zwei weiteren Tierversuchen wurde der gleiche Befund erhoben. Die Oesophaguswand enthielt mit Ausnahme des Drüsenteiles keine Kohlepartikelchen. Auch die ersten vier Zellen des Mitteldarmes hatten Kohle nicht aufgenommen. In dem folgenden Abschnitt des Mitteldarmes bis zum Übergang des zweiten bis dritten Fünftels waren nur wenig Kohlepartikel in den Darmzellen zu finden. Sie lagen direkt unter dem Stäbchensaum. In dem dann folgenden Darmteil hatten die Mitteldarmzellen ein grauschwarzes Aussehen. In dem letzten Fünftel des Mitteldarmes war wiederum nur wenig Kohle aufgenommen worden. Das gleiche Ergebnis wurde erzielt bei Verabreichung von Trypanblau an ein Kaninchen. Wenngleich der von den Darmzellen aufgenommene Farbstoff schnell zerlegt wird, so zeigt doch das graublaue Aussehen und die starke Granula- und Vakuolenbildung in dem mittleren Teil des Mitteldarmes, daß hier der saure Farbstoff resorbiert worden ist.

*Ergebnis.* Im Oesophagus findet keine Resorption statt. Dies ist schon anatomisch nicht möglich, denn die Oesophaguswand ist mit Cuticula ausgekleidet. Am Beginn des Mitteldarmes findet keine Resorption fester Partikel statt. Die ersten Mitteldarmzellen unterscheiden sich von den folgenden auch durch einen sehr hohen Stäbchensaum, der im weiteren Verlauf des Darmes flacher wird und im Endteil des Mitteldarmes ganz gering entwickelt ist. Während der anschließende Teil der Mitteldarmzellen nur wenig resorbiert, findet die Hauptresorption etwa vom dritten Fünftel bis zu Beginn des letzten Fünftels statt.

##### 5. Untersuchungen über die Exkretion.

*Schrifttum.* Die Abscheidung der Stoffwechselendprodukte wird verschiedenen Organen zugeschrieben. Die meisten Forscher sind der Ansicht, daß die Seitenkanäle die Exkretion übernehmen (GOLDSCHMIDT 1906, MARTINI 1916, hier weiteres Schrifttum). Den Ventraldrüsen wird eine exkretorische Funktion zugeschrieben von SCHUURMANS STEKHOVEN 1927, CHITWOOD 1931, EISMA 1932, RAVENS und STEKHOVEN 1934. RAUTHER (1907) und STEFANSKI (1922) nehmen an, daß die Exkretion durch die Oesophagusdrüsen vor sich geht. MUELLER (1929) glaubt auf

Grund von Versuchen mit toter Cuticula von Ascariden, daß die Haut die Exkretion übernimmt. Die Ansichten gründen sich meistens auf morphologische Untersuchungen. Auch die wenigen bisher vorliegenden experimentellen Untersuchungen haben noch keine Klarheit geschaffen. Ein einwandfreier Beweis für die exkretorische Funktion einer dieser Organe ist noch nicht geliefert worden (MUELLER 1929).

*Eigene Untersuchungen.* Um festzustellen, wo die Stoffwechselschlacken ausgeschieden werden, wandte ich mehrere Untersuchungsmethoden an. Zuerst benutzte ich Vitalfarbstoffe, die den Kulturflüssigkeiten zugesetzt wurden. Bei Anwendung basischer Vitalfarbstoffe (Neutralrot, Bismarckbraun, Nilblausulfat, Methylenblau) kam es innerhalb eines Tages zur Farbstoffablagerung in verschiedenen Organen. Diese Befunde können nicht für die Beurteilung der Exkretion verwertet werden, da die Aufnahme basischer Farbstoffe kein aktiver Vorgang ist (HÖBER 1926, v. MÖLLENDORF 1928, RIES und SCHÖZEL 1934). Dies sei hervorgehoben, da CHITWOOD (1930) eine exkretorische Funktion der Ventraldrüse annimmt, weil er durch Neutralrot eine Färbung bei diesen Drüsen erreichte. Um diese Frage zu entscheiden, dürfen nur saure Vitalfarbstoffe verwendet werden. Ich benutzte hierzu Pyrrolblau, Vitalneurot und Trypanblau. Da die Magenwürmer in den Kulturen nur geringe Mengen der Kulturflüssigkeit aufnehmen, mußte der Farbstoff in hohen Konzentrationen zugesetzt werden. Auf 15 ccm Kulturflüssigkeit wurden 10 Tropfen einer 0,5%igen wäßrigen Farblösung gegeben. Nach 2 Tagen wurden die Würmer in Traubenzuckerkulturen übergeführt, da sie sonst durch den Farbstoff stark geschädigt wurden. Auf diese Weise gelang es, eine deutliche Farbstoffaufnahme zu erzielen. Eine Resorption in die Darmzellen wurde bei keinem der sauren Vitalfarbstoffe beobachtet. Auch in anderen Organen wurde keine Farbstoffaufnahme festgestellt. Dagegen kam es vor sämtlichen Körperöffnungen zur Ablagerung ausgefallten Farbstoffes. Im Gegensatz zu diesem Ergebnis war bei Aufnahme von Trypanblau im Wirtstiere eine gewisse Resorption erreicht worden. Wenngleich in den Mitteldarmzellen der Farbstoff sehr bald zerlegt wurde, so daß die Darmzellen nur schwach bläulich gefärbt waren, so war doch eine deutliche Blaufärbung der Oesophagusdrüsen und gewisser Abschnitte der Geschlechtsorgane eingetreten. Ferner enthielten die Knospen der sog. büschelförmigen Organe zahlreiche goldgelbe Vakuolen, ein Zeichen, daß sie stark in Tätigkeit waren. Die Ventraldrüsen hatten keinen Farbstoff gespeichert und enthielten keine Sekretgranula. Sie waren als feines strukturloses Band kaum sichtbar. Bei diesen in Kultur gehaltenen Magenwürmern verschwand innerhalb 4—6 Tagen die bereits oben erwähnte Vakuolen- und Granulabildung in den Mitteldarmzellen, ebenso die Vakuolen in den büschelförmigen Organen. Dagegen blieb in den Oesophagusdrüsen und den Genitalorganen der Farbstoff bis zum Tode der Tiere liegen.

Weiterhin wurde bei den Würmern, die im Wirtstier Kohle resorbiert hatten, in Kulturen die Eliminierung der aufgenommenen Kohle-

partikelchen untersucht. Außer den Mitteldarmzellen hatten die Oesophagusdrüsen, die Ventraldrüsen, die büschelförmigen Organe und gewisse Teile der Geschlechtsorgane ein grauschwärzliches Aussehen angenommen. Eine Einlagerung sichtbarer Kohlepartikelchen wurde in diesen Organen aber nicht festgestellt. Bei der Haltung in Kulturen wurde bereits nach wenigen Stunden in den Ventraldrüsen ein fast völliger Schwund der Granula beobachtet. Mit ihnen war das grauschwarze Aussehen der Drüsen verschwunden. Auch in den büschelförmigen Organen wechselte der schwarze Farbton innerhalb von 2 Tagen in einen grauen über. Dagegen blieb in den Oesophagusdrüsen und den Geschlechtsorganen das dunkle Aussehen bestehen bis zu dem nach 8—14 Tagen erfolgten Tode des Tieres.

Ferner wurde versucht, durch parenterale Einverleibung von Farbstoffen Anhaltspunkte für die Exkretion zu gewinnen. Solche Versuche sind an Spulwürmern mehrfach vorgenommen worden (MUELLER 1929, hier weiteres Schrifttum). Ich injizierte mit dem Mikromanipulator Trypanblau und Lackmuslösung in die Leibeshöhle. Das sehr mühsame Beginnen war meistens erfolglos, da die Tiere in der Regel innerhalb weniger Stunden nach der Injektion eingingen. Nur zwei mit Trypanblau behandelte Magenwürmer lebten 48 bzw. 60 Stunden. Neben einer Anfärbung der Organteile in der Nähe der Injektionsstelle nahmen nur die büschelförmigen Organe und die blinden Enden der Ventraldrüsen den Farbstoff auf. Aus den Ventraldrüsen verschwanden auch hier innerhalb weniger Stunden die Sekretgranula.

Eine Ablagerung von Farbstoffen und Kohle wurde also in verschiedenen Organen festgestellt. Dies zeigt aber nicht an, daß an all diesen Stellen eine Exkretion stattfindet, sondern nur, daß hier ein besonders lebhafter Stoffwechsel vor sich geht und deshalb hierhin auch besonders viel von der Kohle und dem Farbstoff transportiert wurde. In den Geschlechtsorganen und den Oesophagusdrüsen fand während einer 8—14tägigen Beobachtungszeit keine Verminderung der abgelagerten Stoffe statt. Dagegen war dies der Fall bei den Ventraldrüsen und den büschelförmigen Organen.

Die beiden großen Ventraldrüsenzellen sind angefüllt mit dunklen Granula. Durch beide Zellen zieht sich ein feiner Kanal. MUELLER (1927) konnte bei den Anisakinae von diesem Längskanal abgehende Querkanäle beobachten. Bei den in Kultur gehaltenen Würmern werden innerhalb von 2—6 Tagen die Granula der Ventraldrüsen vollkommen oder fast vollkommen ausgeschieden. Die beiden Drüsenzellen erscheinen dann als feine Streifen, die leicht zu übersehen sind. Eine Neubildung der Granula findet in den Kulturen nicht statt. Bei den im Wirtstiere mit Trypanblau gefütterten Würmern war es bereits im Wirtstiere zum vollkommenen Ausscheiden dieser Granula gekommen. Ebenso wurden sie bei parenteraler Injektion schnell ausgestoßen. Der Bau der Zellen läßt vermuten, daß es sich um Drüsenzellen handelt. Ob sie der

Exkretion dienen, konnte ich nicht beweisen, wird aber durch die mitgeteilten Beobachtungen wahrscheinlich.

Die büschelförmigen Organe wurden zum ersten Male von NASSONOW (1897) bei Ascariden beschrieben. Bei den Trichostrongyloiden wird ihr Vorhandensein meist nicht erwähnt. Bei *Graphidium strigosum* sind konstant 3 Zellen vorhanden. Eine liegt am Mitteldarm kurz hinter dem Oesophagus, eine andere etwa in der Mitte und eine am Ende des Mitteldarmes. Jede Zelle besitzt eine Anzahl feiner Ausläufer, die sich zum Teil an die Körperwand anheften, zum Teil blind enden, vielfach kolbig aufgetrieben. Bei der kurz hinter dem Oesophagus gelegenen Zelle konnte vereinzelt eine Anheftung von Fortsätzen an den Seitenkanälen beobachtet werden. An den büschelförmigen Organen konnte in allen Versuchen eine Aufnahme von Kohle beobachtet werden, konnte nicht ermittelt werden. — Eine Beteiligung der Seitenkanäle an der Exkretion wurde in obigen Versuchen nicht beobachtet. Wenn sie besteht, müßte die Kohle bzw. der Farbstoff in solcher Verdünnung oder so schnell ausgestoßen werden, daß es der Feststellung entgeht. Für die exkretorische Tätigkeit der Cuticula fanden sich keine Anhaltspunkte.

*Ergebnis.* Für die Ventraldrüsen und die büschelförmigen Organe wird eine exkretorische Tätigkeit wahrscheinlich gemacht.

#### D. Untersuchungen über das Wirt-Parasitverhältnis.

##### 1. Einfluß des Alters des Wirtstieres auf das Angehen der Invasion.

Bei einer Reihe von Helminthen ist beobachtet worden, daß von den verabreichten Larven bzw. Eiern bei jungen Wirtstieren sich ein höherer Prozentsatz zur Geschlechtsreife entwickelt als bei älteren, und in den älteren Tieren die Entwicklung verzögert ist, auch wenn diese mit der betreffenden Wurmart vorher nicht angesteckt worden waren. Diese Erscheinung wird Altersresistenz genannt. SANDGROUND (1929) und CAMERON (1934) nehmen an, daß eine Altersresistenz bei noch nicht vollkommener Anpassung des Parasiten an den Wirt auftritt.

Zur Prüfung des Vorhandenseins einer Altersresistenz beim Kaninchen gegenüber *Graphidium strigosum* wurde folgender Versuch durchgeführt. Je zwei 4 Monate alte Kaninchen erhielten 50 bzw. 500 Larven von *Graphidium strigosum*. Ferner wurden je einem 2 Jahre alten Kaninchen 50 bzw. 500 Larven gegeben. Vor und während des Versuches wurden die Tiere unter gleichen Bedingungen gehalten. Bei allen Tieren wurden am 12. Tage die ersten Wurmeier im Kote nachgewiesen. Bei dem 24 bis 28 Tage nach der Invasion erfolgten Tode wurde folgende Anzahl geschlechtsreifer Magenwürmer festgestellt.

*Ergebnis.* Aus der Aufstellung ergibt sich, daß eine Altersresistenz bei 2 Jahre alten Kaninchen nicht besteht. Weiterhin ist hieraus zu

Tabelle 3.

Alter der Tiere	Von 50 verabreichten Larven entwickelten sich zur Geschlechtsreife	Von 500 verabreichten Larven entwickelten sich zur Geschlechtsreife
4 Monate	8 (5 ♂, 3 ♀) = 16%	89 (44 ♂, 45 ♀) = 17,8%
4 Monate	15 (6 ♂, 9 ♀) = 30%	102 (49 ♂, 53 ♀) = 20,4%
2 Jahre	20 (8 ♂, 12 ♀) = 40%	120 (48 ♂, 72 ♀) = 24,0%

ersehen, daß der Prozentsatz der Larven, der sich zur Geschlechtsreife entwickelt, großen Schwankungen unterworfen ist.

CHANDLER (1932, 1935) machte ähnliche Beobachtungen bei Invasionsversuchen mit *Nippostrongylus muris* an Ratten. Der Prozentsatz der angehenden Larven schwankte hier zwischen 10 und 50. Diese Schwankungen werden nicht nur durch die Resistenz des Wirtstieres bedingt. CHANDLER (1935) sieht die Ursache in einer verschiedenen Vitalität der Larven. Noch andere Faktoren spielen bei dem Angehen einer Wurminvasion eine Rolle, die nicht vom Wirtstier bedingt sind, wodurch der Begriff „Resistenz“ nur noch komplizierter wird. So besitzt das Futter einen Einfluß auf die Invasion (STOLL 1929, BECKER 1933, FOSTER 1936, SPINDLER 1936). Beide Fragen, der Einfluß der Vitalität der Larven und der Futtereinfluß auf das Angehen einer Invasion werden im Tierversuch geprüft.

## 2. Einfluß des Eintrocknens der Larven auf das Angehen der Invasion.

Die invasionsfähigen Larven von *Graphidium strigosum* sind gegen Eintrocknen relativ empfindlich. Auf einem Objektträger zum Eintrocknen gebracht, waren nach 24 Stunden bereits 30% tot, nach 48 Stunden aber sämtliche Larven abgestorben (WETZEL und ENIGK 1937). Es war zu vermuten, daß nach einer kurzdauernden Eintrocknung sich zahlenmäßig weniger Larven im Wirt weiter zu entwickeln vermögen als unter normalen Verhältnissen. Zur Klärung dieser Frage wurden 300 Larven auf einem Objektträger 45 Min. lang eingetrocknet gehalten, dann abgespült und, nachdem die Larven wieder beweglich waren, mit der Rekordspritze eingegeben. Bei dem 28 Tage nach Versuchsbeginn erfolgten Tode des Kaninchens wurden 98 Magenwürmer (47 ♂, 51 ♀) festgestellt, das sind 32,6% der verabreichten Larven. Die Stärke der Invasion weicht nicht von dem durchschnittlichen Befall in Versuch 1 ab (s. S. 401). Kurzdauerndes Eintrocknen hat also keinen Einfluß auf die Entwicklungsfähigkeit im Wirtstiere.

Zwei weitere Kaninchen erhielten 300 Larven im eingetrockneten Zustande verabreicht. Die Larven wurden auf kleinen Fließpapierstückchen zum Eintrocknen gebracht. Das Trocknen des Fließpapiers dauerte etwa 1 Stunde.  $\frac{1}{4}$  Stunde nach vollständigem Trockensein wurde das Fließpapier an die Kaninchen verfüttert. Es wurde sorgfältig darauf geachtet, daß beim Eintrocknen und bei der Verabreichung keine Larven verloren gingen. Bei dem 30 Tage nach Versuchsbeginn



erfolgten Tode wurden bei dem einen Tier zwei Männchen und ein Weibchen ermittelt, bei dem anderen wurden überhaupt keine Würmer gefunden.

Ein Teil der Larven mag beim Kauen beschädigt worden sein. Die meisten vermögen aber wohl im Magen nicht aus dem anabiotischen Zustande zu erwachen, denn die bescheideten Larven bedürfen aerober Lebensbedingungen.

*Ergebnis.* Im eingetrockneten Zustande vom Wirtstier aufgenommene Larven entwickeln sich nur zu einem sehr geringen Prozentsatz weiter.

### 3. Einfluß des Futters auf das Angehen der Invasion.

Der Einfluß mangelhaften Futters auf die Wurminvasion ist mehrfach untersucht worden (ACKERT u. a. 1931, 1933, NAGOYA 1931, CHANDLER 1932, FOSTER und CORT 1932, TAYLOR 1934, CLAPHAM 1933, 1934, MCCOY 1934, PORTER 1935, STOLL 1936, FOSTER 1936, in diesen Arbeiten Angabe des früheren Schrifttums). Als ein Futtereinfluß ist aber auch anzusehen, wenn durch einseitige Fütterung die physikalisch-chemischen Verhältnisse im Magen-Darmkanal verändert werden. Wieweit hierdurch das Angehen der Wurminvasion beeinflußt wird, zeigen nachstehende Tierversuche.

Je 5 Kaninchen erhielten entweder nur Futterrüben oder nur Kartoffeln und etwas Kleie oder nur Heu und Wasser. 5 Tage nach Beginn dieser Fütterung wurden jedem Tiere 300 Larven gegeben. Es ist anzunehmen, daß innerhalb dieser Zeit noch keine wesentliche Resistenzminderung der Kaninchen durch die einseitige Fütterung eingetreten ist, so daß etwaige Unterschiede in der Invasion nicht durch geminderte Widerstandskraft bedingt sind. Von der 3. Woche ab wurde die quantitative Untersuchung der Tageskotmenge auf Wurmeier durchgeführt. 35—40 Tage nach Beginn des Versuches wurden die Tiere getötet. Das Ergebnis ist in der Tabelle 4 zusammengestellt.

Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß bei Fütterung von Kartoffeln und Kleie sowie bei Verabreichung von Rübenfutter sich sichtlich mehr Larven zur Geschlechtsreife entwickeln als bei Heufütterung.

In einigen weiteren Tierversuchen sollte ermittelt werden, welches Entwicklungsstadium durch die Heufütterung ungünstig beeinflußt wird. Bei 2 Kaninchen, die bei gemischter Fütterung angesteckt worden waren, und bei denen die Stärke des Befalls durch mehrmalige quantitative Kotuntersuchung festgestellt worden war, wurde allmählich zu reiner Heufütterung übergegangen. Eine Beeinflussung der Eizahl konnte nicht festgestellt werden. Auch bei den Kaninchen der obigen Versuchsreihen wurde nie ein Abfallen der Eiproduktion festgestellt. Ein Versuchstier, das bei reiner Heufütterung am 16. Tage nach der Invasion einging, enthielt 27 Magenwürmer = 9% der verabreichten Larven. Sämtliche Würmer waren geschlechtsreif. Hieraus geht wiederum

Tabelle 4.

Versuchsreihe	Fütterung mit					
	Kartoffeln und Kleie		Futterrüben		Heu und Wasser	
	durchschnittliche Eizahl in der Tageskotmenge	Zahl der Magenwürmer	durchschnittliche Eizahl in der Tageskotmenge	Zahl der Magenwürmer	durchschnittliche Eizahl in der Tageskotmenge	Zahl der Magenwürmer
1	8 900	130 (52 ♂, 78 ♀) = 43,3%	3200	40 (21 ♂, 19 ♀) = 13,3%	2000	23 (10 ♂, 13 ♀) = 7,6%
2	10 600	147 (61 ♂, 86 ♀) = 49%	7100	112 (61 ♂, 51 ♀) = 37,3%	2400	32 (18 ♂, 14 ♀) = 10,6%
3	7 400	118 (65 ♂, 53 ♀) = 39,3%	6500	86 (39 ♂, 47 ♀) = 28,6%	3400	37 (16 ♂, 21 ♀) = 12,3%
4 <sup>1</sup>	11 100		8100		4100	
5 <sup>1</sup>	8 500		6900		3100	

<sup>1</sup> Die Tiere dieser beiden Versuchsreihen wurden in dem Versuch 4 (S. 404) weiter verwendet.

hervor, daß bereits kurz nach Vollendung der Präpatentperiode der Prozentsatz der vorhandenen Magenwürmer niedrig ist, und nicht erst im weiteren Verlauf der Invasion herabsinkt. Die geschlechtsreifen Würmer werden demnach nicht durch die Heufütterung beeinflusst. Aus dem zuletzt aufgeführten Tierversuch geht ferner hervor, daß auch die vierten Larven in ihrer Entwicklung nicht behindert werden, da sie sämtlich rechtzeitig sich der letzten Häutung unterzogen hatten. Im Gegensatz hierzu beobachtete FOSTER (1936), daß bei Hunden, die nur Milchnahrung erhalten hatten, der Hakenwurm *Necator americanus* sich nicht zur Geschlechtsreife entwickelte. Die vierten Larven gingen schließlich nach 1 Monat ab.

Da die vierten Larven und die geschlechtsreifen Würmer sich durch die einseitige Heufütterung nicht beeinflussen lassen, werden also bereits die aufgenommenen bescheideten Larven in ihrer Weiterentwicklung gehindert. Das Entscheiden geht im Mageninhalt vor sich, wie ich mehrmals beobachten konnte. Die entschiedenen Larven wandern dann zur Schleimhaut. Vielleicht vermag wegen des hohen Gehaltes an Mineralien im Heu die Wasserstoffionenkonzentration im Mageninhalt nicht überall soweit zu steigen, um das Abstreifen der Scheide bei allen Larven auszulösen. Diese hindernde Wirkung mag Schwankungen unterworfen sein, die von der Pflanzenart und dem Boden, auf dem sie gewonnen wurden, abhängig ist. Auch FRASER, ROBERTSON und RITCHIE (1936) nehmen auf Grund experimenteller Untersuchungen an, daß durch hohen Kochsalzgehalt der Nahrung die Weiterentwicklung der Larven von *Haemonchus contortus* gehindert wird.

*Ergebnis.* Bei ausschließlicher Heufütterung werden die aufgenommenen, bescheideten Larven teilweise in ihrer Entwicklung gehindert. Der Prozentsatz der sich zur Geschlechtsreife entwickelnden Würmer ist hier sichtlich geringer als bei anderer Futterzusammensetzung.

#### 4. Einfluß eines Futterwechsels auf die bestehende Invasion.

Bei den Tieren der Versuchsreihen 4 und 5 in der Tabelle 4 wurde 40—45 Tage nach der Invasion ein plötzlicher Futterwechsel vorgenommen. Die Tageskotmenge wurde weiterhin alle 2—3 Tage untersucht. 20—25 Tage nach dem Futterwechsel wurden die Tiere getötet und die Zahl der Magenwürmer festgestellt. Die Futterfolge und das Ergebnis sind in der Tabelle 5 niedergelegt.

Tabelle 5.

Ver-suchstier Nr.	Art des Futters zur Zeit der Invasion	Eiproduktion vor dem Futterwechsel	Art des Futters nach dem Futterwechsel	Eiproduktion kurz vor dem Töten	Zahl der Magenwürmer
1	Kartoffeln und Kleie	8 500	Futterrüben	8 700	128 (58 ♂, 70 ♀) = 42,6%
2	Kartoffeln und Kleie	11 100	Heu und Wasser	10 900	151 (69 ♂, 82 ♀) = 50,3%
3	Futterrüben	8 100	Kartoffeln und Kleie	8 300	120 (78 ♂, 49 ♀) = 40,6%
4	Futterrüben	6 900	Heu und Wasser	6 900	95 (41 ♂, 54 ♀) = 31,6%
5	Heu und Wasser	4 100	Kartoffeln und Kleie	4 500	55 (25 ♂, 30 ♀) = 18,3%
6	Heu und Wasser	3 100	Futterrüben	3 300	38 (18 ♂, 20 ♀) = 12,6%

Vorstehende Tabelle läßt erkennen, daß durch die Art des vorgenommenen Futterwechsels eine Minderung des Wurmbefalls nicht eingetreten ist. Vermutlich schützt die Schleimschicht die Würmer gegen die im Magen auftretenden chemisch-physikalischen Änderungen. In weiteren Versuchen ist festzustellen, wieweit ein Futterwechsel, der für die Wirtstiere gesundheitsschädlich werden kann, nicht doch auch die Trichostrongyriden beeinflusst. So beobachtet man bei plötzlich einsetzender Grün- oder Rübenblattfütterung mit dem einsetzenden Durchfall oft ein Abgehen von Magen-Darmwürmern.

*Ergebnis.* Durch plötzlichen Futterwechsel (Kartoffeln, Futterrüben, Heu) wird die Magenwurminvasion nicht beeinflusst.

5. Untersuchungen über die Eierzeugung und die Lebensdauer von *Graphidium strigosum*.

Die Zahl der abgesetzten Eier ist abhängig von dem Alter der geschlechtsreifen Würmer, von der Stärke der Invasion und von der Resistenz des Wirtes.

Ich untersuchte den Einfluß des Alters, indem ich bei 2 Kaninchen die Eiabscheidung über ein ganzes Jahr hin verfolgte. Die Tiere waren mit 100 bzw. 1000 Larven angesteckt worden. Neuinvasionen im Verlauf des Versuches waren durch die Art der Haltung ausgeschlossen. Die Kaninchen erhielten stets das gleiche Futter in Zusammensetzung und Menge. Die Eiproduktion wurde durch quantitative Untersuchung der Tageskotmenge festgestellt. In den ersten Tagen der Eierzeugung wurde wegen des geringen Eiehaltes des Kotes eine abgeänderte Methode nach LANE durchgeführt, bei stärkerer Eiproduktion dann das Verfahren nach STOLL. Aus den gefundenen Eizahlen ergibt sich, daß von der am 12. Tage nach der Ansteckung beginnenden Eiproduktion ab ein rascher Anstieg bis zum 35. Tage der Invasion erfolgt. Dann bleibt 8—9 Wochen lang die Eiproduktion etwa auf gleicher Höhe, um von der 14.—15. Woche ab bis zum 7. Monat auf eine geringe Zahl abzusinken. Bei der jetzt wieder nach der Methode von LANE durchgeführten Untersuchung wurden bis zum 365. Versuchstage Eier im Kote nachgewiesen, und zwar bei dem mit 100 Larven angesteckten Kaninchen noch 150 Eier, bei dem mit 1000 Larven angesteckten 950 Eier täglich. Größere Schwankungen in der Eiproduktion ließen sich bei diesen Tieren nicht feststellen. Allerdings konnte bei ihnen die Untersuchung der Tageskotmenge nur alle 3—4 Tage vorgenommen werden.

Um etwa vorhandene Schwankungen in der Eiproduktion festzustellen, wurde bei 2 Tieren mit je 50 bzw. 500 verabreichten Larven täglich die Tageskotmenge 15 Wochen lang untersucht. In beiden Fällen waren nur kleine Schwankungen zu beobachten, die ganz unregelmäßig auftraten. Bei den Lungenwürmern *Dictyocaulus arnfieldi* und *Dictyocaulus viviparus* konnte ich nach einmaliger schwacher Invasion starke Schwankungen der im Kote vorhandenen Larvenzahl beobachten, wobei sogar tagelang keine Larven nachzuweisen waren. Falls bei den Trichostrongyiden solche Pausen in der Eiproduktion vorhanden sind, überschneiden sich diese auch bei schwacher Invasion und gleichaltrigen Würmern, so daß ihnen eine praktische Bedeutung nicht zukommt. Bei der Beurteilung des parasitologischen Kotbefundes braucht man deshalb bei *Graphidium strigosum* und sicher auch bei den anderen Trichostrongyiden Schwankungen in der Eiablage nicht zu berücksichtigen.

Die Lebensdauer von *Graphidium strigosum* beträgt über 1 Jahr, wie bei den oben aufgeführten beiden Versuchskaninchen festgestellt wurde. Am 365. Tage wurden beide Tiere getötet. Bei dem mit 100 Larven angesteckten Kaninchen wurde ein Männchen und ein Weibchen gefunden,

bei dem Kaninchen, das 1000 Larven erhalten hatte, waren noch 7 Männchen und 9 Weibchen vorhanden. Ein größerer Teil der Würmer war also inzwischen abgegangen, so daß die durchschnittliche Lebensdauer kürzer als 1 Jahr anzusetzen ist. In früheren Versuchen stellte ich bei 2 Kaninchen ein Lebensalter der Magenwürmer von 6 und 8 Monaten fest. Diese Tiere hatten aber mehrmals große Larvenmengen erhalten. Die hierdurch hervorgerufene Resistenz der Kaninchen mag die kürzere Lebenszeit der Würmer bedingt haben. Gleiche Beobachtungen machten STOLL (1929) bei *Haemonchus contortus* und MCCOY (1931) bei *Ancylostoma caninum*. Bei *Trichostrongylus calcaratus* stellte SARLES (1932) eine Lebensdauer von 49 Wochen fest. Während die Trichostrongyliden wohl nicht älter als 1 Jahr werden, sind von den Hakenwürmern weit höhere Lebensalter bekannt. So vermag *Ancylostoma duodenale* und *Necator americanus* 6½ Jahre alt zu werden (KENDRICK 1934, MINAMAZAKI (1934)). *Ancylostoma caninum* erreicht nach SARLES (1929) eine Lebensdauer von 2 Jahren.

*Ergebnis.* Die Eiabscheidung ist am stärksten von der 5. bis zur 15. Woche nach der Invasion. Größere Schwankungen in der Eiablage machen sich auch bei 1maliger schwacher Invasion nicht bemerkbar. Die Lebensdauer beträgt über 1 Jahr.

#### 6. Die Nahrung von *Graphidium strigosum* im Wirtstiere.

Um die pathogene Wirkung der einzelnen Trichostrongylidenarten beurteilen zu können, muß man ihr Verhalten im Wirtstiere kennen. Bei manchen Arten dringt die vierte Larve in die Schleimhaut ein. Ihre schädigende Wirkung ist größer als bei den Arten, deren vierte Larve sich nicht in die Schleimhaut einbohrt. Von den Trichostrongyliden des Kaninchens verursacht die vierte Larve von *Obeliscoides cuniculi* starke Veränderungen in der Schleimhaut (ALICATA 1932). Bei *Trichostrongylus calcaratus* hingegen hält sich die vierte Larve zwischen den Dünndarmzotten auf, ohne in die Darmwand einzudringen. Auch die geschlechtsreifen Würmer verhalten sich nicht gleich. Manche Arten verursachen durch Anheften an der Schleimhaut Blutungen, andere Arten verletzen die Schleimhaut nicht.

Die vierte Larve von *Graphidium strigosum* dringt nicht in die Schleimhaut ein, sondern sie hält sich in dem Lumen der Fundusdrüsen auf. Kurz vor der letzten Häutung wandert sie wieder aus und bleibt dann auf der Schleimhaut liegen, das Kopfende vielfach in Magengrübchen einbohrend. Eine Anheftung an die Schleimhaut kommt auch beim geschlechtsreifen Tiere nicht zustande (WETZEL und ENIGK 1937). — Der Darminhalt der vierten Larven ist eine glashelle, farblose Masse, in der einzelne Granula enthalten sind. Mit Rücksicht auf den Aufenthalt besteht er wohl ausschließlich aus Mukus und Magensaft. Bei mehreren geschlechtsreifen Tieren wurde der Darm herauspräpariert und

der Darminhalt nach Durchschneiden des Darmes herausgepreßt. Der Inhalt ist auch hier eine farblose, visköse Masse, in der sich vereinzelt Kernreste, Granula und Bakterien befinden. Bei den Kernen handelt es sich, soweit bei GIEMSA-Färbung eine Erkennung noch möglich war, um solche von weißen Blutkörperchen.

Um zu prüfen, ob die Würmer auch Mageninhalt des Wirtstieres aufnehmen, wurde an 3 Kaninchen 10 Tage lang in wenig Wasser aufgeschwemmte, gepulverte Tierkohle verabreicht. Je ein weiteres Tier erhielt Trypanblau und Carmin. In allen Fällen hatten die Magenwürmer den betreffenden Stoff in reichlicher Menge aufgenommen. Weiterhin wurde einem Kaninchen Trypanblau intravenös 10 Tage lang täglich mehrmals verabreicht, so daß einige Tage vor dem Töten eine vollkommene Blaufärbung des Tieres eingetreten war. Im Darmkanal der Würmer wurden einzelne blau gefärbte Partikel festgestellt, die Schleimfetzen zu sein schienen.

*Ergebnis.* Durch Serienschnitte war festgestellt worden, daß *Graphidium strigosum* sich nicht an die Schleimhaut anheftet (WETZEL und ENIGK 1937). Auf Grund dieses Befundes und der Untersuchung des Darminhaltes ist als Hauptnahrung des Magenwurmes der Magenschleim und Magensaft anzusehen. Daneben werden aber auch Teilchen vom Mageninhalt aufgenommen.

#### 7. Einfluß der Invasion auf das Wirtstier.

Auf Grund praktischer Erfahrungen werden manche Helminthen als besonders pathogen bezeichnet. Worin die krankmachende Wirkung besteht, ist bisher noch nicht geklärt. Die Wirkung läßt sich durch verschiedene Methoden feststellen. Ich prüfte den Einfluß auf das Blutbild, auf die Bildung von Antikörpern und auf das Körpergewicht.

a) *Hämatologische Untersuchung.* Bei Trichostrongylidenbefall sind Blutuntersuchungen von FOURIE (1931) vorgenommen worden. Er untersuchte eine Reihe von Schafen, denen 20000 bis über 50000 Larven von *Haemonchus contortus* verabreicht worden waren. Hierbei stellte er eine neutrophile Leukozytose und eine Abnahme der roten Blutkörperchen fest.

Die Beeinflussung des Blutbildes des Kaninchens infolge Befalls mit Magenwürmern wurde bei den Tieren der Versuche 5 und 8 geprüft. Die Feststellungen erfolgten mehrmals vor der Invasion und in Abständen von 2—3 Wochen während der Invasion. Zur Kontrolle diente ein gleichaltes, nicht angestecktes Tier<sup>1</sup>. Bei keinem Tier konnte eine Veränderung im Blutbild und im Hämoglobingehalt festgestellt werden. Alle untersuchten Tiere waren aber nur als mittelgradig befallen anzusehen. Um festzustellen, wieweit überhaupt eine Reaktion eintritt, wurden zwei

<sup>1</sup> Diese Untersuchungen sowie ein großer Teil der übrigen technischen Arbeiten wurden von meiner Frau ausgeführt.

sehr stark angesteckte Tiere untersucht. Dabei ergaben sich bei den beiden Tieren Abweichungen von der Norm. Das Untersuchungsergebnis ist in der Tabelle 6 zusammengestellt. Die durchschnittlichen Normalwerte sind zum Vergleich beigelegt.

Tabelle 6.

	Kaninchen 1	Kaninchen 2	Normalwerte
Hämoglobingehalt . . . . .	51 %	53 %	58—63 %
Rote Blutkörperchen . . . . .	4 140 000	4 320 000	5 200 000
Weiße Blutkörperchen . . . . .	8 600	8 800	5500—6000
Basophile Leukozyten . . . . .	1	1	0—1
Eosinophile Leukozyten . . . . .	12	11	2—4
Jugendliche neutrophile Leukozyten . .	—	—	—
Stäbkernige neutrophile Leukozyten . .	3	2	1—3
Segmentkernige neutrophile Leukozyten	23	33	20—45
Lymphozyten . . . . .	49	61	55—75
Monozyten . . . . .	2	2	1—2

Bei starker Invasion kommt es also zu einer Vermehrung der Eosinophilen und zu einer Abnahme der roten Blutkörperchen. Die Ursachen der Wurmanämie sind noch nicht bekannt. Bei ausgesprochenen Blut-saugern, wie den Hakenwürmern, wird die Blutarmut auf den direkten Blutentzug zurückgeführt. LANDSBERG (1937) erhielt bei Hunden durch Aderlaß dieselben Veränderungen im Blutbild wie bei Befall mit Hakenwürmern. *Graphidium strigosum* und viele andere Trichostrongyliden verursachen aber keine Blutungen. Die Anämie ist hier also durch andere Faktoren bedingt.

Eosinophilie ist bei Wurmbefall häufig festzustellen. Nach BORCHARDT (1929) wird sie durch Resorption der Stoffwechselendprodukte der Helminthen bedingt. Durch subcutane Verabreichung aliphatischer Aldehyde konnte er bei Katzen Eosinophilie und durch stärkere Dosen Neutrophilie beobachten. Aldehyde von Fettsäuren hatte FLURY (1932) als Exkretstoffe bei Spulwürmern festgestellt. Da alle Helminthen wahrscheinlich einen anoxybiotischen Stoffwechsel haben, werden auch bei allen gleiche oder ähnliche Stoffwechselendprodukte auftreten. Einen Indikator für den Grad der Resistenz des Wirtstieres stellen die Eosinophilen nicht dar (McCoy 1931).

b) *Serologische Untersuchung.* Eine Bildung von Antikörpern im Blute der Wirtstiere ist bei solchen Helminthen nachgewiesen worden, deren Larven im Wirtskörper wandern, oder die selbst im Wirtsgewebe leben. So sind bei Filarienbefall komplementbindende Antikörper festgestellt worden (TALIAFERRO 1929). Bei Hunden ermittelte STUMBERG (1930), KERR (1936) Präzipitine nach Invasion mit *Ancylostoma caninum*. Bei Pferden wurden nach Spulwurm- und Palisadenwurmbefall von HOLZER (1937) Präzipitine nachgewiesen, ebenso nach Trichineninvasion bei verschiedenen Wirtstieren (TRAVINSKI 1935, HEATMAN 1936, hier

weiteres Schrifttum). Von Trichostrongyliden sind bei Invasionen mit *Nippostrongylus muris* in der Ratte von SARLES und TALIAFERRO (1936) Antikörper ermittelt worden entgegen den Ergebnissen von CHANDLER (1932, 1935, 1936). Der Grund des verschiedenen Resultates liegt nach SARLES und TALIAFERRO (1936) darin, daß die Versuchstiere von CHANDLER nicht stark genug befallen waren.

Ich untersuchte 6 mittelgradig und 2 sehr stark befallene Kaninchen auf das Vorhandensein von Präzipitinen. Für die Ausführung der Reaktion wurden 2 verschiedene durch Extraktion in physiologischer Kochsalzlösung hergestellte Präzipitinogene verwendet. Das eine wurde durch Zerreiben ganzer Würmer hergestellt, bei dem anderen wurde vor dem Zerreiben der Würmer der Darmkanal entfernt. Die Präzipitation führte ich bei den 8 Tieren 3mal in Abständen von 2 Wochen durch. Die Invasion bestand verschieden lange Zeit, die jüngste lag 8 Wochen zurück. Die Reaktion verlief stets einwandfrei negativ. Eine Erklärung sehe ich darin, daß *Graphidium strigosum* nicht in das Wirtsgewebe eindringt und dadurch eine spezifische Reaktion von seiten des Wirtstieres nicht ausgelöst wird. Vermutlich werden auch gegen alle übrigen sich gleich verhaltenden Trichostrongyliden keine Antikörper gebildet.

c) *Prüfung des Körpergewichtes*. Die Gewichtsabnahme ist ein deutliches klinisches Zeichen bei starker Wurminvasion. KAUZAL (1937) hat Untersuchungen darüber angestellt, wie stark eine Trichostrongylideninvasion sein muß, um das Körpergewicht des Wirtstieres zu beeinflussen. Er verabreichte sechs 9 Monate alten Schafen bis 40000 Larven von *Nematodirus spec.* Er konnte keine Beeinflussung des Körpergewichtes beobachten. In weiteren Mitteilungen sind Wägungen nicht vorgenommen worden. So stellte TETLEY (1935) bei Schafen bis 5000 Exemplare von *Nematodirus spec.* fest, ohne daß Zeichen einer Abmagerung festzustellen waren. DAVEY (1936) zählte bis 3270 *Ostertagia*-Exemplare, FRASER und ROBERTSON (1937) bis 2100 Exemplare von *Haemonchus contortus* und 4600 Exemplare von *Ostertagia circumcincta* im Labmagen, ohne Abmagerung zu beobachten.

Bei den Tieren der unter 5 (S. 405) und 8 (S. 410) mitgeteilten Versuche sowie bei drei weiteren Kaninchen, die 6000, 8000 bzw. 10000 Larven erhalten hatten, kontrollierte ich das Körpergewicht. Ein nicht befallenes, gleichaltes Tier diente zur Kontrolle. Die Tiere erhielten stets die gleichen abgewogenen Futtermengen. Jeden 2.—3. Tag wurden die Tiere gewogen. 4 Monate lang erhielten die Kaninchen so reichlich Futter, daß ein ständiges Ansteigen des Gewichtes festzustellen war. Ein wesentlicher Unterschied im Grad des Anstieges war bei den verschieden stark befallenen Tieren und dem Kontrolltier nicht zu beobachten. Im weiteren Verlauf des Versuches wurde die Futtermenge soweit herabgesetzt, daß die Tiere allmählich im Gewicht zurückgingen. Der Grad der Gewichtsabnahme war aber verschieden. Bei dem Kontrolltier und den schwach



befallenen Tieren der Versuche 5 und 8 betrug die Gewichtsabnahme durchschnittlich 200—300 g nach der 40tägigen Fütterung mit herabgesetzter Futtermenge. Bei den drei stärker angesteckten Kaninchen trat eine Gewichtsabnahme von 550—650 g ein.

Hieraus ergibt sich, daß bei den stärker befallenen Tieren eine geringere Ausnutzung der Nahrung zustande kommt. Durch die auf der Schleimhaut lebenden Rundwürmer wird wahrscheinlich die Wirkung der Verdauungsfermente gemindert. STEWART (1933) nimmt an, daß die Rundwürmer, um vor der Wirkung der Verdauungsfermente des Wirtstieres geschützt zu sein, Enzyme („Nezyme“) erzeugen, die die Wirkung der proteolytischen Enzyme des Wirtstieres aufheben. Die schlechtere Verwertung des Futters bei Wurmbefall ist ein vielfach nicht beachteter Schaden durch die Helminthen. Wird nur das Erhaltungsfutter gegeben, so magern stärker befallene Tiere ab.

*Ergebnis.* Bei starker Invasion mit Magenwürmern tritt eine Abnahme der roten Blutkörperchen und eine Eosinophilie auf. — Spezifische Präzipitine gegen *Graphidium strigosum* werden von den Kaninchen nicht gebildet. — Bei einer Fütterung unter dem Erhaltungsfutter ist die Gewichtsabnahme bei den stärker befallenen Tieren größer als bei schwach befallenen.

#### 8. Beobachtungen über die Resistenz gegen Neuansteckungen.

Die Frage, wieweit eine bestehende Invasion gegen eine Superinvasion mit der gleichen Wurmart schützt, ist bereits bei zahlreichen Helminthen geprüft worden. Am eingehendsten wurde das Verhalten von *Nippostrongylus muris* bei Ratten untersucht. Die zahlreichen Arbeiten sind bei SARLES und TALIAFERRO (1936) zusammengestellt. Versuche mit anderen Helminthen finden sich bei SARLES (1929) und LAPAGE (1937) zusammengefaßt. Beim Kaninchen führte SARLES (1932) derartige Versuche mit einem im Dünndarm parasitierenden Rundwurm, *Trichostrongylus calcaratus*, durch. Durch wöchentlich verabreichte, große Dosen invasionsfähiger Larven erreichte er, daß nach der 6.—8. Gabe die Zahl der Eier im Kote nicht mehr stieg, obwohl er weiterhin Dosen von 13 000 bis 65 000 Larven verabreichte. Nach der 17. Invasion ging plötzlich die gesamte Wurmbürde verloren. Die durch diese Invasionen erworbene Resistenz schützte 2 Wochen lang gegen Neuansteckungen.

SARLES (1932) experimentierte, wie die meisten anderen Forscher, mit sehr großen Larvendosen, um einen merkbaren Unterschied bei auftretender Resistenz zu erhalten. Ich verabreichte meinen Versuchstieren nur geringe Larvenmengen, um zu beobachten, ob auch unter diesen Bedingungen eine Resistenz auftritt. Es wurden hierzu 3 Kaninchen verwendet, die aus einem Wurf stammten und bei Beginn des Versuches 15 Wochen alt waren. Zunächst erhielt nur ein Tier 150 Larven auf mehrere Gaben verteilt innerhalb von 7 Tagen. Nach einer 8wöchigen

Pause erhielt dasselbe Tier, gleichzeitig aber ein zweites Kaninchen dieselbe Larvendosis. Nach weiteren 8 Wochen wurde diesen beiden Tieren sowie dem dritten, bisher noch nicht angesteckten Tiere die gleiche Larvenmenge gegeben. Auf diese Weise konnte ich feststellen, ob etwa eine auftretende Altersresistenz eine erworbene Resistenz vortäuschen könnte. Nachdem alle 3 Tiere sich im Versuch befanden, erhielten sie gleichzeitig mehrere Larvendosen von ansteigender Größe. Die Invasionsstärke wurde durch die quantitative Untersuchung der in der Tageskotmenge enthaltenen Eier ermittelt. Hierbei kam die Methode nach

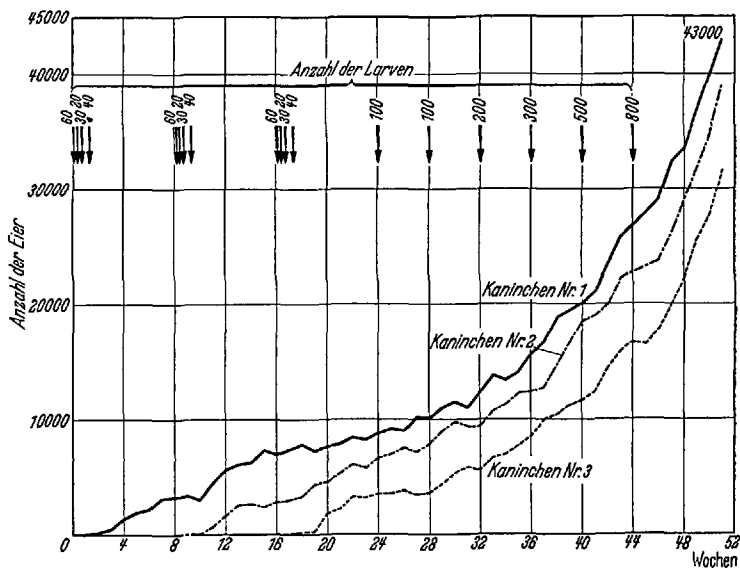


Abb. 1.

STOLL zur Anwendung. Das Ergebnis ist in der Tabelle 7 (als Kurvenbild) niedergelegt.

Vorstehender Versuch läßt das Auftreten einer Altersresistenz nicht erkennen. Weiterhin kommt durch Verabreichung geringer Larvenmengen eine sichtbare Resistenz nicht zustande. Nach 18 Invasionen, die sich auf einen Zeitraum von 44 Wochen verteilen, stieg die Eizahl proportional der verabreichten Larvenmenge weiter an. Im Gegensatz hierzu konnte SARLES (1932) nach starken Invasionen mit *Trichostrongylus calcaratus* bei Kaninchen schon innerhalb 14—15 Wochen eine Resistenz nachweisen.

Nach dem Töten der Versuchstiere wurde folgende Anzahl Magenswürmer festgestellt: Nr. 1: 869, Nr. 2: 851, Nr. 3: 792. Der Prozentsatz der verabreichten Larven, der sich zur Geschlechtsreife entwickelt hat, weicht mit 35,4%, 34,3% und 37,3% nicht von dem in Versuch 1 (S. 400)

ab. Auch die Größe der Magenwürmer zeigt keine Unterschiede gegenüber schwachen Invasionen. Bei starkem Befall wird bei anderen Nematoden, z. B. *Ascaridia galli* (ACKERT u. a. 1931), eine beträchtliche Verminderung der Körpergröße beobachtet. Auch ist hier die Eiablage der Weibchen herabgesetzt. Vielfach wird ferner eine entwicklungshemmende Wirkung festgestellt, die die Weiterentwicklung der vierten Larve zum geschlechtsreifen Tier verzögert oder gar verhindert. So beobachtete VEGLIA (1915) bei *Haemonchus contortus* eine Verlängerung der Präpatentperiode um 15 Tage und mehr und CHANDLER (1932) bei *Nippostrongylus muris* eine solche über 4 Wochen. SCOTT (1928) konnte bei Hunden und Katzen lange Zeit nach der Hakenwurminvasion vierte Larven feststellen, die wahrscheinlich nie die letzte Häutung vollziehen. Die gleichen Erscheinungen habe ich auch nach starken Invasionen bei *Graphidium strigosum* gesehen. 28 Tage nach der letzten Invasion wurden noch vierte Larven gefunden und bei den geschlechtsreifen, um ein Drittel kleineren Weibchen wurden in den Geschlechtsschläuchen nur wenige reife Eier festgestellt. Das Zurückbleiben in der Entwicklung ist nicht Ausdruck einer dauernden Schädigung. Es ist vielmehr eine Ernährungsstörung. CHANDLER (1935) brachte solche Kümmerformen von *Nippostrongylus muris* in einen neuen, noch nicht befallenen Wirt. Hier wuchsen sie zu normalen Würmern aus. CHANDLER (1936) nimmt an, daß das Wirtstier Antienzyme bildet, die die Würmer hindern, Nahrung zu assimilieren. SARLES und TALIAFERRO (1936) sprechen von spezifischen Antikörpern („Ablastin“).

### E. Zusammenfassung.

Im ersten Teil der Arbeit werden Beobachtungen über Lebensvorgänge an den parasitischen Entwicklungsstufen von *Graphidium strigosum* mitgeteilt. Sie ergaben:

1. Bei dem Abstreifen der Larvenhaut der dritten invasionsfähigen Larve wirken drei Faktoren mit: Säuren bzw. Laugen, Fermente und die aktive Tätigkeit der Larve. Die Wirksamkeit der ersten beiden Faktoren ist abhängig von dem spezifisch anregenden Einfluß auf die Larve und von der chemischen Zusammensetzung der Scheide.

2. Die dritte entschiedete Larve kann mehrere Wochen lang in Kulturen gehalten werden, ohne daß es zu einer Weiterentwicklung und zur dritten Häutung kommt.

3. Die vierte Larve und die geschlechtsreifen Würmer hielten sich 18—21 Tage lang in Kulturen. Jedoch wurde die Umwandlung der vierten Larve durch die vierte Häutung in das geschlechtsreife Tier nicht beobachtet.

4. Durch Farbindikatoren wurde intravital die Wasserstoffionenkonzentration im Darmkanal von *Graphidium strigosum* bestimmt. Im Anfangsteil des Mittelarmes herrscht ein  $p_H$  von 4,4—4,8. Im weiteren

Verlauf des Mitteldarmes konnte nur festgestellt werden, daß saure Reaktion vorhanden ist.

5. Im Lumen des Mitteldarmes ist die Wirkung einer Protease und einer Amylase nachweisbar.

6. Die Resorption des Darminhaltes geht zum größten Teil vom Beginn des dritten bis zum Beginn des letzten Fünftels des Mitteldarmes vor sich.

7. Bei Untersuchungen über die Ausscheidung aufgenommener Farbstoffe konnte für die Ventraldrüsen und die sog. büschelförmigen Organe eine exkretorische Funktion wahrscheinlich gemacht werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wird über die Beziehungen von *Graphidium strigosum* zu seinem Wirt berichtet. Hierbei konnten folgende Befunde erhoben werden:

1. Eine Altersresistenz besteht bei 2 Jahre alten Kaninchen gegenüber *Graphidium strigosum* nicht.

2. Im eingetrockneten Zustande verabreichte Larven vermögen sich nur in einem sehr geringen Prozentsatze im Wirtstiere weiter zu entwickeln.

3. Bei ausschließlicher Heufütterung ist der Prozentsatz der sich weiter entwickelnden dritten Larven sichtlich geringer als bei anderer Fütterung.

4. Durch plötzlichen Futterwechsel (Kartoffeln, Futterrüben, Heu) wird die Stärke der Invasion nicht beeinflusst.

5. Die Lebensdauer im Wirtstier beträgt über 1 Jahr. Die stärkste Eiablage findet zwischen der 5. und 15. Woche nach der Invasion statt. Vom 7. Monat ab ist die Eiproduktion sehr gering.

6. Die Nahrung der vierten Larve und des geschlechtsreifen Magenwurm besteht hauptsächlich aus Mukus und Magensaft. Daneben wird aber auch flüssiger Mageninhalt des Wirtstieres aufgenommen.

7. Das Blutbild wird nur durch einen starken Magenwurmbefall beeinflusst. Es kommt zu einer Eosinophilie und zu einer Abnahme der roten Blutkörperchen sowie des Hämoglobingehaltes.

8. Spezifische Präzipitine gegen *Graphidium strigosum* werden nicht gebildet.

9. Eine Beeinträchtigung des Körpergewichtes durch den Magenwurmbefall ist festzustellen, wenn die Kaninchen nur das Erhaltungsfutter oder weniger bekommen.

10. Eine erworbene Resistenz wird nach einer wiederholten Verabreichung kleiner Larvenmengen von *Graphidium strigosum* beim Kaninchen nicht beobachtet.

#### Schrifttum<sup>1</sup>.

Brand, T. v.: Das Leben ohne Sauerstoff bei wirbellosen Tieren. Erg. Biol. 10, 37—100 (1934). — Cameron, T. W. M.: The internal parasites of domestic

<sup>1</sup> Das vollständige, sehr umfangreiche Schrifttum kann eingesehen werden in der Universitätsbibliothek, veterinärmedizinische Abteilung, Berlin NW 7, Luisenstr. 56.

animals. London: Black, Ltd. 1934. — **Chandler, A. C.:** Studies on the nature of immunity to intestinal helminthes. Amer. J. Hyg. **22**, 157—168 (1935); **23**, 46—54; **24**, 129—144 (1936). — **Chitwood, B. G.:** Observations on the chemical nature of the cuticle of *Ascaris lumbricoides* var. *suis*. Proc. helminth. Soc. Washington **3**, 39—49 (1936). — **Coutelen, F.:** Essai de culture in vitro de scolex et hydatides echinococciques (*Echinococcus granulosus*). Ann. de Parasitol. **5**, 1—19 (1927). — **Davey, D. G.:** On the incidence of the abomasal parasites in the lambs of South-West-Britain. J. of Helminth. **14**, 85—92 (1936). — **Fenwick, D. W.:** A census of intestinal parasites of lambs in South Wales. J. of Helminth. **15**, 169—176 (1937). — **Flury, F.:** Die giftigen Abscheidungen der Tiere. C. Oppenheimers Handbuch der Biochemie, 2. Aufl., Bd. 5, S. 687—738. 1925. — **Foster, A. O.:** On a probable relationship between anemia and susceptibility to hookworm infection. Amer. J. Hyg. **24**, 109—128 (1936). — **Foster, A. O. and W. W. Cort:** The effect of a deficient diet on the susceptibility of dogs and cats to non-specific strains of hookworms. Amer. J. Hyg. **16**, 582—601 (1932). — **Fourie, P. J. J.:** The haematology and pathology of haemonchosis in sheep. 17<sup>th</sup> Rep. Direct. vet. serv. anim. indust., Onderstepoort, T. 2, p. 495—572. 1931. — **Fraser, A. H. H., D. Robertson and J. E. Ritchie:** The effect of salting pasture on the incidence of stomach worms in sheep. J. of Helminth. **14**, 101—106 (1936). — **Giovannola, A.:** Die Glykogenreaktionen nach Best und nach Bauer in ihrer Anwendung auf Protozoen. Arch. Protistenkunde **83**, 270—274 (1934). — **Goodey, T.:** Observations on the ensheathed larvae of some parasitic Nematodes. Ann. of appl. Biol. **9**, 33—48 (1922). — **Harnisch, O.:** Daten zur Beurteilung des Sauerstoffverbrauchs von *Ascaris lumbricoides* (nach Messungen an isolierten Organen). Z. vergl. Physiol. **22** (1935). — **Kauzal, G. P.:** A preliminary study of the pathogenic effect of *Nematodirus* spp. in sheep. Austral. vet. J. **13**, 120—123 (1937). — **Kerr, K. B.:** Acquired immunity to dog hookworm, *Ancylostoma caninum*. Amer. J. Hyg. **24**, 381—403 (1936). — **Lapage, G.:** Nematodes parasitic in animals. London: Methuen & Co. 1937. — **Mueller, J.:** Studies on the microscopic anatomy and physiology of *Ascaris*. Z. Zellforsch. **8**, 361—403 (1929). — **Sarles, M. P.:** Development of an acquired resistance in rabbits by repeated infection with an intestinal nematode, *Trichostrongylus calcaratus* Ransom, 1911. J. of Parasitol. **19**, 61—82 (1932). — **Sarles, M. P. and W. H. Taliaferro:** The local points of defense and the passive transfer of acquired immunity to *Nippostrongylus muris* in rats. J. inf. Dis. **59**, 207—220 (1936). — **Schuermans Stekhoven, J. H.:** Die Probleme der Nahrungsaufnahme und Verdauung. — **Schuermans Stekhoven, J. H. u. P. J. Botman:** Zur Ernährungsbiologie von *Proleptus obtusus* Duj. und die von diesem Parasiten hervorgerufenen reaktiven Änderungen des Wirtsgewebes. Z. Parasitenkunde **4**, 220—239 (1932). — **Stewart, J.:** The effects of Nematode infestations on the metabolism of the host. 3<sup>rd</sup> Rep. Direkt. Univ. Cambridge, Inst. Animal Path., p. 58—86. 1933. — **Tetley, J. H.:** Ecological studies on *Nematodirus* species in sheep in Manawatu district, New Zealand. J. of Helminth. **13**, 41—58 (1935). — **Waele, A. de:** Recherches sur les migrations des Cestodes. Bull. Acad. roy. Belg., Cl. Sci., V. s. **19**, 649—660, 837—848, 1126—1135 (1933); **20**, 910—921 (1934); **21**, 628—641 (1935). — **Wagner, O.:** Z. Immun.forsch. **78**, 372—382 (1933). **Wells, H. S.:** Observations on the blood sucking activities of the hookworm, *Ancylostoma caninum*. J. of Parasitol. **17**, 167—182 (1931). — **Wetzel, R.:** Zur Ernährungsweise und pathogenen Wirkung der kleinen Strongyliden der Pferde. Mießner-Festschr., S. 219—233. 1930. — **Wetzel, R. u. K. Enigk:** Zur Biologie von *Graphidium strigosum*, dem Magenwurm der Hasen und Kaninchen. Dtsch. tierärztl. Wschr. **1937 I**, 401—405.