

Über die Eignung menschlichen Trockenplasmas für die Koagulase-Reaktion pathogener Staphylokokken und den Einfluss verschiedener Antibiotica auf die Koagulase

Autor(en): **Fey, H.**

Objektyp: **Article**

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

Band (Jahr): **93 (1951)**

Heft 6

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-591698>

Nutzungsbedingungen

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern. Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden. Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

Haftungsausschluss

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

SCHWEIZER ARCHIV FÜR TIERHEILKUNDE

Herausgegeben von der Gesellschaft Schweizerischer Tierärzte

XCIII. Bd.

Juni 1951

6. Heft

Aus dem Veterinär-bakteriologischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. E. Heß)

Über die Eignung menschlichen Trockenplasmas für die Koagulase-Reaktion pathogener Staphylokokken und den Einfluß verschiedener Antibiotica auf die Koagulase

Von H. Fey

mit technischer Assistenz von Frl. Anita Margadant

In der bakteriologischen Diagnostik ist die Prüfung der plasma-koagulierenden Fähigkeit von Staphylokokken zum Beweis ihrer Pathogenität unentbehrlich. Es bestehen zwar zahlreiche Labortests, die an die Stelle der Pathogenitätsprüfung am Kaninchen getreten sind, nämlich Prüfung auf Pigmentbildung, Hämolyse, Koagulase, Wachstum auf Kristallviolett- und Bromthymolblaulaktoseagar sowie Vergärung von Mannit und Laktose. Chapman, Berens, Nilson und Curcio [2] verglichen die Treffsicherheit dieser sog. PHCVBML-Tests und fanden, daß die Koagulase-reaktion das zuverlässigste und auch beständigste Pathogenitätskriterium darstellt. Klatt [5] kam auf Grund von Untersuchungen an Mastitis-Staphylokokken zum gleichen Schluß.

Die Koagulasereaktion ist darum ein wertvolles Hilfsmittel zur Differenzierung von Mastitisstaphylokokken, indem jeder koagulasepositive Stamm als klinisch pathogen gelten kann. Es können zwar nicht sämtliche klinisch pathogenen Stämme auf diese Weise erfaßt werden, da nach Klatt in erkrankten Euter Vierteln ebenso häufig „apathogene“ (koagulasenegative) Staphylokokken gefunden werden wie „pathogene“ (koagulasepositive). Da bei den zu Diagnosezwecken eingesandten Milchproben leider nicht immer mit einer peinlich sterilen Entnahme gerechnet werden kann, ziehen wir den Koagulasenachweis auch heran, um wenigstens routinemäßig zwischen echten und akzidentellen Staphylokokken-

Infektionen zu unterscheiden, weil wir die Annahme für berechtigt halten, daß die koagulasepositiven Pyokokken mit ziemlich großer Wahrscheinlichkeit aus dem Euter stammen und nicht sekundär in die Milch geraten sind. Eine orientierende Überprüfung dieser Annahme ergab, daß wir unter ca. 250 von der Euterhaut abgewaschenen verschiedenen Staphylokokkenstämmen keine koagulasepositiven fanden. Die Tatsache, daß 4—6% der schweizerischen Milchkühe an Euterkatarrh leiden, während die Sc-Mastitis heute weniger als 1% ausmacht (Kästli [4]) und daß die Staphylokokkeninfektion die häufigste bakterielle Ursache des Euterkatarrhs ist, beleuchtet die Wichtigkeit der Koagulasereaktion, die die Einteilung in Saprokokken und Pyokokken mit größter Genauigkeit ermöglicht.

Einem veterinär-bakteriologischen Laboratorium fällt nun aber die Beschaffung des erforderlichen frischen Menschen- oder Kaninchenplasmas nicht leicht, weil der direkte Kontakt mit Spitälern fehlt und die Blutentnahme beim Kaninchen umständlich ist, vor allem wenn sie durch Herzpunktion und nicht durch Eröffnen der Ohrvene praktiziert wird. Es soll daher nachfolgend gezeigt werden, daß auch menschliches Trockenplasma mit praktisch genügender Genauigkeit für den Test verwendet werden kann. Die Vorteile, die sich aus der leichten Zubereitung der Plasmalösung und der unbegrenzten Haltbarkeit ergeben, sind evident. Das Trockenplasma wurde mir in liebenswürdiger Weise von Herrn Dr. H. Sager vom Zentrallaboratorium des Schweizerischen Roten Kreuzes Bern zur Verfügung gestellt, wofür ich ihm an dieser Stelle den besten Dank ausspreche.

Es handelt sich dabei um Plasma, das wegen irgendeines Fehlers für die Infusion nicht mehr freigegeben werden kann (zu hoher Hämoglobingehalt, Fehler während der Trocknung, abnorme Zusammensetzung, Komplikationen in der Apparatur, Auftreten von Reaktionen beim Menschen bei probeweiser Infusion eines Teils des pools). Um Nativplasma zu erhalten, muß eine 10%ige Lösung der getrockneten Substanz mit physiologischem NaCl hergestellt werden, da menschliches Normalplasma 5—6% Eiweiß enthält und vor dem Trocknen außerdem noch 5% Glukose zugefügt wird.

Vor den Hauptversuchen waren zuerst einige sekundäre Fragen abzuklären, wie diejenige der Plasmahaltbarkeit. Winkle [12] betont, daß das Alter des Plasmas 24 Stunden nicht überschreiten dürfe, eine Forderung, die in einem Laboratorium, das nicht täglich größere Mengen von Stämmen prüfen muß, undurchführbar ist. Williams und Harper [11] verwendeten das Plasma gewöhnlich

innerhalb zweier Tage nach der Gewinnung, gelegentlich aber auch noch nach einer Woche. Wir prüften eine Trockenplasmalösung während 16 Tagen mit 22 z. T. gut, z. T. mittelmäßig koagulierenden Stämmen auf Koagulierbarkeit. Die Stämme wurden jeden Tag neu vom Agar auf Bouillon genommen, damit bei jedem Test die Wachstumsdichte gleich war. Das Plasma wurde dauernd bei 4°C gehalten.

Während der ganzen Versuchsdauer blieb die Intensität der Koagulation mit allen Stämmen gleich, so daß einmal gelöstes Plasma auch nach 16tägigem Aufenthalt im Kühlschrank ohne Bedenken für die Reaktion verwendet werden darf.

Die Frage des Lösungsmittels fiel, verglichen mit destilliertem Wasser, zugunsten von physiologischem NaCl aus. Trockenplasma 1:10 verdünnt mit aq. dest. und physiol. NaCl wurde mit 25 positiven Stämmen getestet. Die Reaktionen waren 11mal identisch bei beiden Lösungsmitteln, 13mal besser bei Plasma in NaCl und 1mal besser bei Plasma in aq. dest.

NaCl ist als Lösungsmittel auch geeigneter als Bouillon. Dies ist insofern von Interesse, als man früher der Ansicht war (Gratia [3]), daß die Koagulase nur während des Wachstums gebildet werde. Zwei Gründe sprechen aber dafür, daß die Koagulase schon präformiert in der Bakterienzelle anwesend ist: 1. die Möglichkeit, den später zu besprechenden Schnelltest auszuführen, der auf dem Objektträger innerhalb von 5 Sekunden positive Resultate liefert und 2. die bessere Eignung von NaCl als Lösungsmittel gegenüber Bouillon. Würde sich der wesentlichste Teil der Koagulase erst während des Staphylokokkenwachstums im Plasma bilden, so müßte Bouillon-Plasma, in dem die Bakterien kräftig wachsen, schon nach ein paar Stunden Bebrütung stärkere Reaktionen liefern als NaCl-Plasma, in dem sich die Keime kaum vermehren. Dies ist aber nicht der Fall, denn mit 58 Stämmen bekamen wir

Tabelle 1

Stunden	Plasmaverdünnung in NaCl				Plasmaverdünnung in Bouillon			
	1/2	1	3	6	1/2	1	3	6
positive Resultate von 58 Stämmen	1	24	42	42	—	7	41	42

	Trockenplasma-											
	1 : 1					1 : 10						
	1,0	0,5	0,2	0,1	1,0	0,5	0,2	0,1	1,0	0,5	0,2	0,1
Bouillonkulturvol.	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6
Stunden	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6	1 3 6
positive Reaktionen von 25 Stämmen	7 25 25	4 25 25	2 22 25	2 6 25	17 25 25	14 25 25	6 25 25	6 23 25	17 25 25	19 25 25	21 25 25	21 25 25

sowohl bei der NaCl- und Bouillonverdünnung 42 positive und 16 negative Resultate, außerdem verlief die Reaktion in NaCl-Plasma wesentlich rascher, wie aus der Tabelle 1 hervorgeht. Die Reaktionsstärken waren anfänglich identisch und verschoben sich erst bei 48stündiger Bebrütung zugunsten von Bouillon-Plasma. Zu diesem Zeitpunkt waren im NaCl-Plasma nur noch + Reaktionen zu verzeichnen, im Bouillon-Plasma dagegen 34 mal ++ bis +++ Reaktionen. Die im Bakterienleib präformierte Koagulase hat somit im leicht diffundierbaren NaCl-Plasma Gelegenheit, schon von Anfang an zu wirken, während Bouillon-Plasma, in dem sich die Kokken dauernd weiter vermehren und somit auch mehr Koagulase gebildet wird, nach längerer Bebrütung starke Reaktionsgrade zu liefern imstande ist.

Das Verhältnis zwischen Plasmamenge und Größe des Inoculums spielt für den Ablauf der Reaktion eine große Rolle. Fisk (zit. nach Williams und Harper [11]) kam zum Schluß, daß 1 cem Plasma 1:10 verdünnt mit NaCl oder Bouillon, beimpft mit 0,1 cem gut gewachsener Bouillonkultur, die besten Resultate ergibt. Alle andern Methoden, wie das Verwenden anderer Mengenverhältnisse zwischen Plasma und Inoculum sowie das auch bei uns früher geübte direkte Einreiben von Plattenkolonien in das Plasma sind demgegenüber weniger zuverlässig. Wir prüften dieses Ergebnis mit 25 positiven Stämmen an Trockenplasma nach unter Verwendung verschiedener Plasmaverdünnungen und fallender Inoculummenge (Tabelle 2).

Daraus ergibt sich eine völlige Übereinstimmung mit dem von Fisk gefundenen Plasma-Inoculum-Verhältnis auch für Trockenplasma. Die Plasmaverdünnung 1:10 in NaCl beimpft

mit 0,1—0,2 cem flüssiger Kultur reagiert am raschesten, Nativplasma 1:1 (10%) hingegen relativ träge, wahrscheinlich zum Teil auf Grund der höheren Viskosität. Wenn die Reaktion aber eingetreten ist, ist sie in dieser Verdünnung fast durchwegs stärker (+++) als in der Verdünnung 1:10 (+ bis ++), da eben auch mehr koagulierbare Substanz vorhanden ist. Aus der Tabelle geht weiterhin hervor, daß das Plasma-Inoculum-Verhältnis jedenfalls 1:1 sein muß (Plasma 1:1 + 1,0 Kultur > Plasma 1:1 + 0,1 Kultur, bzw. Plasma 1:10 + 0,1 Kultur > Plasma 1:10 + 1,0 Kultur).

Nach der Abklärung der Methodik konnte zum Hauptversuch geschritten werden, nämlich zum Vergleich zwischen Trockenplasma und frischem Menschen- und Kaninchenplasma.

Nur Menschen- oder Kaninchenplasma gibt für den Test sichere Resultate und frisches Menschenplasma soll sich nach Chapman [2] etwas besser eignen, er fand aber nur einen Unterschied von 1,3%, während Klatt [5] beide Plasmen als gleich geeignet befand. Andere tierische Plasmen sind nicht so genau, z. B. ist nach Chapman die Reaktion mit Kuhplasma nur in 78% gleich wie beim Menschenplasma. Tierpathogene Staphylokokken sollen die entsprechenden Tierplasmen koagulieren. An einem kleinen Material (20 bovine Mastitis-Stämme) fanden wir für Schafplasma eine 95%ige Übereinstimmung mit Trockenplasma. Eine eigenartige Auffassung zitiert Schmidt [8], wonach nur vom Menschen stammende Staphylokokken menschliches Plasma zu koagulieren imstande seien. Daß dem nicht so ist, kann jedes veterinär-bakteriologische Institut bestätigen.

Material

Zirka zwei Drittel der Stämme wurden aus Mastitismilch gezüchtet, ein Drittel aus menschlichen Krankheitsprozessen (Tonsillitis, Meningitis, Osteomyelitis, Abszesse, Furunkel, Cystitis, infizierte Wunden u. a.).

Folgende Herren waren bei der Sammlung der Stämme behilflich, wofür ihnen an dieser Stelle bestens gedankt sei: Prof. Dr. P. Kästli, Bakt. Anstalt Liebefeld, Dr. E. Wiesmann, Bakt. Institut St. Gallen, Dr. Saxer, Bern, Dr. Marti und Dr. H. Joos, Hygieneinstitut Zürich, Dr. R. Schweizer, Inst. vét. Lausanne, Dr. Omlin, Serum- und Impfinstitut Bern, Dr. Klingler, Vet.-bakt. Inst. Bern.

Technik

Trockenplasma wurde in der Konzentration von 1% mit NaCl gelöst, das immer vom gleichen Spender stammende frisch gewonnene Menschen- und Kaninchenplasma 1:10 mit NaCl verdünnt. 1 ccm Plasmaverdünnung wurde mit 0,1 ccm 18stündiger Bouillonkultur beimpft, bei 37° bebrütet und nach 1, 3, 6 und 24 Stunden kontrolliert. Das Maß der Reaktionsstärke setzten wir in teilweiser Anlehnung an Williams und Harper [11] wie folgt fest:

- = keine Klumpen, keine Granula oder fädiges Wachstum.
- ± = granuläres Wachstum, nicht zerschüttelbar.
- + = deutliche leichte Gerinnung. Konsistente Fäden bis kleine Klumpen.
- ++ = fast völlige Gerinnung. Koagulum aber noch frei in einem Flüssigkeitsmantel flottierend.
- +++ = Völlige Gerinnung des gesamten Flüssigkeitsvolumens. Röhrchen kann umgestürzt werden.

Bei den Kontrollen dürfen die Röhrchen nur vorsichtig geneigt, aber nicht geschüttelt werden, da sonst die Bildung des Koagulums gestört würde.

Resultate

(Siehe Tabelle 3)

In unserem Material kann somit eine gewisse Überlegenheit des Kaninchenplasmas gegenüber den beiden andern Plasmen festgestellt werden. Frisches Menschenplasma bleibt um 3,1% und Trockenplasma um 9,4% hinter den Kaninchenresultaten zurück, eine Abweichung, die für die Routine noch ohne weiteres akzeptiert werden kann.

Wenn man die Resultate aus dem nachher zu besprechenden Vergleich zwischen Schnell- und Röhrchentest, bei dem Kanin-

Tabelle 3

Frisches Menschenplasma			Kaninchenplasma			Trockenplasma			Stämme total
+	±	—	+	±	—	+	±	—	
155	2	69	160	8	58	145	6	75	226
68,6%	0,9%	30,5%	70,8%	3,5%	25,7%	64,1%	2,7%	33,2%	100%
Vergleich der positiven Resultate in bezug auf Kaninchen = 100%									
96,9%	—	—	100%	—	—	90,6%	—	—	

chenplasma fehlt, auch berücksichtigt, kann ein zweiter Vergleich zwischen menschlichem Trocken- und Frischplasma angestellt werden.

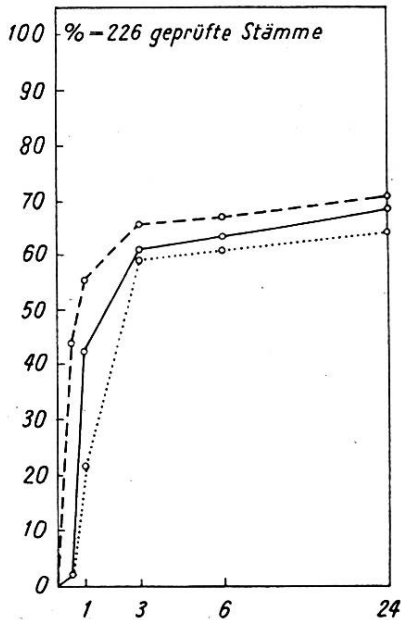
Tabelle 4

Menschenplasma frisch			Trockenplasma			Total Stämme
+	±	—	+	±	—	
256	2	81	245	6	89	339
75,5%	0,6%	23,9%	72,3%	1,8%	25,9%	100%
Vergleich der positiven Resultate in bezug auf Frischplasma = 100%						
100%	—	—	95,3%	—	—	

Bei diesem größeren Material zeigt es sich, daß Trockenplasma nur 4,7% weniger positive Resultate liefert als menschliches Frischplasma.

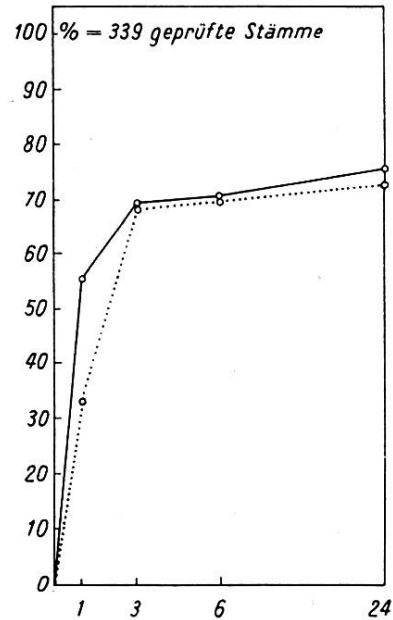
Im weiteren interessiert der zeitliche Ablauf der positiven Reaktionen im Vergleich zwischen Kaninchen- und menschlichem Frisch- und Trockenplasma. Die in Kurven eingetragenen Werte repräsentieren die positiven Reaktionen, ausgedrückt in Prozent aller getesteten Stämme. Die Kurve I entspricht dem Material aus Tab. 3, Kurve II demjenigen aus Tabelle 4. Die bei zahlreichen

koagulierenden Stämmen bei längerer Bebrütung zu beobachtende Lyse des Koagulums wurde vernachlässigt, d. h. einmal positive Reaktionen wurden weiterhin als positiv aufgeführt, auch wenn eine völlige Verflüssigung wieder eingetreten war. Andernfalls müßte sich eine starke Konfusion ergeben, da nach ca. 6 Stunden einerseits neue Stämme positiv werden, andererseits positiv gewesene Stämme wieder negativ.



Kurve I

Ablauf der positiven Reaktionen in Menschenplasma frisch, Kaninchen- und Trockenplasma



Kurve II

Ablauf der positiven Reaktionen in frischem Menschenplasma und Trockenplasma

Positive Reaktionen mit

{	frischem Menschenplasma =	—————
	Kaninchenplasma =	- - - - -
	Trockenplasma =

Die Kurven demonstrieren, daß Kaninchenplasma in unserem Material dem frischen Menschenplasma überlegen war und dieses wiederum dem Trockenplasma; daß aber die Differenzen erträglich sind, so daß in der Routine Trockenplasma an die Stelle der beiden andern Plasmen treten kann. Ferner ist die gleiche Reihenfolge der Überlegenheit in der Schnelligkeit des Reaktionsablaufes ersichtlich. Nach 3—6 Stunden haben sich die Werte aber weitgehend angenähert.

Trockenplasma ist auch für den von Cadness, Graves, Williams, Harper und Miles (zit. nach Williams und Harper [11])

beschriebenen Objektträger-Schnelltest zu verwenden, dessen Durchführung denkbar einfach ist. Williams und Harper fanden eine Übereinstimmung mit dem Röhrentest in 88%.

Wir verglichen 113 Stämme im Schnell- und Röhrenverfahren mit Trockenplasma und frischem Menschenplasma.

Technik: Eine volle Öse (3 mm) Bakterien wurde mit einer Öse physiol. NaCl zu einer homogenen dichten Suspension verrieben und dann eine Öse Plasma 1:10 hineingemischt. Es spielt praktisch keine Rolle, ob Leitungswasser oder physiologisches NaCl und ob Plasma 1:1 oder 1:10 zur Anwendung gelangt. Suspensionen, die nicht innerhalb von 5 Sekunden stark ausflocken, sind eindeutig negativ. Fehlentscheide sind kaum zu befürchten und Autoagglutinationen sahen wir nie.

Der Röhrentest wurde wie oben beschrieben ausgeführt (1 ccm Plasma 1:10 + 0,1 ccm Bouillonkultur).

Tabelle 5

	Trockenplasma				Frisches Menschenplasma			
	Röhrenmethode		Schnellmethode		Röhrenmethode		Schnellmethode	
	+	-	+	-	+	-	+	-
+ Reaktionen von 113 geprüften Stämmen	100	13	90	23	101	12	89	24

Die Schnellmethode korrespondiert somit sowohl beim getrockneten wie frischen Menschenplasma in ca. 90% mit dem Langsamtest. Wollte man mit der Objektträgermethode arbeiten, brauchte man allerdings relativ große Mengen Plattenkultur und außerdem ist man genötigt, die negativen Resultate durch den Langsamtest nachzuprüfen.

Bei uns wurde bisher auch das von Williams und Harper empfohlene Verfahren angewendet, die Plattenkultur direkt in das Plasmaröhrchen einzureiben. Dabei fiel auf, daß Stämme, die mit dem Schnellverfahren positiv reagierten, beim Einreiben grob agglutinierten und sich nicht mehr homogen verteilen ließen. Solche sicher positiven Stämme ergaben dann häufig im Röhrentest ein negatives Resultat, was uns veranlaßte, diese „Direkt-Röhrenmethode“ auf ihre Zuverlässigkeit mit Trockenplasma nochmals zu überprüfen. Chapman

fand eine 24%ige, Fisher eine 86%ige und Fisk eine 63—95%ige Übereinstimmung mit der Röhrenmethode (alle zit. nach Williams und Harper [11]). Da unsere Versuche eine schlechte Koinzidenz ergaben, modifizierten wir unsere Routinemethode wie folgt: $\frac{1}{2}$ —1 Öse der fraglichen Staphylokokkenkultur wird bei Beginn der Arbeit in 1 ccm Bouillon gerieben, bis kurz vor Mittag (ca. 4 h) bebrütet und dann 0,1 ccm 10 %iges Trockenplasma zugegeben. Damit haben wir einesteils die sehr viel bessere flüssige Kultur, in der die Koagulase schon frei gelöst vorhanden ist, und andernteils wird dieselbe Kultur gleich als Verdünnungsmittel für das Plasma benützt, so daß dessen Endverdünnung wieder 1% beträgt.

In Tabelle 6 sind die vergleichenden Resultate der an 56 Stämmen erfolgten Untersuchungen zusammengestellt.

Methode I = 1 ccm Trockenplasma 1% + 0,1 ccm Bouillonkult.
 Methode II = 1 ccm Trockenplasma 1% + 1 Öse feste Kultur
 Methode III = 1 ccm Bouillon + 1 Öse feste Kultur — 4 h 37°C
 — 0,1 ccm Trockenplasma 10%.

Tabelle 6

	Methode I				Methode II				Methode III			
	1	3	6	24	1	3	6	24	1	3	6	24
+ Reaktionen von 56 geprüften Stämmen	48	50	50	50	0	23	26	24	30	46	50	50

Wir kamen somit zum Resultat, daß die bisher geübte Methode II verglichen mit den beiden andern nur ca. 50% + -Reaktionen liefert. Die modifizierte Methode III ist der besten Standardmethode I praktisch ebenbürtig. Man ist versucht, das Versagen der direkten Einreibemethode (II) damit zu erklären, daß die beim Einreiben der Kultur entstehenden Agglutinate wegen ihrer gegenüber den Einzelbakterien der flüssigen Kultur relativ verminderten Oberfläche zu kleine Koagulasemengen in das Medium hinausdiffundieren lassen. Diese Erklärung mag zum Teil stichhaltig sein, indem die meisten schnellagglutinierenden Stämme im Direktverfahren (II) negative Resultate liefern, hingegen lassen auch viele gut homogenisierbare Stämme die positive Reaktion vermissen, obwohl der Test I und III positiv ausfiel.

Einfluß von verschiedenen Antibioticas auf die Koagulase

Während der Versuche wurden uns verschiedene Arbeiten über diese Frage bekannt, so daß wir uns kurz fassen können. Die praktische Bedeutung des Problems liegt darin, ob Pyokokken, die im Körper unter dem Einfluß eines Antibioticum stehen, physiologische Fähigkeiten, wie z. B. die der Hämolyse oder der Plasmakoagulation, verlieren können, so daß sie zu einem späteren Zeitpunkt der Therapie u. U. fälschlicherweise als Saprokokken angesprochen werden.

Klimek, Chester und Bailey [6] stellten tatsächlich eine Abnahme aller fermentativen Eigenschaften bei gegen Penicillin und Streptomycin resistenten Staphylokokken fest, während Sublimat keinen Einfluß ausübte. Auch Krüpe [7] erzeugte mit Penicillin anscheinend eine Dauermodifikation von Staphylokokken, die nicht mehr fähig waren, Pigment, Hämolysin oder Koagulase zu bilden, hingegen weiterhin Mannit vergärten. In den Versuchen von Suter und Vischer [9] blieben die P.-resistenten Varianten koagulase-positiv, wurden aber etwas reaktionsträger im Gegensatz zu den streptomycinresistenten, die meist eine größere Aktivität zeigten. Die von Walker, Derow und Schaffer [10] rein dargestellte Staphylokoagulase wurde gehemmt durch Streptomycin, Propylen-glycol, Natriumazid, aber nicht gehemmt durch Penicillin, Zephiran, Bacitracin, Tyrothricin, Gramicidin, Tyrocidin, Hydrazin, Sulfa-thiazol, Sulfadiazin.

In unseren Versuchen mit Trockenplasma wurde die Beeinflussung der Koagulase durch Penicillin, Streptomycin und, zusätzlich zu früheren Arbeiten, durch Aureomycin geprüft.

Technik

Penicillin wurde in physiol. NaCl, Streptomycin in leicht alkalischer Bouillon und Aureomycin in aq. dest. gelöst. Bei Aureomycin ergaben sich Schwierigkeiten wegen der schlechten Löslichkeit und der schnellen Zersetzung in Lösung und Wärme. In aq. dest. beträgt der Wirkungsverlust bei 37°C in 24 h ca. 46%, in Bouillon 90%. Unsere Versuche litten darunter nicht, denn wir wollten nicht mit absoluten Werten operieren, sondern nur vergleichend die Angewöhnung an das Antibioticum kontrollieren.

10 Stämme wurden in tägigen (Aureomycin) oder 2tägigen (Streptomycin und Penicillin) Intervallen auf frische antibioticumhaltige Bouillonröhrchen transferiert und jeweils dasjenige Röhrchen für die Weiterzüchtung verwendet, in dem das Wachstum für die Koagulaseprüfung gerade dicht genug war. Daneben lief eine Kontrollserie von täglichen Passagen auf gewöhnlicher Bouillon. Bei jeder Passage

wurde von den Versuchsröhrchen und den Kontrollen eine Koagulase-reaktion gemacht.

In der Tabelle 7 ist die sich entwickelnde Resistenz der Stämme gegen die 3 Antibiotica dargestellt.

Tabelle 7

Penicillin OE		Streptomycin γ		Aureomycin γ	
a	b	a	b	a	b
0,001	0,01	1	1 000	1	10
10 ¹)	1	9	1	10	10
	0,1	10	50 000		
	5	1	9		
	1,0				
	4				

a = anfängliche Sensibilität

b = Sensibilität am Schlusse der Passagen

10¹) = Anzahl Stämme

In 35 Passagen übte das Penicillin auf die Koagulase der 10 Stämme keinen Einfluß aus, während bei einzelnen Stämmen ein leichter Pigmentverlust eintrat.

Beim Streptomycinversuch wurden 2 Stämme nach 31 bzw. 36 Passagen (Einwirkungsdauer 62 bzw. 72 Tage) koagulase-negativ, die andern Stämme blieben positiv. Zahlreiche Stämme wiesen einen deutlichen Pigmentverlust auf und wurden entweder crème oder albus. Das Auffälligste aber war die Veränderung im Wachstum, indem 5 Stämme in Bouillon körnig-flockig wuchsen und eine zähe Kahmhaut bildeten, während sie zähschleimig viskös auf dem Agar hafteten. Trotzdem fiel die Koagulasereaktion unverändert positiv aus. Zwei Kontrollstämme konnten zwar nach zahlreichen Passagen ebenfalls viskös wachsen, aber niemals im gleichen Maße wie die streptomycin-resistenten Stämme. Auch die Kontrollen verloren gelegentlich etwas Pigment, aber nie die Koagulase. Somit zeigte es sich auf diese Weise wieder, ein wie beständiges Pathogenitätskriterium die Koagulase ist.

Aureomycin blieb während 40 täglichen Passagen ohne Einfluß auf die Koagulase, dagegen verstärkte sich bei allen Stäm-

men das goldgelbe Pigment auffallend, so daß man den bestimmten Eindruck bekam, es müsse aus dem gelben Farbstoff des Aureomycins während der Transfers in den Kokken gespeichert worden sein.

Zusammenfassung

Trockenplasma (vom Schweiz. Roten Kreuz in Bern) kann für den Nachweis von Staphylokoagulase gut verwendet werden. Es lieferte verglichen mit Kaninchenplasma (= 100%) 90,6% positive Resultate und verglichen mit frischem Menschenplasma (= 100%) 95,3%. Trockenplasma bleibt im dehydrierten Zustand unbeschränkt und in Lösung mindestens 16 Tage lang verwendbar. Im Objekt-trägertest ergibt Trockenplasma gleich wie frisches Menschenplasma 90% der im Röhrchentest gefundenen positiven Resultate.

Penicillin übt auf die Koagulase, geprüft mit Trockenplasma, keinen Einfluß aus. Nach Streptomycineinwirkung wurden 2 Stämme nach der 31. bzw. 36. Passage koagulase-negativ. Zahlreiche Stämme wiesen einen Pigmentverlust auf und wurden zum Teil viskös wachsende Kahmhautbildner. Aureomycin blieb ohne Wirkung auf die Koagulase, hingegen hatten alle Stämme nach 40 Passagen reichlich gelben Farbstoff gespeichert.

Résumé

On peut employer avec succès le plasma déséché (de la Croix Rouge Suisse à Berne) pour l'épreuve de la staphylocoagulase. Comparé avec le plasma frais de lapin (= 100%), il nous donne 90,6% de résultats positifs et, comparé avec le plasma humain frais (= 100%), 95,3%. Le plasma desséché reste, à l'état déshydraté, indéfiniment utilisable, et, une fois dissout, pendant 16 jours au moins. Praticqué sur un porte-objet, le test avec le plasma desséché, comme celui avec le plasma humain frais, donne 90% des résultats positifs trouvés avec le test en éprouvette.

La pénicilline n'exerçait aucune influence sur la coagulase. Traitées avec de la streptomycine deux souches après 31 resp. 36 repiquages, ne formèrent plus de coagulase. De nombreuses souches perdirent leur pigment et se transformèrent en partie, (colonies visceuses sur l'agar, formation d'une pellicule sur le bouillon). L'aureomycine n'exerçait aucune influence sur la formation de la coagulase. En revanche toutes les souches après 40 repiquages avaient en réserve abondante un colorant jaune.

Riassunto

Il plasma secco (ottenuto dalla Croce rossa svizzera in Berna) può essere sfruttato bene per dimostrare la stafilocagulasi. Comparato con plasma di coniglio (= 100%) diede il 90.6% di risultati positivi e confrontato con plasma fresco umano (= 100%) diede il 95.3%. Il plasma secco allo stato anidro rimane usabile senza limitazione; in soluzione si può usare almeno per 16 giorni. Nel «test» del portaoggetti, il plasma secco dà, come il plasma umano fresco, il 90% dei risultati positivi trovati nel «test» della provetta.

La penicillina non esercita nessuna influenza sulla coagulasi provata con plasma secco. In seguito all'influsso di streptomina, due ceppi diventarono negativi alla coagulasi dopo il 31. mo, risp. il 36. mo passaggio. Molti presentarono una perdita di pigmento ed in parte formarono una pelle viscosa di muffa crescente. L'aureomicina rimase senza effetto sulla coagulasi; per contro, dopo 40 passaggi tutti i ceppi avevano accumulato abbondantemente una sostanza di color giallo.

Summary

For the demonstration of staphylocoagulase dehydrated human plasma (from the Swiss Red Cross Berne) can be used. Dried plasma gave 90,6% positive results compared with rabbit's plasma and 95,3% compared with fresh human plasma. In a dehydrated state it can be used for any time, and it does not lose any ability to coagulate even after a 16 day's storage in solution. In the slide-test it is adequate to fresh human plasma in efficiency indicating 90% of the positive reactions found by the tube method.

Penicillin had no effect on the coagulase. Streptomycin rendered two strains coagulase-negative after 31 and 36 transfers. Many strains lost some pigment and developed a viscous growth forming a pellicule in broth. Aureomycin showed no influence on the coagulase whereas all strains intensified their pigment after 40 transfers in broth containing the antibioticum.

Literatur

[1] Aureomycin, A New Antibiotic. *Annals of the New York Academy of Sciences*. Vol 51 Art. 2 (1948). — [2] Chapman G., Berens C., Nilson E., and Curcio L. J. *Bact.* 35 (1938) 311. — [3] Gratia A. *Comp. Rend. Soc. Biol. Paris* 83 (1920) 585. — [4] Kästli P. *Medlemsblad for den danske Dyrlaegeforening*, März 1950. — [5] Klatt C. H. *Diss. Bern* 1949. —

- [6] Klimek J. W., Chester J. C., Bailey J. H. *J. Bact.* 55 (1948) 139. — [7] Krüpe M. *Zbl. Bakt. I Orig. Bd.* 55, H. 2/4 (1950) S. 96. — [8] Schmidt H. *Grundlagen der spez. Therapie und Prophylaxe bakterieller Infektionskrankheiten.* Bruno Schultz Verlag Berlin-Grünwald 1940. — [9] Suter E. und Vischer W. A. *Schw. Zschr. Path. und Bakt.* XI, Fasc. 5 (1948) 428. — [10] Walker S. B., Derow M. A., and Schaffer N. K. *J. Bact.* 56 (1948) 191. — [11] Williams R. E. and Harper G. J. *J. exp. Path.* 27 (1946) 72. — [12] Winkle S. *Mikrobiol. und serol. Diagnostik.* Verlag G. Fischer Jena 1947.

Aus dem Vet.-Anatom. Institut der Universität Bern
(Direktor: Prof. Dr. H. Ziegler)

Ein eigenartiger Fall von Encephalocoele beim Schaf

Von W. Mosimann, Prosektor

Das neugeborene Lamm mit der hier zu beschreibenden Kopfmißbildung wurde vom Besitzer lebend hergebracht¹⁾. Seine Atmung war stark beschleunigt und oberflächlich. Nach Angaben des Besitzers ist es das Erstgeborene eines prämierten Oxford-Mutter-schafes. Sein Vater ist der Sohn eines Importwidders. Inzucht ist ausgeschlossen.

Das Tierchen wurde mit Chloroform getötet und durch die Nabelgefäße mit 6% Formollösung fixiert.

An der Stelle des fehlenden linken Unterkiefers findet sich eine kindskopfgroße Blase (Abb. 1 und 2). Diese ist von behaarter Haut überzogen und enthielt eine klare Flüssigkeit, welche aber vom Tierarzt zum größten Teil entleert wurde, da die Blase ein Geburtshindernis darstellte. Das linke Auge fehlt. Als einzige Andeutung sind nur einige Wimperhaare ganz in der Tiefe der Furche zwischen Blase und Kopf vorhanden. Auch das Ohr der linken Seite fehlt bis auf die Spitze der Ohrmuschel, welche als Lappen an der lateralen Fläche der Blase herabhängt (Abb. 2). Auf der rechten Seite sind Auge und Ohr normal ausgebildet.

Der rechte Unterkiefer endigt vorne frei mit zwei Fortsätzen (Abb. 2), die außen von behaarter Haut, innen von Mundschleimhaut überzogen sind. Die linke Hälfte des Gaumendaches fehlt, so daß dort eine weite Kommunikation zwischen Mund- und Nasenhöhle besteht. Die Zunge ist vorhanden, jedoch stark nach rechts gedrängt.

¹⁾ Herrn Dr. F. Küng, Kreistierarzt, Großaffoltern, möchte ich an dieser Stelle für die Vermittlung bestens danken.