Zeitschrift: Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires

Herausgeber: Gesellschaft Schweizer Tierärztinnen und Tierärzte

Band: 101 (1959)

Heft: 3

Artikel: Kultureller Nachweis von Brucellen aus mikroskopisch (Köster) negativen Rindernachgeburten

Autor: Bürki, Franz

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-589334

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist die Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften auf E-Periodica. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Zeitschriften und ist nicht verantwortlich für deren Inhalte. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern beziehungsweise den externen Rechteinhabern. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen sowie auf Social Media-Kanälen oder Webseiten ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Mehr erfahren

Conditions d'utilisation

L'ETH Library est le fournisseur des revues numérisées. Elle ne détient aucun droit d'auteur sur les revues et n'est pas responsable de leur contenu. En règle générale, les droits sont détenus par les éditeurs ou les détenteurs de droits externes. La reproduction d'images dans des publications imprimées ou en ligne ainsi que sur des canaux de médias sociaux ou des sites web n'est autorisée qu'avec l'accord préalable des détenteurs des droits. En savoir plus

Terms of use

The ETH Library is the provider of the digitised journals. It does not own any copyrights to the journals and is not responsible for their content. The rights usually lie with the publishers or the external rights holders. Publishing images in print and online publications, as well as on social media channels or websites, is only permitted with the prior consent of the rights holders. Find out more

Download PDF: 09.07.2025

ETH-Bibliothek Zürich, E-Periodica, https://www.e-periodica.ch

Schweizer Archiv für Tierheilkunde

Herausgegeben von der Gesellschaft Schweizerischer Tierärzte

Band 101 · Heft 3 · März 1959

Aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Bern
(Direktor: Professor Dr. G. Schmid †)

Kultureller Nachweis von Brucellen aus mikroskopisch (Köster) negativen Rindernachgeburten

1. Biochemie, Typisierung und Virulenzprüfung isolierter Stämme

Von Franz Bürki

Das Milieu « W » [7] ist eines der beschriebenen Kulturmedien, welches dank seiner Hemmstoffe eine weitgehend selektive Züchtung von Brucellen aus kontaminiertem Material gestattet. Es findet in der Schweiz seit längerer Zeit breite Anwendung zur Erfassung von Bang-Milchausscheiderinnen. Herr Professor Schmid veranlaßte seinerzeit, auch sämtliche in seinem Institut eingehenden Rindernachgeburten auf dem Milieu « W » in CO_2-Atmosphäre zu kultivieren, vom Wunsche ausgehend, die hierzulande übliche Untersuchung mittels der Kösterfärbung durch ein Verfahren zu ergänzen, von dem er eine größere Schärfe erwartete.

In der Tat wurden bald einmal verschiedene Kulturen von Köster-negativen Nachgeburten als positiv bewertet und den Kontrolltierärzten als zusätzlich erfaßte Fälle von Rinderabortus Bang mitgeteilt. Darauf gingen mehrere Meldungen ein, die lediglich kulturell als Bang-positiv ermittelten Tiere stünden in Bangfreien Beständen. Sogleich angeordnete Nachkontrollen von Blut- und Milchproben der betreffenden Tiere boten serologisch tatsächlich keine Anhaltspunkte für eine stattgehabte Brucelleninfektion. Die isolierten Stämme standen zu einer Nachkontrolle nicht mehr zur Verfügung.

Es entsprach nun dem Forschergeiste Professor Schmids, die beschriebene kulturelle Untersuchung von Rinderplazenten nicht einfach als wertlos abzuschreiben. Vielmehr vermutete er, kulturell entweder Varianten bzw. Mutanten von Brucellen erfaßt zu haben, welche sich auf Grund einer besonderen antigenen Beschaffenheit der üblichen serologischen Diagnostik entzögen, oder dann eine Keimart, welche zufolge gemeinsamer morphologischer, tinktorieller und kultureller Merkmale leicht mit Brucellen zu verwechseln war. Falls sich eine dieser

Ansichten bewahrheiten sollte, waren Auswirkungen auf die Bekämpfung des Rinderabortus Bang zu erwarten. So erhielten wir den Auftrag, künftig anfallende Stämme lediglich kulturell «positiver» Fälle zu sammeln und zu prüfen. Auf eine Orientierung der Praxis über erfolgreiche Isolierungen wurde angesichts der ungenügend gestützten Diagnose verzichtet.

Anläßlich des gänzlich unerwarteten Todes von Professor Schmid befanden wir uns erst im Stadium des Sammelns von Fällen. Wir erachteten es jedoch als eine vornehme Verpflichtung, die Prüfung der angefallenen 23 Stämme auch nach seinem Tode an die Hand zu nehmen. Dabei ergab sich zunächst, daß sie ausnahmslos der Gattung Brucella zugeordnet werden konnten. Diese Untersuchungen, sowie die Ergebnisse der anschließend durchgeführten Typisierung und Virulenzprüfung sind in der vorliegenden 1. Arbeit erörtert. Wir entschlossen uns dann, unsere Erhebungen auf serologische und epidemiologische Fragen zu erweitern. Auf einem Fragebogen baten wir die Kontrolltierärzte um bestimmte Angaben betreffend Tier und Bestand, sowie um die Einsendung einer Blut- und Milchprobe der nicht inzwischen geschlachteten Tiere. Die mittlerweile erfolgte Identifizierung der isolierten Keime als Brucellen wurde vorerst nicht erwähnt, um die Kontrolltierärzte in der Beurteilung der Bestandesseuchenanlage nicht zu beeinflussen. Wir glauben, es der engen Beziehung des Verstorbenen zu den Kollegen in der Praxis zuschreiben zu dürfen, daß letztere so zahlreich unserem Ersuchen stattgaben. Ihre Angaben und die Unterlagen aus unserer Bangkartei wurden ergänzt durch die nunmehrigen Erhebungen an den erbetenen Blut- und Milchproben, was in zahlreichen Fällen bestimmte enzootologische Zusammenhänge in Erscheinung treten ließ. Diese werden wir in einer 2. Arbeit gesondert darlegen. Wir hoffen, damit gleichzeitig Herrn Professor Schmid ein ehrendes Andenken zu setzen und einen Beitrag zur weitschichtigen Frage des Rinderabortus Bang zu leisten.

Methodik

Von sämtlichen eingehenden Nachgeburtsproben wurde, ungeachtet der Beurteilung mittels der Kösterfärbung, je eine Kultur auf dem Milieu «W» angelegt, welche sodann während 5 Tagen in 10%iger CO_2-Atmosphäre bei 37° C bebrütet wurde. Bangverdächtige Kolonien wurden im Ausstrichpräparat mikroskopisch beurteilt und, falls Gram-negativ, Köster-labil, sowie morphologisch Brucella-ähnlich, auf je 2 Röhrchen Tryptoseschrägagar überimpft. Je 1 Röhrchen wurde hierauf aerob bzw. in CO_2-Atmosphäre bebrütet. Mit der so gewonnen Reinkultur wurden Probeagglutinationen auf dem Objektivträger vorgenommen, wobei ein Bang-positives Hyperimmunserum vom Kaninchen in adäquater Verdünnung einerseits, ein Kaninchen-Normalserum andererseits Verwendung fanden. Bei Stämmen, deren Probeagglutination mit dem ersteren Serum positiv ausfiel, wurde das Röhrchen mit verflüssigtem Paraffin verschlossen und anschließend bei + 4° C gehalten. Alle 2 Monate wurden die angefallenen Stämme auf Tryptoseschrägagar überimpft, wobei die in der ersten Subkultur CO_2-dependenten stets in CO_2-Atmosphäre kultiviert wurden, die andern aerob.

Für die nachstehend erörterten biochemischen und serologischen Arbeiten standen die Stämme je nach dem Zeitpunkt der Isolierung, in der 2., resp. 3. oder 4. Passage

zur Verfügung. Sie wurden gesamthaft noch einmal überimpft, wobei pro Stamm je 2 Platten *Albimi*-Brucellaagar ohne Hemmstoff verwendet wurden. Es zeigte sich, daß die primär CO_2-dependenten Stämme dank der langfristig gewählten Passageintervalle noch weitgehend auf die Anwesenheit von CO_2 zur erfolgreichen Kultivierung angewiesen waren. Für alle Hauptversuche dienten S-Kolonien der so erhaltenen Subkultur.

Biochemische Bestimmungen

Sämtliche Biochemie-Medien wurden während 14 Tagen bei 37° C bebrütet. Die erhaltenen Ergebnisse werden nachstehend global besprochen, soweit sie für sämtliche Stämme gleichsinnig ausfielen. Zu Kontrollzwecken dienten dieselben Stämme wie in der Tabelle 1.

Schrägagar und Blutschrägagar: primär aerobe Stämme wuchsen gut, CO_2-dependente nicht oder sehr geringgradig, je nach der Zahl der vorangegangenen Kulturpassagen.

Serumbouillon: alle Stämme zeigten gutes Wachstum mit scholligem Bodensatz.

Milch wurde von keinem Stamm zur Gerinnung gebracht, Lackmusmilch erfuhr durch sämtliche Stämme eine Alkalisierung.

Ureabouillon nach Kristensen [6] zeigte bei sämtlichen Stämmen rasch eine hochgradige Ureaseaktivität an.

Eine Indolbildung ließ sich mittels Bacto-Tryptone *Difco* bei keinem Stamm nachweisen.

Zur Prüfung der Nitratreduktion verwendeten wir Medien und Reagenzien nach Kauffmann [5]. Eine erstmalige nach 2- bis 3tägiger Bebrütung vorgenommene Nitritprobe fiel unterschiedlich aus, was wir auf die Beobachtung von Zobell und Meyer [11] zurückführten, wonach Nitrate durch Brucellen oft über Nitrite hinaus abgebaut werden. Durch eine frühzeitige Prüfung der Nitritreaktion an raschwüchsigen Stämmen war es uns dann möglich, an sämtlichen geprüften positive Ergebnisse zu erhalten, mit Ausnahme von zweien, dem Stamm von Fall 3 und dem Kontrollstamm Buck 19. Im Falle 3 ergab die Typisierung das Vorliegen von Br. melitensis sive intermedia. Bereits im Jahre 1937 hatten Zobell und Meyer [11] darauf hingewiesen, daß die Nitratreduktion ein Kriterium zur Differenzierung von Brucellatypen darstelle. Pickett et al. fanden, daß die Nitratreduktion ihrer Melitensis-Stämme sehr gering [8] aber doch nicht im qualitativen Sinne als für Br. melitensis negativ zu bezeichnen sei [9]. Immerhin kann der negative Ausfall der Nitritprobe als ein zusätzliches Kriterium für die später erfolgte Typisierung gewertet werden.

Kohlenhydratmedien wurden mit Liebig's Fleischextrakt und Zusätzen der Marke *Merck* nach dem Rezept von Kauffmann [5] hergestellt. Darin konnten die primär CO_2-dependenten Stämme zum Wachstum gebracht werden, wenn die beimpften Röhrchen zunächst während etwa 4 Tagen in CO_2-Atmosphäre gestellt wurden. Diese bewirkte zwar eine leichtgradige Säuerung der Kulturmedien, doch hatte das bekannt stark aminolytische

Verhalten der Brucellen nach wenigen Tagen zusätzlicher aerober Bebrütung einen eindeutigen Umschlag des Bromthymolblau-Indikators nach der alkalischen Seite zur Folge. Nach total 14tägiger Inkubation wurde nirgends eine morphologisch sichtbare Säure- oder Gasbildung ermittelt an obigem Grundsubstrat mit den Zusätzen von Laktose, d-Mannit, d-Glukose, dl-Dulcit, Salicin, m-Inosit, Saccharose, l-Arabinose, Maltose, Rhamnose, d-Sorbit, Inulin, d-Galaktose. Sämtliche Stämme erwiesen sich als unbeweglich bei der Prüfung in Stichkultur(erforderlichenfalls in CO_2-Milieu) in einem Medium, welches nebst Nährbouillon 0,225 % Agar enthält.

Auch die Gelatine wurde während 14 Tagen bei 37 ° C bebrütet, abschließend bei + 4 ° C verfestigt. Keiner der verwendeten Stämme hatte sie verflüssigt.

Die aus Köster-negativen Rinderplazenten isolierten Stämme verhielten sich demnach biochemisch wie bekannte Brucella-Stämme und zeigten Reaktionen, wie sie in Bergey's Manual of Determinative Bacteriology für das Genus Brucella beschrieben sind. Diese Befunde und die im Tierversuch (s. unten) demonstrierte antigene Verwandtschaft zu Brucella gestatteten mithin ihre Zuweisung zu dieser Gattung. Durch die Heranziehung einer Reihe bekannter Testkriterien vollzogen wir ihre Typisierung.

Typisierung

Bereits im Abschnitt «Methodik» wurden die experimentellen Gegebenheiten zur Prüfung der CO_2-Dependenz diskutiert, wie auch die Technik der Schnellagglutination. Die erhaltenen Ergebnisse sind in der Tabelle 1 aufgeführt. Alle weiteren Tests erfolgten unter Wahrung der CO_2-Dependenz für die primär CO_2-bedürftigen Stämme, bzw. unter aeroben Bedingungen für die übrigen Stämme.

Die Prüfung auf Farbstoffempfindlichkeit erfolgte auf hemmstoffreien Platten von *Albimi*-Brucellaagar. Den mit einem Drigalskyspatel beimpften Kulturen wurden Fuchsin- bzw. Thionin-haltige «sensitivity tablets» der *Roskilde* Medical Company aufgelegt. Die Durchmesser der nach 72stündiger Inkubation bei 37 ° C gemessenen Hemmhöfe sind aus der Tabelle 1 ersichtlich.

Petragnanimedien wurden mit bzw. ohne Zusatz von Malachitgrün hergestellt und nach 5tägiger Bebrütung beurteilt. Außer den beiden Kontrollstämmen von Brucella intermedia wuchs auf ihnen, wie aus der Tabelle 1 ersichtlich, einzig der Stamm unseres Falles 3.

Das Vermögen zur H_2S-Bildung wurde an Tryptoseschrägagarkulturen mittels Bleiazetatstreifen verfolgt, welche zur Gewinnung quantitativer Anhaltspunkte an 4 aufeinanderfolgenden Tagen ausgewechselt wurden.

Eine Gesamtwertung der Tabelle 1 läßt erkennen, daß die unten aufgeführten Kontrollstämme die erwarteten Typisierungskriterien erfüllten. Verschiedene alte Laborstämme von Brucella abortus verhielten sich wie die Stämme Buck 19 und Weybridge 99, welche in der Tabelle 1 als deren

Tabelle 1

Zusammenstellung der Ergebnisse verschiedener Typisierungskriterien und der Prüfung auf Katalaseaktivität

Stamm bzw. Fall	1. Subkultur		Schnellagglutination		Hemmhof Fuchsin-Tablette ∅ in mm	Hemmhof Thionin-Tablette ∅ in mm	Wachstum auf Petragnanimedium		H_2S-Bildung in Tagen	Katalasezahl nach 15 Minuten
	TA/O_2	TA/CO_2	Bang-pos. Serum	Bang-neg. Serum			mit Malachitgrün	ohne Malachitgrün		
1	—	+	+	—	12	28	—	—	2	180
2	—	+	+	—	12	28	—	—	2	150
3	+	+	+	—	16	20	+	+	(1)	20
4	—	+	+	—	12	24	—	—	1	130
5	—	+	+	—	12	28	—	—	1	150
6	—	+	+	—	12	26	—	—	2	200
7	—	+	+	—	14	24	—	—	2	150
8	—	+	+	—	12	26	—	—	2	200
9	—	+	+	—	14	30	—	—	2	200
10	—	+	+	—	12	28	—	—	2	160
11	—	+	+	—	16	28	—	—	1	200
12	—	+	+	—	12	28	—	—	1	150
13	—	+	+	—	10	26	—	—	2	190
14	—	+	+	—	12	24	—	—	2	180
15	—	+	+	—	14	26	—	—	2	45
16	—	+	+	—	12	25	—	—	2	150
17	—	+	+	—	14	28	—	—	1	200
18	—	+	+	—	12	26	—	—	1	200
19	—	+	+	—	12	24	—	—	(1)	170
20	—	+	+	—	12	24	—	—	1	160
21	—	+	+	—	12	28	—	—	2	170
22	—	+	+	—	12	26	—	—	1	110
23	—	+	+	—	14	30	—	—	0	170
Kontrollen:										
Buck 19	+	+	+	—	18	24	—	—	1	50
Weybridge 99	+	+	+	—	20	30	—	—	1	/
M 3398	—	+	+	—	12	30	—	—	2	/
M 3400	+	+	+	—	12	24	—	—	2	/
Br. intermedia 582	+	+	+	—	16	18	+	+	0	/
Br. intermedia 2932	+	+	+	—	14	16	+	+	0	/

Legende: TA/O_2 — = Wachstum auf Tryptoseschrägagar aerob negativ
TA/CO_2 + = Wachstum auf Tryptoseschrägagar in CO_2-Atmosphäre positiv
H_2S-Bildung 2 = deutlich während 2 Tagen
H_2S-Bildung (1) = geringgradig während 1 Tag
Katalasezahl 150 = Wert 150 gemäß Eichung des Roederröhrchens

Repräsentanten erwähnt sind. Unter 6 von uns aus laufend eingehenden serologisch Bang-positiven Kuhmilchproben isolierten Stämmen von Brucella abortus befand sich neben 5 typischen, primär CO_2-dependenten Vertretern (Beispiel M 3398/58) der primär aerobe Stamm M 3400/58. Die beiden Brucella-intermedia-Stämme hatte uns Sackmann in freundlicher Weise zur Verfügung gestellt, wofür ihm auch an dieser Stelle gedankt sei. Sie stammten aus Milchproben einer Ziege aus dem Kanton Tessin bzw. einer Kuh aus dem Kanton Wallis.

Von den 23 durch uns kulturell aus Köster-negativen Rinderplazenten isolierten Brucellastämmen erwiesen sich nach der Tabelle 1 deren 22 als primär CO_2-dependente Vertreter von Brucella abortus Typ I. Den Stamm von Fall 3 möchten wir dagegen als Brucella intermedia ansprechen. Brucella intermedia zeigt nach Renoux [10] Kulturmerkmale von Brucella melitensis, dagegen ein antigenes Verhalten wie Brucella abortus. Bürgisser [1] konnte 1955 in der Südwestschweiz isolierte Stämme auf Grund solcher Eigenschaften als Vetreter von Brucella intermedia charakterisieren. Brucella melitensis wurde unseres Wissens auf dem Gebiete der Schweiz bislang nicht nachgewiesen.

Keiner der isolierten 23 Stämme war auf Grund seiner Merkmale als Impfstamm Buck 19 anzusprechen, was hervorgehoben sei im Hinblick auf die in der 2. Arbeit bei einem Teil der Tiere anamnestisch angegebene Vakzinierung.

Prüfung der Virulenz

Auf die Zusammenhänge zwischen Virulenz und Epidemiologie werden wir in der 2. Arbeit eingehen. Das methodische Vorgehen sei jedoch hier dargelegt, da es, als Laboratoriumsuntersuchung, thematisch zur vorliegenden Arbeit gehört. Die Prüfung der Virulenz erfolgte zuerst an sämtlichen Stämmen in vitro, an ausgewählten anschließend zusätzlich im Tierversuch.

Nach den Angaben von Huddleson [4] stellt die Bestimmung der Katalaseaktivität von Brucellastämmen eine wertvolle Methode dar, um Anhaltspunkte über deren Virulenz in vitro zu gewinnen. Statt der arbeitsintensiven Originalmethode von Huddleson [4] benützten wir eine einfachere, welche, wie sich in der Folge herausstellte, eine gute Übereinstimmung mit dem Virulenztest am Meerschweinchen ergab. Wir überimpften S-Kolonien auf Tryptoseschrägagar, schwemmten nach 48stündiger Bebrütung mit Peptonwasser ab und stellten nephelometrisch Keimsuspensionen von 0,04 Vol% Dichte her. Aus der Mastitisdiagnostik übernahmen wir nunmehr Rœder-Röhrchen, Thybromolkatalasereagens und Katalasezahl in der Weise, daß wir (nach entsprechenden Vorversuchen) zu je 10 cc obiger Suspension einen cc Reagens zusetzten und nach 15 Minuten die Menge des enzymatisch freigelegten Sauerstoffs maßen. Die erhaltenen Katalasezahlen unserer 23 Stämme sowie des zu Vergleichszwecken geprüften Impfstammes Buck 19 sind in der Tabelle 1 aufgeführt.

Wie aus der Tabelle 1 hervorgeht, lieferten 12 von 23 Stämmen eine hohe Katalasezahl von 170–200, welche auf einen hohen Virulenzgrad hinweist.

Weitere 9 Stämme zeigten mittelgradige Katalasezahlen und lediglich 2 hatten niedrige, von der Größenordnung der Buck-19-Suspension.

Gestützt auf diese Ergebnisse und unter Berücksichtigung von Erhebungen in unserer 2. Arbeit, wählten wir 6 Stämme aus, deren Virulenz zusätzlich am Meerschweinchen bestimmt werden sollte.

Fall 1: Stamm aus frisch infiziertem Tier und frisch infiziertem Bestand isoliert; hoher Virulenzgrad erwartet auf Grund der Anamnese und der starken Katalaseaktivität.

Fall 3: Stamm als Brucella intermedia bestimmt, dabei von ausgesprochen schwacher Katalaseaktivität.

Fall 5: Stamm aus einem Bestand isoliert, in welchem die Banginfektion im Abklingen. Gestützt darauf und auf lediglich mittelgradige Katalaseaktivität reduzierte Virulenz erwartet.

Fall 14: Stamm aus anamnestisch Bang-negativem Bestand und Buck-geimpftem Tier; Katalaseaktivität hochgradig.

Fall 15: Stamm aus anamnestisch Bang-negativem Bestand; Tier nicht Buck-geimpft; Katalaseaktivität auffallend schwach.

Fall 17: Stamm aus anamnestisch Bang-negativem Bestand mit Blut- und Milchserologisch durchwegs negativen Tieren; dabei von hochgradiger Katalaseaktivität.

Nach Huddleson [4] genügen weniger als hundert lebende Brucellen eines hoch virulenten Stammes, um im Meerschweinchen sichtbare Organveränderungen zu erzeugen. Andererseits sind mehr als 1 Million lebender Keime des Vakzinestammes Buck 19 erforderlich, um in diesem Versuchstiere eine haftende Infektion zu setzen. In eigenen Versuchen genügten seinerseits 2 bzw. 200 lebende Brucellen eines virulenten Stammes [2], um bei Meerschweinchen eine pathologisch-anatomisch, serologisch und kulturell nachweisbare Banginfektion zu erzeugen. Der Impfstamm Buck 19 hinterließ dagegen in der Infektionsgröße von 1 Milliarde lebender Keime nach 6 Wochen Versuchsdauer lediglich positive Bluttiter [3].

Davon ausgehend, stellten wir uns von den ausgewählten Stämmen je 3 Infektionsgrößen her, welche gemäß der Bestimmung in der Gußkultur 30, 3000 resp. 3 Millionen lebender Keime enthielten. Pro Infektionsgröße wurden je 2 Meerschweinchen von 350–450 g Gewicht subkutan in die Schenkelfalte infiziert, also für jeden Stamm total 6 Tiere. Diese wurden nach Ablauf von 6 Wochen getötet, wobei folgende Befunde registriert wurden: die grobsinnlich wahrnehmbaren Organveränderungen an Leber und Milz; das graduelle Wachstum von Brucellen auf der Milzkultur nach Beimpfung des Milieus «W» mittels der Huddleson-Technik; der Gehalt des Blutserums an Agglutininen einerseits gegenüber dem Antigen Weybridge 99, andererseits gegenüber dem homologen Infektionsstamm.

Homologe Antigene wurden gewonnen, indem die für die Virulenztests hergestellten Keimsuspensionen (in adäquater Dichte) zwecks Abtötung ad 0,5% phenolisiert wurden. In einem Vorversuch hatte sich gezeigt, daß ein Gehalt von 0,05% Pepton *Merck* sich auf die Agglutination nicht nachteilig auswirkte.

Die doppelt ausgeführte Langsamagglutination sollte uns Antwort geben auf die Frage, ob die in der 2. Arbeit zusammengestellten, fast durchwegs negativen Titer der Kühe, aus deren Nachgeburt die zur Diskussion stehen-

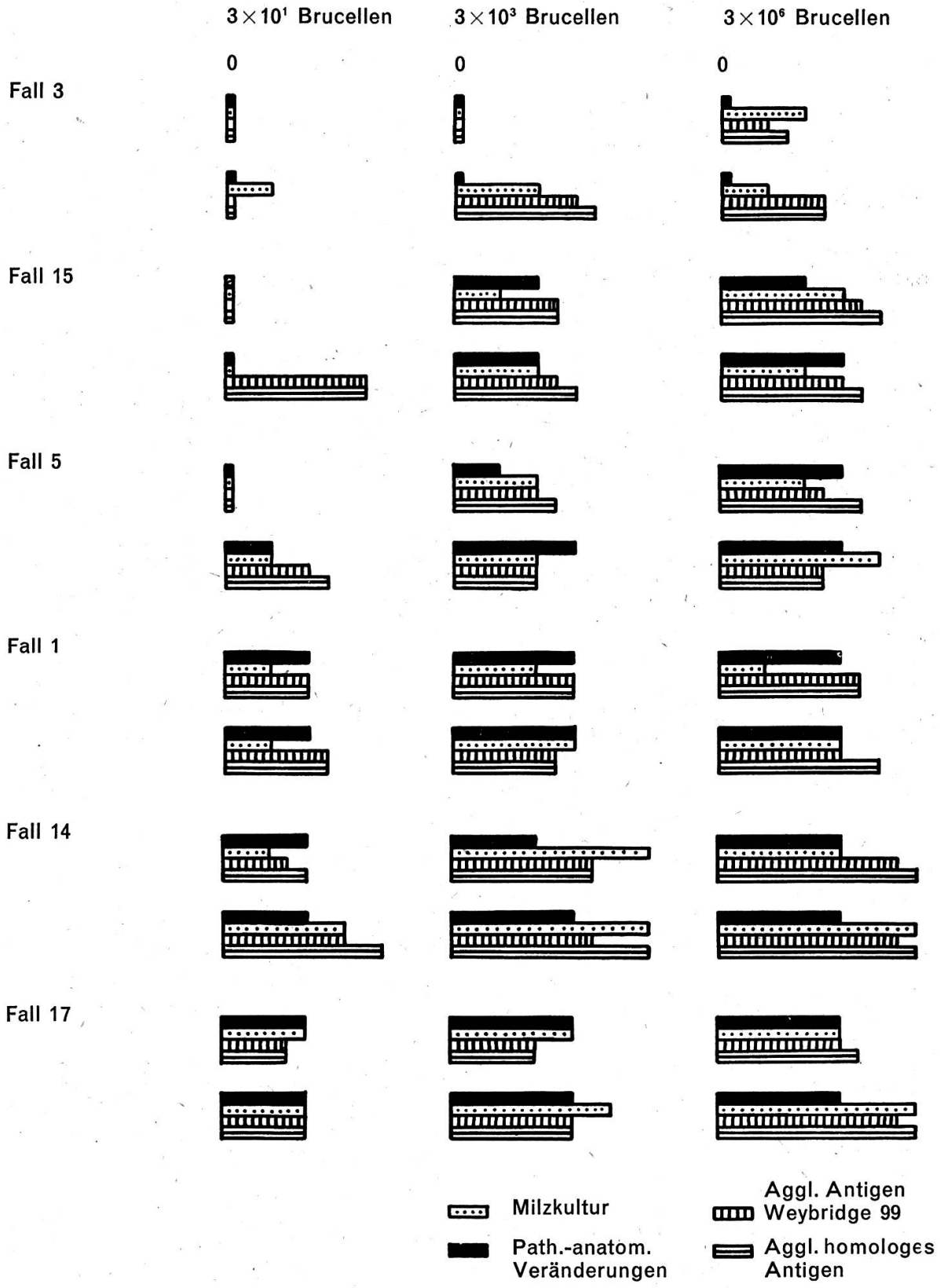

Abb. 1. Graphische Darstellung der Virulenzprüfung von 6 Brucellastämmen an Meerschweinchen, sowie der im Blutserum der Versuchstiere mittels homologer bzw. heterologer Antigene nachgewiesenen Agglutinine.

den Stämme isoliert worden waren, auf antigene Unzulänglichkeiten des Antigens Weybridge 99 zurückzuführen seien. Die erhaltenen Ergebnisse sind nachstehend graphisch dargestellt.

In der Abbildung 1 sind die ausgewählten 6 Stämme nach steigender Katalaseaktivität angeordnet. Es ist leicht ersichtlich, daß die Beantwortung der gesetzten Infektionen auch durch die Meerschweinchen graduell in derselben Reihenfolge ausfiel. Einzig die beiden untersten Fälle, beides Stämme mit hochpositivem Katalasetest, haben Platz getauscht.

Der am schwächsten virulente Stamm des Falles 3 ließ sich bei keinem der 6 infizierten Meerschweinchen kulturell in der Milz nachweisen. Immerhin beantworteten 3 von 6 Tieren den gesetzten Infekt mit der Bildung von eindeutig nachweisbaren Agglutininen. Da aus den Versuchen Huddleson's [4] bekannt ist, daß die Virulenz mit steigender Dissoziation von smooth nach rough abnimmt, prüften wir nachträglich den betreffenden Stamm auf R-Eigenschaften. Dabei bestätigten sowohl der negative Ausfall der Thermoagglutination als auch des Trypaflavintests, nebst der Tatsache, daß Meerschweinchen Agglutinine gebildet hatten, daß es sich hier tatsächlich um einen in S-Form vorliegenden Stamm von geringer Virulenz handelte. Beim Fall 15 wurden 4 positive Milzkulturen an 5 von 6 agglutinatorisch positiven Meerschweinchen ermittelt. Der nächsthöhere Grad von Virulenz des Stammes von Fall 5 führte zu 5 von total 6 sowohl kulturell als auch serologisch positiven Ergebnissen, wogegen ein Meerschweinchen offensichtlich gegen die niedrigste Infektionsgröße von 30 Keimen resistent war.

Die übrigen 3 stark Katalase-aktiven Stämme setzten in allen Meerschweinchen kulturell und serologisch nachweisbare Infekte. Graduell lassen sich sowohl von Stamm zu Stamm als auch zwischen den 2 kleineren Infektionsgrößen ein und desselben Stammes feinere Unterschiede erkennen, auf die wir jedoch, angesichts der kleinen verwendeten Tierzahl und der damit möglichen Zufälligkeiten, nicht viel Gewicht legen möchten.

Als wesentlich werten wir die Feststellung, daß das Antigen Weybridge 99 sich als ein zuverlässiges Diagnostikum erwiesen hat. Es versagte in keinem einzigen Fall, wo die Agglutination mit dem homologen Antigen positiv ausfiel, und lieferte dieselben oder nur leicht niedrigere Titer. Die aufgeworfene Frage, ob es sich bei den untersuchten Brucella-Stämmen um Varianten oder Mutanten handle, deren Antikörper sich mit Hilfe des Antigens Weybridge 99 nicht nachweisen ließen, kann entsprechend verneint werden. Unterstützt wird dieser Befund durch ähnliche Ergebnisse an den in Frage stehenden Kühen, welche in der 2. Arbeit aufgeführt sind.

Diskussion

Die 23 näher untersuchten Stämme, welche durch Kultur auf dem Milieu «W» aus Köster-negativen Plazenten vom Rind erhalten worden waren, können auf Grund verschiedener Kriterien der Gattung Brucella zugeordnet

werden. Ihr biochemisches Verhalten entspricht dem für das Genus Brucella beschriebenen, welches im Experiment auch von bekannten Kontrollstämmen gezeigt wird. Ihr antigenes Verhalten ist das folgende: Sie werden ausnahmslos durch ein Bang-positives Hyperimmunserum vom Kaninchen agglutiniert. Ausgewählte Vertreter erzeugen im Meerschweinchen hohe Agglutinintiter nicht nur gegen den homologen Infektionsstamm, sondern auch gegen das Antigen Weybridge 99. Die letztere Beobachtung gestattet die Verneinung einer eingangs geäußerten Hypothese, wonach das Vorliegen antigener Varianten oder Mutanten für die meist negativen serologischen Resultate an den Rindern, aus denen die betreffenden Stämme isoliert worden waren, verantwortlich sei.

Bei 22 von 23 Stämmen ergab die Typisierung das Vorliegen von Brucella abortus, während ein Stamm als Brucella intermedia (kulturelle Typisierungsmerkmale wie Brucella melitensis) anzusprechen ist. Keiner der isolierten Stämme wies die Merkmale des Impfstammes Buck 19 auf, obschon eine Anzahl aus bekannterweise vakzinierten Tieren stammte.

Bei der Mehrzahl der isolierten Stämme wurde eine hochgradige bis mittelgradige Virulenz ermittelt, worauf wir im Zusammenhang mit epidemiologischen Fragen in der 2. Arbeit näher eintreten werden. Ein modifizierter In-vitro-Katalasetest ergab gute Übereinstimmung bezüglich des Virulenzgrades mit den ausgeführten Meerschweinchenversuchen.

Zusammenfassung

Bei 23 blut- und milchserologisch meist negativen Rindern, deren Nachgeburt auf Grund der Kösterfärbung als Bang-negativ taxiert worden war, wurden mittels Kultur auf dem Milieu «W» Stämme isoliert, welche zufolge ihres biochemischen und antigenen Verhaltens der Gattung Brucella zugeordnet werden. Bei der Typisierung erweisen sich 22 Vertreter als Brucella abortus, einer als Brucella intermedia. Kein Stamm zeigt die Merkmale des Impfstammes Buck 19, wiewohl eine Anzahl der Tiere vakziniert worden war. In überwiegender Zahl liegen Stämme von hoher bis mittelgradiger Virulenz vor.

Résumé

On a isolé par culture chez 23 bovins à sang et lait le plus souvent sérologiquement négatifs et dont les arrières-faix ont été taxés de Bang-négatifs (coloration de Köster), des souches sur milieu «W» qui, par suite de leur comportement biochimique et antigénique ont pu être attribués à l'espèce brucella. La détermination des types a indiqué 22 représentants de brucella abortus et 1 de brucella intermedia. Aucune souche ne présente les caractéristiques de la souche de vaccin Buck 19, bien qu'un certain nombre des animaux ait été vacciné. On se trouve en présence, dans la majorité des cas, de souches à virulence élevée à moyenne.

Riassunto

In 23 manze, per lo più sierologicamente negative nel sangue e nel latte e le cui placente erano state considerate negative al Bang sulle basi della colorazione Köster,

mediante colture sul terreno «W» sono stati isolati dei ceppi che riguardo al loro comportamento biochimico ed antigene sono assegnati alla specie brucella. Nella determinazione dei tipi, 22 corrispondono alla brucella abortus ed uno alla brucella intermedia. Nessun ceppo presenta i caratteri del Buck 19, sebbene un certo numero di animali erano stati vaccinati con tale ceppo. In prevalenza si tratta di ceppi con virulenza da elevata a media.

Summary

In 23 cattle, which were mostly negative with the blood and milk serum, and with the Köster stainig of the after birth as well, the culture on the medium «W» produced microbes which according to their biochemical and antigenic character were recognized as «brucella». 22 strains belonged to the species brucella abortus, one strain as brucella intermedia. None had any characteristics of Buck 19, though some animals had been vaccinated. Most of the strains were of high or medium virulence.

Herrn Dr. K. Birn, Frl. G. Schmer und Frl. E. Stucki sind wir für ihre technische Mitarbeit zu großem Dank verpflichtet.

Schrifttum

[1] Bürgisser H.: Schweiz. Arch. Tierheilkunde, *97*, 548, 1955. – [2] Bürki F.: Arch. Exp. Vet. Med. *11*, 342, 1957. – [3] Bürki F.: Zbl. Vet. Med. *4*, 573, 1957. – [4] Huddleson J. F.: Brucellosis in man and animals. The Commonwealth Fund, New York, 1943. – [5] Kauffmann F.: Enterobacteriaceae, Munksgaard, Kopenhagen. 2. Aufl. 1954. – [6] Kristensen M.: zit. nach F. Kauffmann. – [7] Kuzdas C. D. und E. V. Morse: J. Bact. *66*, 502, 1953. – [8] Pickett M. J., E. L. Nelson, R. E. Hoyt, B. E. Eisenstein: J. Lab. and Clin. Med. *40*, 200, 1952. – [9] Pickett M. J. and E. L. Nelson: J. Bact. *68*, 63, 1954. – [10] Renoux G.: Ann. Inst. Pasteur *83*, 814, 1952; zit. nach H. Bürgisser. – [11] Zobell C. E. and K. F. Meyer: J. Inf. Dis. *51*, 109, 1932: zit. nach J. F. Huddleson.

Aus dem Veterinär-Pathologischen Institut der Universität Zürich
Direktor: Prof. Dr. H. Stünzi

Raubmilben (Cheyletiella parasitivorax) als akzidentelle Hautparasiten bei der Katze

Von H. B. Niggli und E. Teuscher

Als Raubmilben wurden von Kuscher (1940) Milben der Gattung Cheyletiella bezeichnet, welche von ihm bei einem Hund beobachtet wurden. Die Milbe wurde von Mégnin 1878 zum erstenmal beschrieben. Er nannte sie Cheyletus parasitivorax, weil sie sich im Pelz vom Kaninchen von einem anderen Parasiten, Listrophorus gibbus, ernähren soll. Später wurden die parasitischen Formen bei Kaninchen und Vögeln in die Gattung Cheyletiella eingereiht, während die freien Arten (z. B. Cheyletus eruditus) den früheren Namen Cheyletus behalten haben.