

Über die Wirkung einiger Sulfonamide und Antibiotika auf die Infusorien und die Gärgasbildung im Panseninhalt des Rindes

Autor(en): **Schumacher, E.**

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): **104 (1962)**

Heft 8

PDF erstellt am: **21.07.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-592962>

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.

Sarkar, Marschall V. and J. H. Gillespie: Evaluation of a combined Vaccine consisting of modified Canine Distemper virus and modified infectious canine Hepatitis for simultaneous Immunisations of Dogs. *Cornell Vet.* XLVIII, 214–223 (1958). – Cabasso V. J.: Canine Hepatitis and Distemper. *J. Am. Vet. med. Assoc.* 136, 1–7 (1960). – Cabasso V. J.; Stebbins M. R. and J. V. Avampato: A bivalent Live Virus Vaccine against Canine Distemper and Infectious Canine Hepatitis. *Proceed. Soc. Exp. Biol. and Med.* 99, 46–51, (1958). – Dräger K. und O. Ackermann: Über die Anwendung von kombinierten Vaccinen gegen Staupe und Hepatitis contagiosa canis. *Die Blauen Hefte* 1961, 444–449. – Freudiger U.: Klinische Beobachtungen zur Hepatitis contagiosa canis. *Schweiz. Arch. Thkde.* 99, 487–508 (1957). – Gillespie J. H.: Clinical Features of Infectious Canine Hepatitis. *Proceed. Book Am. Vet. Med. Assoc.* 1952, 224–225. – Gillespie J. H.: A Decade of Progress in Infectious Canine Diseases. *Modern Vet. Practice* 42, 32–41 (1961). – Heck J. H., Vogel F. en W. de Haan: Enkele gecontroleerde proeven betreffende de toepassing van levend, avirulent hondenziekte-virusvaccin onder praktijkomstandigheden. *Tijdschr. Diergeneesk.* 84, 958–966 (1959). – Howell D. G.: Vaccination of the Dog. *Vet. Rec.* 73, 46–50 (1961). – Johnston R. V. and F. B. Gauker: Proof of the protective Value of Virogen D-H. *The Allied Vet.* XXVIII, 18–20 (1957). – Keeble S. A., Baker J. A. and D. G. Howell: Immunisation against Canine Virus Hepatitis using an Inactivated Vaccine. *Vet. Rec.* 73, 286–289 (1961). – Keep J. M.: Immunisation against Canine Distemper by the Modified Virus Method. *Austral. Vet. J.* 35, 200–202 (1959). – Klatt H.: Erfahrungen mit der Staupe-Hepatitis Vaccine Behringwerke. *Die Blauen Hefte* 1960, 374–375. – Langenheim H.: Verhütung der Staupeinfektion bei Hunden. *Vet. Med. Nachr.* 1955, 53–56. – Niemand H. G.: Staupe und ansteckende Leberentzündung des Hundes. *Tierärztl. Umschau* 16, 48 (1961). – Pitman-Moore Laboratories: Immunization for Distemper and Hepatitis. *The Allied Vet.* XXVIII, 5–8 (1957). – Poppensiek G. C. and J. A. Baker: c. nach J. A. Burger et al. *Cornell Vet.* XLVIII, 214 (1958). – Poppensiek G. C.: Virus Diseases of Dogs. With Special Reference to Infectious Canine Hepatitis. *Vet. Med.* XLVII, 282–284 (1952). – Rubarth S.: An Acute Virus Disease with Liver Lesion in Dogs. *Acta Path. Microbiol. Scand. Suppl.* 49, 222 S. (1947). – Scheitlin M. und P. Suter: Praktische Versuche mit Cyvac, einem neuen, kombinierten Impfstoff gegen Hepatitis contagiosa canis und Hundestaupe. *Schweiz. Arch. Thkde.* 101, 225–234 (1959). – Stünzi H.: Zur Pathogenese der Hepatitis contagiosa canis. *Schweiz. Z. Allg. Path. u. Bakt.* 16, 79–85 (1953). – Stünzi H. und G. C. Poppensiek: Zur Pathogenese der Hepatitis contagiosa canis. *Schweiz. Z. Allg. Path. u. Bakt.* XV, 722–734 (1952). – Teunissen G. H. B., Bosgra O. en J. H. G. Wilson: Praktijkervaringen met levend, avirulent Hondenziektevirusvaccin. *Tijdschr. Diergeneesk.* 82, 493–505 (1957). – York C. J., Bittle J. L., Burch G. R. and D. E. Jones: An effective Canine Distemper Tissue Culture Vaccine. *Vet. Med.* 55, 30–35 (1960). – Zuschek F., Jungk N., Kong D. and W. M. Swangard: *Cornell Vet.* 51, 68–76 (1961).

Aus dem Veterinär-Pharmakologischen Institut der Universität Zürich
(Direktor: Prof. Dr. H. Graf)

Über die Wirkung einiger Sulfonamide und Antibiotika auf die Infusorien und die Gärgasbildung im Panseninhalt des Rindes

Von E. Schumacher

4. Wirkung einiger Sulfonamide und Antibiotika auf die Infusorien

4.1. Bisherige Versuchsmethoden und Ergebnisse

4.1.1. Bekannte Kulturmethoden

An Versuchen, die Panseninfusorien in Kulturen überlebend zu erhalten, hat es nicht gefehlt. Die wesentlichen Merkmale der bekannten Methoden seien kurz dargestellt.

Knoth [37] versetzte das Seitzfiltrat von Pansensaft mit Heu und leitete 15 Minuten lang ein Gemisch von 65% CO₂ und 35% Methan durch. In diesem Milieu konnte er bei Einhaltung eines pH-Optimums von 6,8 die Entodinen 5 Tage überlebend erhalten. Teilungsformen beobachtete er am häufigsten bei einem pH von 6,0.

Westphal [78] konnte im Panseninhalt unter CO₂-Atmosphäre, dessen pH-Wert er durch Zusatz von Harnstoff (?) regulierte und den er in regelmäßigen Zeitabständen durchmischte, Infusorienkulturen über mehrere Wochen halten.

Willing [79] machte Versuche über die Lebensdauer der Panseninfusorien mit Pansensaft als Grundflüssigkeit, dem er Kasein, Reisstärke, Glycerin, Heumehl, gebrannten Ton oder Na-Phosphatpuffer ohne Erfolg zusetzte. Er stellte folgende Überlebensquoten fest:

nach 24 Std:	34–55%
nach 48 Std:	16–27%
nach 72 Std:	5–12%
nach 96 Std:	0– 2,4%

Hungate [33, 34] gelang die Züchtung einzelner Entodinium- und Diplodiniumarten in einer wässrigen Salzlösung. Je nach Infusorienart setzte er verschiedene Mengen von Gras und Zellulose, vereinzelt auch Weizenmehl, zu.

Margolin [49] konnte in folgendem Kulturmedium, das zuerst zwei Tage im Brutschrank gehalten und auf pH 6,8 eingestellt wurde, Infusorien 14 Tage lang halten:

Heuaufguß	25 ml
Natriumzitratlösung	25 ml
MgO	0,25 g
Reisstärke	0,25 g
aschefreies Filterpapier, zerkleinert	0,5 g

D'Agostino Barbaro [13] benützte für ihre Kulturen ganz einfach eine Mischung von 20% Pansensaft und 80% Wasser.

Heald u. a. [27] wuschen die Infusorien mit einem Phosphatpuffer von pH 7,2 aus und setzten 0,8 mM/l Streptomycin zu. So erhielten sie nach 24 Std. eine reine vollaktive Isotrichen-Kultur. Den gleichen Puffer verwendeten auch Eadie u. a. [17] für ihre Kulturen.

Wassermann u. a. [74] und Huhtanen u. a. [32] arbeiteten mit dem künstlichen Pansen; ein ähnliches Verfahren verwendeten auch Zorita u. a. [82]. Ebenfalls Warner [73] benützte den künstlichen Pansen, wies aber darauf hin, daß sich diese Methode nicht eigne für Versuche von mehr als 8 Std. Dauer wegen der zunehmenden Veränderung des Milieus. Peschek [57] hat denn auch gezeigt, daß sich im Panseninhalt bei 24stündiger Aufbewahrung im Brutschrank die Zusammensetzung der Pansenflora sehr stark verschiebt.

Gutierrez [26] verwendete für seine Isotrichen-Kulturen ein Gemisch von 30% Pansensaft und 70% folgender Salzlösung:

NaCl	0,5 %	} mit CO ₂ einstellen auf pH 7,0
CaCl ₂	0,01 %	
MgSO ₄	0,01 %	
KH ₂ PO ₄	0,1 %	
NaHCO ₃	0,5 %	

Den Pansensaft ließ er im Kühlschrank stehen, bis die überstehende Flüssigkeit klar war, und verwendete diese. In diesem Medium konnte er die Isotrichen bis 3 Wochen lebend erhalten. Aus dem Pansensaft isolierte er die Isotrichen dadurch, daß er diesen mit Glukose versetzte und in einem 60 cm langen Rohr im Brutschrank aufstellte, wo sich jene als erste absetzten [25].

Adler u. a. [1] verwendeten ein technisch sehr kompliziertes Fließ-System. Als Basis ihres Kulturmediums diente der künstliche Speichel nach McDougall [51], dem sie nebst Zellulose, Dextrin, Dextrose und Harnstoff je eine mannigfaltige Mineralstoff- und Vitaminmischung zusetzten.

Wertheim [77] prüfte die Infusorien auf Temperaturempfindlichkeit und fand: Gegen Erwärmung sind alle Arten gleich empfindlich; je nach Geschwindigkeit der Erwärmung sterben sie bei 49–52° C. Gegen Abkühlung sind die Isotrichen am widerstandsfähigsten, die Immobilisation tritt ein bei 14–15° C. Infusorien können sich erholen, wenn sie 15 Minuten lang auf 10° C oder 2 Minuten lang auf 0° C abgekühlt waren. Die größte Beweglichkeit ist bei 37–43° C zu beobachten.

4.1.2. Bisherige Versuchsergebnisse

4.1.2.1. Allgemeine Wirkungen von Sulfonamiden und Antibiotika auf die Pansentätigkeit

Den früheren und eigenen Untersuchungen über die Wirkungen von Sulfonamiden, Antibiotika und anderen Stoffen auf die Infusorien sollen hier noch einige Beobachtungen vorangestellt werden, die sich auf die gesamte Pansentätigkeit beziehen. In vivo werden sicher nicht allein die Infusorien, sondern der gesamte Panseninhalt betroffen und damit vielleicht indirekt oder direkt auch die Pansenmotorik. Diese Beobachtungen könnten uns deshalb einige Anhaltspunkte dafür geben, ob und wieweit die eigenen Befunde der Wirkungsprüfungen an den Infusorien und über die Gärgasentwicklung auf die praktischen Verhältnisse übertragen werden dürfen.

Wasserman u. a. [74] prüften im künstlichen Pansen die Wirkung verschiedener Antibiotika auf den Zelluloseabbau während 24 Std.: Penicillin förderte in Dosen von 5 und 7,5 gamma/ml den Zelluloseabbau und hemmte ihn bei 15 gamma/ml; Streptomycin war noch wirkungslos bei 12,5 gamma/ml, hemmte aber deutlich in höheren Dosen; Neomycin förderte den Zelluloseabbau bei 25 gamma/ml stärker als bei 50 gamma; Chloromycetin hemmte den Abbau bei 25 und 50 gamma/ml. Penicillin, Neomycin und Chloromyectin verschwanden innerhalb der ersten Stunde zum größten Teil aus der wässrigen Phase des Panseninhaltes. Es wird vermutet, daß eine Adsorption an die Zellulose erfolge und die Antibiotika dann dort beim weiteren Abbau der Zellulose auf die Bakterien nachwirken.

Andersson [2] machte an Schafen und Ziegen (Gewicht 49–53 kg) Fütterungsversuche mit Aureomycin. Er fand:

Dosis	Wirkung
1,6 g, verteilt auf 2–4 Tage	bei höheren Dosen völliger Verlust des Appetites, keine Infusorien mehr Infusorien vorübergehend fast verschwunden Infusorien vorübergehend wenig zahlreich Infusorien kaum beeinflußt
0.25 g, 2mal täglich, 2 Tage lang	
0.25 g, 1 mal täglich, 2, 3, 4 und 10 Tage lang	
0.05 g, 1mal täglich, 10, 21 und 44 Tage lang	

Es zeigte sich, daß die Pansen-Mikro-Organismen auf Aureomycin außerordentlich empfindlich sind. In allen Fällen traten nach einigen Tagen Verdauungsstörungen auf, die sich aber bald wieder normalisierten.

Horstmann [30] führte an Rindern folgende Versuche durch mit einmal per os verabreichten Antibiotika:

Aureomycin: Körpergewicht 412 kg : Dosis 4,0
 Körpergewicht 413 kg : Dosis 4,5
 Körpergewicht 730 kg : Dosis 7,5

Das Allgemeinbefinden der Versuchstiere war nicht gestört, festzustellen waren: leichte Temperaturerhöhung, verminderte Freßlust und gierige Wasseraufnahme. Dagegen war die Pansensaft-Aktivität besonders am 3. Tag stark vermindert, und fast alle Infusorien waren tot.

Chloramphenicol: Körpergewicht 745 kg : Dosis 7,5
 Körpergewicht 898 kg : Dosis 9,0

Keine Störungen des Allgemeinbefindens, nach 24 Std. etwas weniger Infusorien, Pansensaft-Aktivität nie so stark vermindert wie nach Aureomycin.

Terramycin: Körpergewicht 780 kg : Dosis 8,0
 Körpergewicht 660 kg : Dosis 6,5

Allgemeinbefinden leicht gestört, Pansentätigkeit vom 1.-4. Tag stark herabgesetzt, starker Durst, stark verminderte Futteraufnahme, Pansensaft nach 48 Std. völlig inaktiv, Infusorienzahl stark reduziert.

4.1.2.2. Versuche mit Infusorien

Die Literaturangaben über die Empfindlichkeit der Infusorien auf Sulfonamide, Antibiotika und andere Wirkstoffe sind äußerst spärlich. Zudem wurden die Versuche nach sehr verschiedenen Methoden, denen zum Teil erhebliche Mängel anhaften, durchgeführt, so daß wesentliche Anhaltspunkte überhaupt nicht vorliegen.

Tabelle 8

Wirkung von Sulfonamiden auf Infusorien nach D'Agostino Barbaro (Kulturmethode!)

Versuchsubstanz	Dosis	Lebende Infusorien in % der Gesamtzahl pro mm ³ nach				
		Versuchsbeginn	3 Std.	6 Std.	24 Std.	48 Std.
Streptosil-De Angeli	Kontrolle	36/23			16/26	7/12
	0.02	30/31			26/11	—/—
	0.2	37/27		pH	—/—	
Streptosil- Pyridin-N-De Angeli	Kontrolle	33/24		21/21	14/14	
	0.02	23/26		20/12	—/—	
	0.2	48/27		18/12	—/—	
Diazil-Cilag	Kontrolle	28/29	33/23	32/20		
	0.02	24/24	21/21	—/—		
	0.2	23/22	20/20	—/—		

D'Agostino Barbaro [13] hat an zwei Pansensäften von Schafen die Wirkung von Streptosil-De Angeli, Streptosil-Pyridin-N-De Angeli und Diazil-Cilag untersucht, wobei als Versuchsgut eine Mischung von 20% Pansensaft und 80% Wasser diente. Als Dosen wählte sie bei allen Präparaten 0,02 und 0,2/100 ml verdünnten Pansensaft. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 8 zusammengestellt. Auffällig ist dabei, daß bei allen Versuchen selbst in der Kontrolle schon am Anfang über 60% aller Infusorien tot waren.

Sie stellt die Hypothese auf, daß die Sulfonamide für die Infusorien nur indirekt schädlich seien durch toxische Verbindungen, die bei der Auflösung der Bakterien frei werden.

In einem vergleichenden Versuch nach der gleichen Methode prüfte dieselbe Autorin [12] die Wirkungen von Chloramphenicol, Penicillin, Streptomycin und Streptosil (Tabelle 9).

Tabelle 9

Wirkung von Antibiotika auf Infusorien nach D'Agostino Barbaro (Kulturmethode!)

Wirkstoff	Dosis pro 100 ml Kultur	Lebende Infusorien in % der Gesamtzahl nach Std						
		Ver- suchs- beginn	3	6	48	72	144	168
Chloramphenicol	Kontrolle	36	54	—				
	4 mg	34	42	—				
	1000 mg	26	36	—				
Penicillin	Kontrolle	27			45	—		
	20 OE	23			50	—		
	320 000 OE	22			47	—		
Streptomycin	Kontrolle	31	36	—				
	4000 E	30	27	—				
	1 560 000 E	22	18	—				
Streptosil	Kontrolle	29			47	74	55	—
	0.02	29			55	79	63	—
	10.0	—			—			

Bei den Antibiotika vermutet sie eine direkte Wirkung auf die Infusorien.

Zorita u.a. [82] haben den Einfluß von Oxytetracyclinhydrochlorid auf die Infusorien im künstlichen Pansen untersucht im Zusammenhang mit der bakteriellen Zersetzung der Zellulose. Von den anfänglich 805 000 Infusorien/ml Pansenflüssigkeit lebten nach 72 Std. im Kontrollversuch noch 110 000, bei Zusatz von 0,57 mg Oxytetracyclin/100 ml waren nach 72 Std. nur noch Zellreste vorhanden. Dieser Befund wird erklärt durch eine Einwirkung des Oxytetracyclins auf die als Nahrung der Infusorien dienenden Bakterienarten.

Nach den Untersuchungen von Sugden [68] unterdrückte im Vergleich zu Penicillin, Chloramphenicol und Aureomycin nur das Streptomycin wenigstens einen Teil der Bakterienflora, ohne gleichzeitig für die Oligotrichen toxisch zu sein (optimale Streptomycinkonzentration 0,8 m-mol). Während der Glukose-Stoffwechsel der Holotrichen durch Streptomycin nicht beeinflußt wurde, verhungerten die Oligotrichen, weil der Zelluloseabbau durch die Bakterien unterbrochen war.

Heald u. a. [27] stellten in einer Infusorienkultur in Pufferlösung fest, daß bei Zusatz von 0,8 mM/l Streptomycin nach 24 Std. alle Bakterien und Infusorien außer den Isotrichen tot waren. Diese wurden in ihrer Aktivität nicht geschädigt.

Isonikotinsäurehydrazid hat nach den Versuchen von D'Agostino-Barbaro [15] in Mengen von 10–400 mg pro 20 ml Pansenflüssigkeit während der ersten 9 Std. keinen Einfluß auf die Infusorien und Bakterien. Nach 24 Std. waren die Bakterien bei allen Dosen unbeweglich, bei den Infusorien war eine deutliche Wirkung erst bei Dosen über 100 mg/20 ml festzustellen. Nach 48 Std. waren die Infusorien bei Zusatz von mehr als 20 mg/20 ml tot. Eine Wirkung scheint überhaupt erst bei Konzentrationen über 1:1000 einzutreten. Der Wirkungsmechanismus ist unbekannt.

Eadie u. a. [17] prüften die Wirkung von Indol und Skatol auf Isotrichen und Ophryoscolex in Phosphatpufferkulturen (pH 7,2). In molarer Konzentration ist Skatol viel toxischer für die Infusorien als Indol. Bei Sättigung des Puffers (Indol 0,1%, Skatol 0,025%) sind nach 2 Std. in beiden Fällen alle Infusorien geplatzt. Viel weniger toxisch sind Anilin, Tryptamin und Buttersäure.

Mangold u. a. [44] prüften die Schädlichkeit der Milch auf die Infusorien und fanden, daß nicht der Fettgehalt von Bedeutung sei, sondern die pH-Änderung, verursacht durch Butter- und Milchsäure, wobei die Buttersäure toxischer ist. Als kritischen Punkt geben sie pH 6 an.

4.2. Eigene Versuche

4.2.1. Die Versuchssubstanzen

Die besonderen anatomisch-physiologischen Verhältnisse des Verdauungstraktes der Wiederkäuer bedingen eine weitgehende Umgehung der peroralen Applikation von Arzneistoffen, weil durch die Vormägen eine zeitlich wie örtlich und konzentrationsmäßig gezielte Therapie sehr erschwert wird. Entscheidend dafür, ob ein Mittel überhaupt peroral angewandt werden kann, bleibt aber immer die Frage, ob es in den Vormägen zerstört werde oder nicht.

4.2.1.1. Sulfonamide

Die Sulfonamide werden in den Vormägen nicht geschädigt und können deshalb peroral angewandt werden, insbesondere für die Behandlung von Darmaffektionen, wo parenteral die gewünschte Wirkung nicht zu erreichen ist. Geprüft wurden:

1. Sulfanilamidum [58], wird vom Darm aus sehr rasch resorbiert.
2. Sulfathiazolum [59], es nimmt eine Zwischenstellung ein zwischen Sulfanilamid und Sulfaguanidin. Es wird vom Darm aus nur langsam resorbiert, aber rasch ausgeschieden.
3. Sulfaguanidinum [59], es ist vom Darm aus sehr schwer resorbierbar und neben den Phtalylderivaten als Sulfonamid der Wahl zu betrachten für die Behandlung von Darmaffektionen.
4. Sulfadimidinum [59], es wird vom Darm aus sehr rasch und vollständig resorbiert.

4.2.1.2. Antibiotika

Die Antibiotika gehen nicht wie die Sulfonamide von einem gemeinsamen chemischen Grundgerüst aus, deshalb sind auch ihre Wechselbeziehungen zum Panseninhalt verschieden und noch weitgehend unbekannt. Bekannt ist zum Beispiel, daß das Penicillin von der Bakterienflora der Vormägen zerstört wird, das Chlortetracyclin andererseits diese Flora schwer schädigt (Meyer-Jones [50]). Nach Gengoux [23] darf Chlortetracyclin nur in Verbindung mit Vitamin B (welches?) verabreicht werden. Nach Versuchen von Bush u. a. [9] an 3–5 Monate alten Kälbern waren von peroral verabreichtem Chlortetracyclin nach 9 Std. im Pansen saft 85–95% biologisch nicht mehr nachweisbar. Karlson u. a. [36] stellten fest, daß peroral aufgenommenes Streptomycin nicht resorbiert wird, sondern nur auf die Darmflora wirkt.

Wenn also die perorale Anwendung der Antibiotika in therapeutischen Dosen bei den Wiederkäuern mit Ausnahme des Chloramphenicols auch ohne praktische Bedeutung ist, so war deren Prüfung doch interessant als Vergleich mit den Wirkungen der Sulfonamide und im Hinblick auf ihre Bedeutung als Futtermittelzusätze.

Für die Versuche wurden folgende Antibiotika als Reinsubstanzen verwendet:

1. Benzylpenicillinum natricum [59];
2. Streptomycin-Sulfat;
3. Chloramphenicolum [59];
4. Chlor-Tetracyclin-HCl (Lederle);
5. Oxy-Tetracyclin-HCl (Pfizer), 896 E/mg.

Die Tetracycline müssen unbedingt als Reinsubstanzen untersucht werden, da die in den Fertigpräparaten enthaltene Ascorbinsäure sehr starke pH-Erniedrigungen verursacht.

Alle Wirkstoffe wurden den Kulturen in Substanz zugesetzt oder, wo dies wegen der niedrigen Dosierung nicht mehr möglich war, als wässrige Lösung.

4.2.2. Die Kulturmethode

4.2.2.1. Allgemeines

Um diese Wirkungsprüfungen durchführen zu können, mußte zuerst eine geeignete Kulturmethode für die Infusorien gefunden werden. Diese mußte insbesondere zwei Bedingungen erfüllen:

1. Das Kulturmedium mußte so weit als möglich den natürlichen Umweltsbedingungen entsprechen, damit:

- a) die Reaktion der Infusorien auf die zugesetzten Wirkstoffe möglichst der Reaktion im natürlichen Milieu entspricht,
- b) für die zugesetzten Wirkstoffe soweit als möglich die gleichen Inkonvenienzen gelten wie im natürlichen Milieu, also bei peroraler Verabreichung.

2. Das Kulturmilieu mußte über die ganze Versuchsdauer die möglichst volle Lebensfähigkeit der Infusorien garantieren. Nur so erhalten wir ein den natürlichen Verhältnissen entsprechendes Wirkungsbild.

Es geht nicht an, zum Beispiel die Quote der durch einen Wirkstoff nach einer bestimmten Einwirkungszeit abgetöteten Infusorien = 100% zu

setzen, weil dann alle Infusorien tot sind, wenn daneben eine unbehandelte Kontrollkultur nach der gleichen Zeit auch 50% tote Individuen aufzuweisen hat. Diese Rechnung ist auch dann nicht zulässig, wenn der Wirkungskoeffizient nur auf die durch die Kontrolle gegebene Überlebensquote bezogen wird, weil dieser Quote nicht mehr die volle Lebensfähigkeit zugeschrieben werden kann.

Schließlich mußte im Interesse einer richtigen Beobachtung und Beurteilung der Infusorien die Kulturflüssigkeit möglichst klar und frei von festen Bestandteilen sein.

4.2.2.2. Eigene Kulturmethode

Von den bekannten Methoden wurden diejenigen, die den eingangs gestellten Bedingungen wenigstens teilweise entsprachen, auf ihre tatsächliche Brauchbarkeit geprüft. Da aber keine die Erwartungen auch nur einigermaßen erfüllte und überdies auch das Ziel verfolgt wurde, für die Kultur wenn möglich den gleichen Pansensaft zu verwenden, aus dem die Infusorien stammten, mußte eine neue Methode gesucht werden. Insbesondere eignete sich das Seitzfiltrat des Pansensaftes nicht als Grundlage für ein Kulturmedium wegen des stark erhöhten pH-Wertes und schlierenartiger Ausfällungen. Schließlich bewährte sich folgende Zusammensetzung des Kulturmediums:

Zentrifugierter Pansensaft (20 Min. bei 4500 U/min.)	85%	} mit CO ₂ eingestellt auf pH 6,8–7,0
Anorganische Salzlösung	15%	
bestehend aus:	NaHCO ₃	4,90 g
	Na ₂ HPO ₄	4,64 g
	MgO	0,06 g
	Aqua dest. ad	250 ml

Vom gleichen Pansensaft, entnommen von frisch geschlachteten Rindern, wie für die Kulturflüssigkeit wurde eine Fraktion verwendet für die Gewinnung der Infusorien. Dazu wurde der Pansensaft unter Zusatz von etwas Glukose in Spitzgläsern im Brutschrank aufgestellt, wo sich besonders die großen Infusorienarten absetzten, die Festteile aber an der Oberfläche anreicherten. Gleichzeitig stiegen auch die toten und der größte Teil der kleinen Infusorien auf, so daß die Kulturen praktisch nur lebende Individuen enthielten.

Nach dem Absaugen des überstehenden Pansensaftanteiles wurde die zurückbleibende, oft fast reine Isotrichenaufschwemmung der Kulturflüssigkeit zugesetzt. Diese wurde dann auf beliebig viele Kölbchen verteilt nach jeweils vorherigem gutem Umschütteln. Das Verhältnis Infusorienaufschwemmung: Kulturflüssigkeit läßt sich nicht als feste Zahl angeben. Es richtet sich nach dem Volumen der in den Spitzgläsern sedimentierten Infusorien. In der Kultur sollen die Infusorien im Vergleich zu einem infu-

sorienreichen Pansensaft etwa um das 5fache angereichert sein. Für die Versuche wurden pro Kölbchen 40–50 ml Kultur verwendet. Die Kulturen sind unter dauerndem Lichtschutz bei Brutschranktemperatur aufzubewahren.

Die dem zentrifugierten Pansensaft zugesetzte anorganische Salzlösung diente nicht etwa als Verdünnungsmittel, sondern der Stabilisation des pH-Wertes. Da sich die Infusorien im Verlauf der Versuchsreihen immer wieder als hochempfindlich gegen pH-Verschiebungen erwiesen, wurde in den Kölbchen beim Einfüllen der Kulturen die Luft sofort durch eine CO₂-Atmosphäre ersetzt. Daneben war es notwendig, den pH-Wert insbesondere bei den Tetracyclinzusätzen laufend zu kontrollieren und wieder auf den Normalwert einzustellen.

Gut ernährte und aktive Isotrichen erschienen im Mikroskop bei durchfallendem Licht dunkelbraun, im auffallenden Licht himmelblau; erschienen sie aber blaß und durchsichtig, wurde den Kulturen etwas Glukose zugesetzt.

Es hatte sich bereits bei den Vorversuchen gezeigt, daß bei dieser Kulturmethode mit Sicherheit nur die Isotrichen überlebten. Unseren Ansprüchen war damit aber Genüge geleistet, einerseits weil das gewählte Kulturmilieu den eingangs aufgestellten Forderungen entsprach, andererseits weil in der Kultur sowohl lebend wie tot nur die Isotrichen jederzeit sicher von allen andern Arten zu unterscheiden sind.

4.2.2.3. Versuchsmethode und Wirkungsbeurteilung

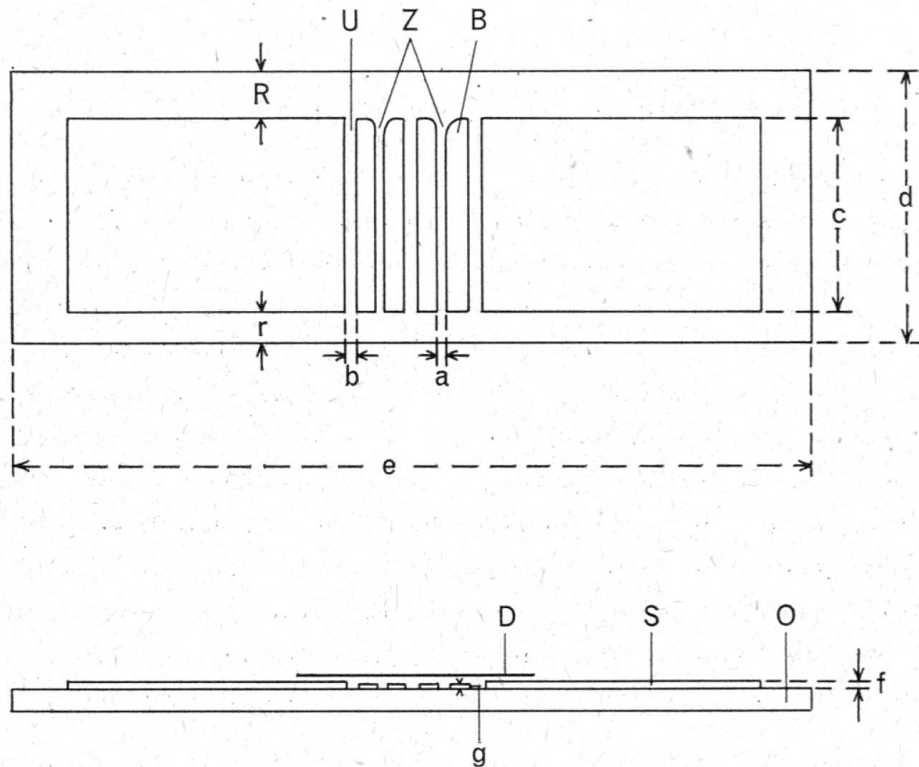
Obwohl es möglich war, in den Kulturen den pH-Wert über längere Zeit stabil und die Infusorien lebend zu erhalten, wurde doch die Versuchszeit auf 6 Std. beschränkt. Wenn es auch gelingt, einen optimalen pH-Wert einzuhalten, so ist damit keineswegs auch eine unveränderte Zusammensetzung der Kulturflüssigkeit gewährleistet; eine Verarmung an Nährstoffen und gleichzeitige Anreicherung von ihrer Wirkung nach unbekanntem Abbauprodukten ist unvermeidbar. Damit ist aber auch eine möglichst natürliche Wechselbeziehung Infusorien : Wirkstoffe nicht mehr gegeben. Eine regelmäßige Erneuerung der wirkstoffhaltigen Kulturflüssigkeit müßte zu unrichtigen Ergebnissen führen, weil so die Infusorien dauernd oder in gewissen Zeitabständen immer wieder unter der Anfangskonzentration des Wirkstoffes stehen, was in Wirklichkeit einer Überdosierung gleichkommt und zu Unsicherheiten und Fehlern in der Wirkungsbeurteilung führen muß.

Die Probeentnahme für die Beobachtung der Wirkungen erfolgte in stündlichen Abständen, vom Zeitpunkt der Zugabe des Wirkstoffes an gerechnet. Vor dem Zusatz der Wirkstoffe erfolgte jeweils noch eine Kontrolluntersuchung der Kultur. Nach 6 Std. wurden die Versuche abgebrochen, außer in jenen Fällen, in denen bei Versuchsende noch keine oder nur unwesentliche Schädigungen der Infusorien festzustellen waren. Eine weitere

Beobachtung dieser Fälle beschränkte sich aber auf die Überlebensquote nach 24 Std.

Das Schwergewicht der Versuche wurde auf die Wirkstoffdosen im Bereich der Schwellenwerte gelegt, um einen Einblick in die Beziehungen zwischen praktisch angewandten therapeutischen Dosen und Verträglichkeitsgrenze für die Infusorien zu erhalten. Diese Schwellenwerte geben uns in Verbindung mit den Ergebnissen bei höheren Dosierungen die maßgebenden Anhaltspunkte dafür, ob ein Wirkstoff überhaupt für die perorale Applikation geeignet ist und wann und in welchem Ausmaß mit Schädigungen der Infusorien gerechnet werden muß.

Als Kriterium für den Wirkungsgrad eines zugesetzten Wirkstoffes ist der Tötungserfolg zu betrachten; das heißt das Zahlenverhältnis zwischen lebenden und toten Isotrichen in der Kultur in bestimmten Zeitabständen. Es ist nicht ganz leicht, lebende, das heißt in raschen Bewegungen umher schwimmende Infusorien zu zählen. Blutzählkammern eignen sich deshalb nicht, weil die Infusorien unter dem Mikroskop dem Lichtstrahl ausweichen und in die tieferen Seitenrillen flüchten, wo eine hinreichend genaue Zählung nicht mehr möglich ist. Eine andere, für diesen speziellen Zweck geeignete Zählkammer gibt es nicht, so daß nach eigenen Erfahrungen ein Modell entwickelt werden mußte (Fig. 1).



O = Objektträger	a = 0.8 mm	g = 0.25 mm
S = Schmelzplatte und Balken	b = 1.0 mm	R = 5 mm
Z = Zählrillen	c = 18 mm	r = 3 mm
U = Überlaufrillen	d = 26 mm	
B = Balken	e = 76 mm	
D = Deckglas	f = 0.3 mm	

Fig. 1

Diese Zählkammer besteht grundsätzlich aus einem verstärkten Objektträger O, auf den eine zweite, schmälere Glasplatte S aufgeschmolzen ist. Diese Platte S ist durch 5 Querrillen unterbrochen. Die dazwischen liegenden Balken B sind etwas weniger hoch als die Seitenteile von S. Dadurch können die Rillen U die Funktion von Überlaufrillen übernehmen, was das Einfüllen von Kultur in die beiden Zählrillen wesentlich erleichtert. Aus dem gleichen Grund sind auch auf der einen Seite der Zählrillen die Balkenecken abgerundet. Im übrigen sind die gleichen Vorsichtsmaßnahmen zu beachten wie beim Einfüllen der Fuchs-Rosenthalkammer (vergl. 3.2.2.).

Die Breite der Zählrillen ist so gewählt, daß sie im Mikroskop mit Objektiv 3 (10fache Vergrößerung) noch gut überblickt werden können. Somit muß das Präparat nur in einer Richtung verschoben werden für die Prüfung des Inhaltes der ganzen Rille. Das Rillenvolumen ist bei dieser Kammer zwar nicht standardisiert. Das ist aber auch nicht notwendig, weil das zahlenmäßige Verhältnis der lebenden zu den toten Infusorien nicht von einem exakt definierten Volumen abhängig ist. Schließlich hat es sich auch gezeigt, daß der enge Zwischenraum zwischen Querbalken und Deckglas die Isotrichen mit seltenen Ausnahmen an der Flucht aus der Zählrille hindert.

Aus den bereits dargelegten Gründen beschränkten sich die Versuche auf Isotricha-Arten. In jeder Zählrille wurden die vorhandenen lebenden und toten Isotrichen getrennt gezählt. Für die Beurteilung des Tötungserfolges haben sich die Isotrichen besonders geeignet; sobald ein Individuum seinen Ziliensaum büstenartig sträubt, ist der Tod eingetreten. Das Aufhören des Zilienschlages und die momentane Unbeweglichkeit können nicht als Todeskriterium bewertet werden, weil bei längerer Beobachtung immer wieder festzustellen war, wie bei solchen Individuen der Zilienschlag wieder einsetzt und sie wieder ganz normal davonschwimmen. Bei den Zählungen wurden deshalb alle Isotrichen mit büstenartig gesträubten Zilien als tot gewertet, alle andern als lebend.

Wenn hier nur der Tötungserfolg der einzelnen Wirkstoffe dargestellt wird, soll damit nicht gesagt sein, daß die überlebenden Isotrichen immer ohne sichtbare Schäden geblieben seien. So konnte ganz besonders in der Chlortetracyclin-Untersuchungsreihe festgestellt werden, daß die Isotrichen zum Teil schon lange vor dem Absterben sich nur noch sehr schwach bewegen oder beim Chloramphenicol sich das Endoplasma vom Ektoplasma ablöst und im Zentrum des Infusorienleibes zusammenballt.

Da die Infusorien nach dem Absterben oft sehr rasch aufgelöst werden, würde die Zählung in der Rille allein viel zu hohe relative Überlebensanteile ergeben. Es mußte deshalb gleichzeitig mit dieser Zählung immer auch eine Probe fixiert und darin die Isotrichenzahl pro Volumeneinheit festgestellt werden. Nur so konnte die Auflösungsquote seit Versuchsbeginn bzw. im Vergleich zum Zustand der Kontrolle im gleichen Zeitpunkt mitberücksichtigt werden. In den als Kontrollen gehaltenen unbehandelten Kulturen starben während der Versuchszeit selten und nur vereinzelt Isotrichen. Der Kontrollwert kann deshalb dem Anfangswert = 100% gleichgesetzt werden und ist zur Vereinfachung in den Tabellen und Darstellungen weggelassen. Das Auswertungsverfahren sei an einem Beispiel erläutert:

Versuchsbeginn:

total Isotrichen pro ml Kultur (praktisch alle lebend, <i>Basiswert</i> , gültig für Kontrolle und Versuch)	50 000 = 100%
<i>nach x-Stunden:</i>	
lebende Isotrichen pro ml Kultur in der Kontrolle	50 000 = 100%
total Isotrichen pro ml behandelte Kultur (Versuch)	25 000
davon sind lebend	20 000 = 40%
tot	5 000 = 10%
bereits aufgelöst	25 000 = 50%
	100%

Während der Versuchsdauer von x Stunden sind also die Hälfte der am Anfang vorhandenen lebenden Isotrichen aufgelöst worden; die effektive Überlebensquote beträgt nur 40% der Anfangszahl und nicht 80%, wie dies vorerst zu sein scheint.

Um in den Gesamtergebnissen ein möglichst richtiges Bild über die einzelnen Wirkstoffe wie auch über die Wirkungsunterschiede zwischen den einzelnen Stoffen zu erhalten, wurden die Versuche zum Teil als Verdünnungsreihen mit dem gleichen Stoff, zum Teil als Vergleichsreihen mit verschiedenen Stoffen durchgeführt.

Alle Angaben über zugesetzte Wirkstoffmengen beziehen sich auf 50 ml Kultur. Nicht standardisiert ist die Zahl der in dieser Kultur pro Volumeneinheit enthaltenen Isotrichen.

4.2.3. Versuchsergebnisse

Es wurde bereits darauf hingewiesen, daß die Versuchskulturen keine reinen Isotrichenkulturen waren, die andern Arten aber mit Ausnahme einzelner Exemplare im vorgelegten Kulturmilieu nicht lebensfähig waren. Wo bei der folgenden Darstellung der Versuchsergebnisse nichts anderes vermerkt ist, starben diese zufälligen Infusorien ab ohne auffällige Beeinflussung durch die zugesetzten Wirkstoffe.

4.2.3.1. Sulfonamide

1. Sulfanilamid

Versuchsdosierungen: 10, 20, 50, 100, 250, 500, 750 und 1000 mg.

Mengen bis zu 500 mg führen zu keiner sichtbaren Wirkung. Die Ergebnisse für 750 und 1000 mg sind in Tabelle 10 zusammengestellt.

Diese beiden letzten Versuchsreihen sind deshalb von besonderem Interesse, weil die feststellbare Löslichkeitsgrenze für Sulfanilamid in der Kulturflüssigkeit bei 500 mg liegt (1 T in 170 T Wasser von 20°C [58]). Offenbar muß also erst der Überschuß in irgendeiner Form toxisch wirken, während das echt gelöste Sulfanilamid für die Isotrichen anscheinend unschädlich ist.

Tabelle 10
Wirkung hoher Sulfanilamiddosen auf die Isotrichen

zugesetzte Wirkstoffmenge mg	Überlebende Isotrichen in % nach Std.				
	Versuchs- beginn	3	4	5	6
750	100	94	89	85	83
1000	100	95	86	54	38

2. Sulfathiazol

Versuchsdosierungen: 50, 500, 750, 1000 mg. Löslichkeit: knapp 50 mg (1 T löst sich in 2700 T Wasser von 20 °C oder in 50 T heißem Wasser [59]).

Sulfathiazol schädigt die Isotrichen in keiner Dosierung. Sie bewahrten ihre volle Lebensfähigkeit selbst im Überlebensversuch über 24 Std.

3. Sulfaguanidin

Versuchsdosierungen: 5, 100, 500, 750, 1000 mg. Löslichkeit: praktisch unlöslich (1 T löst sich in etwa 1000 T kaltem oder 10 T heißem Wasser [59]).

Die Infusorien wurden in keinem Fall sichtbar geschädigt. Im Überlebensversuch über 24 Std. traten bei 5 mg keine Schädigungen auf; bei 100 und mehr mg war die Lebhaftigkeit gegenüber der Kontrolle etwas reduziert.

4. Sulfadimidin

Versuchsdosierung: 5, 100, 500, 750, 1000 mg. Löslichkeit: annähernd 2,0 (= 4%ige Lösung). (1 T löst sich in etwa 2700 T Wasser [59]). Die Versuchsergebnisse sind dargestellt in Fig. 2.

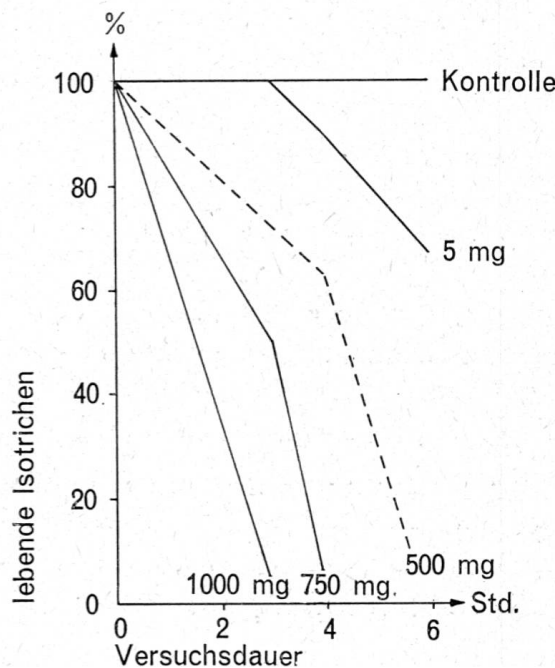


Fig. 2

Sulfadimidin als das am besten lösliche der geprüften Sulfonamide wies auch weitaus die größte Toxizität für Isotrichen auf. Die Resultate streuen allerdings bei steigender Konzentration immer stärker mit zunehmender Versuchsdauer. So lebten in Ausnahmefällen nach 6 Std.:

bei	100 mg noch 86% der Isotrichen
	500 mg noch 55% der Isotrichen
	750 mg noch 48% der Isotrichen
	1000 mg noch 6% der Isotrichen

Die toten Isotrichen lösten sich rasch auf, besonders bei den höheren Wirkstoffkonzentrationen.

4.2.3.2. Antibiotika

1. Penicillin

Versuchsdosierungen: 10 000, 20 000, 40 000, 80 000, 150 000, 200 000, 400 000 IE
Löslichkeit: in allen Dosierungen vollständig gelöst.

Auch bei der höchsten Dosis waren keinerlei Schädigungen der Isotrichen festzustellen. Im Überlebensversuch blieben die Penicillinkulturen bedeutend lebensfähiger als die Kontrollen. Neben den Isotrichen blieben auch alle übrigen Infusorien lebend erhalten.

2. Streptomycin

Versuchsdosierungen: 5, 50, 250, 500, 750 mg. Löslichkeit: in allen Dosierungen vollständig gelöst.

Bei 750 mg waren vereinzelt tote Isotrichen zu finden gegen Ende der Versuchszeit. Bei den übrigen Dosierungen konnten die Isotrichen bis 72 Std. überlebend erhalten werden ohne sichtbare Schädigungen.

3. Chloramphenicol

Versuchsdosierungen: 5, 100, 250 mg. Löslichkeit: etwa 100 mg (1 T löst sich in etwa 400 T Wasser [59]).

Praktisch wirkungslos blieben 5 und 100 mg, nach 6 Std. lebten noch mindestens 98% der Isotrichen.

250 mg wirken stark toxisch und die Streuungsbreite ist entsprechend groß. Im Mittel wurden gezählt:

nach 3 Std.:	65% lebende Isotrichen
nach 4 Std.:	56% lebende Isotrichen
nach 6 Std.:	17% lebende Isotrichen

In Extremfällen waren bereits nach 2 Std. alle Isotrichen tot, wobei nach 1 Std. noch 96% gelebt hatten. Andererseits wurden aber auch nach 6 Std. noch bis 38% lebende gezählt. In der Regel waren nach 6 Std. bereits über 50% der Isotrichen aufgelöst. Als Zeichen des bevorstehenden Absterbens ist es zu werten, wenn sich das Endoplasma ablöst und im Zentrum zusammenballt.

4. Chlortetracyclin

Versuchsdosierungen: 2,5, 5, 25, 50 mg. Löslichkeit: alle Versuchsdosen löslich. Die sehr uneinheitliche Wirkung des Chlortetracyclins ist in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11
Wirkung von Chlortetracyclin auf die Isotrichen

Dosis in mg	Lebende Isotrichen in % nach Std.								
	1	2		3		4		6	
	Mittel	M	Streuung	M	Str.	M	Str.	M	Str.
2,5		100		100		100		100	
5		90	78-100	78	71-100	62	55-100	59	43-100
25		83	77-93	23	4-62	14	0-32	4	0-12
50	74	50	0-74	14	0-68	11	0-65	(5)	0-35

Bei 2,5 mg waren nie Schäden an den Isotrichen zu beobachten, sie überlebten sogar ausnahmslos und unter Erhaltung ihrer vollen Vitalität den 24stündigen Überlebensversuch. Hervorzuheben ist die Beobachtung, daß neben den Isotrichen auch alle in der Kultur vorhandenen Infusorien der Gattung Entodinium, die kleinen Diplodiniumarten und teilweise auch Diplodinium maggii und bursa sowie Ophryoscolex im Überlebensversuch sehr gut erhalten blieben. Dieser Befund ist um so auffälliger, als sonst in keinem Versuch ein sichtlich so günstiger Einfluß auf alle in der Kultur vorhandenen Infusorien festgestellt werden konnte.

Sehr unterschiedlich war die Wirkung bei 5 mg. Teilweise war sie identisch mit derjenigen von 2,5 mg, meist aber war eine bald einsetzende deutliche Schädigung der Isotrichen festzustellen. Die abgestorbenen Isotrichen wurden sehr rasch aufgelöst. Bei Versuchsende waren im Mittel noch vorhanden (lebende und tote Isotrichen zusammen):

bei 5 mg: 60%
25 mg: 30%
50 mg: 16%

Bei 50 mg machten die Isotrichen oft schon nach 1 Std. nur noch Zitterbewegungen ohne wesentliche Lokomotion.

5. Oxytetracyclin

Versuchsdosierungen: 5, 25, 50, 100 mg. Löslichkeit: alle Versuchsdosen löslich. Die Dosen von 5-50 mg geben praktisch keine sichtbaren Schädigungen. Bei 100 mg lebten:

nach 3 Std.: 80% der Isotrichen
4 Std.: 78% der Isotrichen
6 Std.: 70% der Isotrichen

Die abgestorbenen Isotrichen lösten sich nicht auf. Bei 50 und besonders bei 100 mg hat man von der vierten Stunde an oft den Eindruck, daß sich die Isotrichen im Vergleich zur Kontrolle rascher und aufgeregter bewegen. Dieses Exzitationsstadium ist möglicherweise eine Vorstufe der Oxytetracyclinwirkung, denn tatsächlich überleben die Isotrichen bei 100 mg den 24stündigen Überlebensversuch nicht und bei 50 mg nur selten und in kleiner Zahl (etwa 10%).

4.2.4. Besprechung der Ergebnisse

Eine Beurteilung der Versuchsergebnisse ist nur sinnvoll im Hinblick auf die in vivo herrschenden Verhältnisse.

Im *British Veterinary Codex* [8] sind für die hier verwendeten Stoffe für das Rind die in Tabelle 12 angeführten Dosen angegeben.

Tabelle 12
Therapeutische Dosen von Sulfonamiden und Antibiotika für das Rind
(nach *British Veterinary Codex*)

Wirkstoff	Dosis in g/kg Körpergewicht		
	peroral	i. v.	s. c.
Sulfanilamid	0,2	—	—
Sulfathiazol	0,2	—	0,2
Sulfadimidin	0,2	—	0,2
Sulfaguanidin	0,3	—	0,01
Penicillin	—	—	min. 1000 IE
Streptomycin	—	—	0,01
Chloramphenicol	0,015–0,05	—	—
Chlortetracyclin	—	0,012	—
Oxytetracyclin	—	0,003	—

Bei den peroral verwendeten Stoffen dürfen wir voraussetzen, daß im Panseninhalt kein Wirkungsverlust eintrete. Bei den andern Stoffen diene diese Voraussetzung als Vergleichsbasis ebenfalls, ferner die Angabe von Milks [54], wonach zur Erzielung der gleichen Wirkung der Mengenkoeffizient für die i.v.-Injektion auf 0,25, derjenige für die s.c.-Injektion auf 0,5 anzusetzen ist, wenn die perorale Dosis = 1 beträgt.

Wie jede andere, so gehört auch die Zerstörung der Infusorienfauna durch ein Medikament zu dessen unerwünschten Nebenwirkungen. Es war deshalb das Ziel der ganzen Untersuchungsreihe, die maximale unter-schwellige Dosis einiger Wirkstoffe für Infusorien festzulegen und mit den tatsächlich in Frage kommenden Werten zu vergleichen.

Als wesentliches Moment ist zu berücksichtigen, daß im ungünstigsten Fall die ganze dem Tier verabreichte Wirkstoffdosis vorerst in den Hauben-

Pansenraum gelangt. Ferner sei vorausgesetzt, daß ein Adsorptionsgleichgewicht zwischen den in der flüssigen Phase gelösten und an Futterteilchen adsorbierten Wirkstoffanteilen vorliege, das heißt die Versuchsergebnisse in unserer Kulturflüssigkeit direkt den Verhältnissen im Panseninhalt gleichgesetzt werden können. Die Infusorien stehen also in einer direkten Beziehung zum Wirkstoff, wie sie zum Beispiel für bestimmte Krankheitserreger durch die intravenöse Injektion geschaffen ist.

Vervollständigen wir diese Hypothese durch die Annahme, daß $\frac{1}{5}$ des Gesamtgewichtes des Tieres auf den Panseninhalt entfalle, so muß die unterschwellige Dosis eines Wirkstoffes für Infusorien mindestens fünfmal höher sein als dessen perorale oder 20mal höher als dessen therapeutische Dosis pro kg Körpergewicht liegen.

In den Versuchen wurden für Isotrichen die in Tabelle 13 angeführten unterschwelligen Grenzdosen gefunden. Die therapeutische perorale Dosis pro kg Körpergewicht ist dabei = 1 gesetzt. Der Index für die unterschwellige Grenzdosis für die Infusorien in der Kulturflüssigkeit beträgt also 5.

Tabelle 13

Vergleich der therapeutischen Dosen nach British Veterinary Codex und der unterschwelligen Grenzdosen für die Isotrichen

Wirkstoff	perorale therapeutische Dosis g/kg Körpergewicht	gefundene unterschwellige Grenzdosisg/kg Versuchskultur	Index der unterschwelligen Grenzdosis für Isotrichen
Sulfanilamid	0,2	10,0	50
Sulfadimidin	0,2	unter 0,1	unter 0,5
Chloramphenicol	0,05	2,0	40
Chlortetracyclin	0,048	0,05	1
Oxytetracyclin	0,012	1,0	83
Sulfaguanidin	0,3	über 20,0	über 60
Sulfathiazol	0,2	über 20,0	über 100
Penicillin	2000 IE	über 8 Mill.	über 4000
Streptomycin	0,01	15,0	1500

Wie aus dieser Tabelle ersichtlich ist, sind Sulfadimidin und Chlortetracyclin für die Isotrichen schon weit unter der therapeutischen Dosis für das Tier toxisch. Bei allen andern Wirkstoffen liegt die Schwellendosis hoch über dem praktischen Anwendungsbereich, so daß die Isotrichen niemals geschädigt werden.

Es dürfte hier insbesondere ein Vergleich mit den bereits angeführten Versuchen von Andersson und Horstmann interessieren. Nach Andersson ist Aureomycin erst unschädlich in Dosen von 1 mg/kg täglich an abwärts, dann allerdings auch bei Verabreichung während längerer Zeit. Horstmann verabreichte Aureomycin, Chloramphenicol und Terramycin

in Dosen von je 0,01/kg Körpergewicht (= 0,05/kg Panseninhalt) und stellte insbesondere nach den Aureomycin- und Terramycinangaben schwere Schädigungen der Infusorien fest.

Verbindliche Schlüsse können aus diesem Vergleich zwar nicht gezogen werden, einmal wegen der verschieden langen Beobachtungszeiten, dann aber auch deshalb, weil sich in vivo diese Wirkstoffe offenbar auf dem Umweg über unbestimmte Faktoren auf die Infusorien ungünstig auswirken, welche in der Kultur wegfallen. Es ist also möglich, daß in vivo die Verhältnisse für die Infusorien ungünstiger liegen als in den hier verwendeten Kulturen, das heißt die unterschwelligen Grenzdosen zum Teil ganz beträchtlich tiefer liegen.

5. Wirkung einiger Sulfonamide und Antibiotika auf die Gärgasbildung im Panseninhalt

Die in den folgenden Kurven dargestellte Wirkung der untersuchten Sulfonamide und Antibiotika auf die Bildung von Gärgasen im Panseninhalt war nicht das Endziel dieser Versuchsreihen. Vielmehr sollte gezeigt werden, wie sich beim ganzen Prozeß die Infusorien verhalten, um ihren allfälligen Einfluß auf die Gärgasbildung festzuhalten.

5.1. *Methode und Versuchsmaterial*

Die für die Versuche verwendete Apparatur und die Grundsätze der Arbeitsmethode wurden bereits früher eingehend beschrieben (Schumacher [65]). Es wurden die gleichen Stoffe untersucht wie bei den Wirkungsprüfungen an den Isotrichen in der Kultur. Die Gärkölbchen wurden mit je 25 ml Pansensaft beladen. Der Pansensaft wurde bei Versuchsbeginn mikroskopisch auf das Vorkommen, die Artenverteilung und Lebhaftigkeit von Infusorien untersucht. Ein Einzelversuch umfaßt eine Kontrollgruppe und 6 Versuchsgruppen zu je 4 Kölbchen. Die Versuche wurden entweder mit steigenden Zusätzen des gleichen Wirkstoffes oder gleichen Zusätzen verschiedener Wirkstoffe zu je einer Kölbchengruppe durchgeführt. Besonders die letzteren Versuche (gleicher Pansensaft!) geben eine wertvolle Übersicht über die Wirkungsunterschiede der einzelnen Stoffe. Bei Versuchsende wurde von jeder Gruppe gleicher Wirkstoffkonzentration wieder eine Probe untersucht und deren pH-Wert gemessen. Bei diesen Kontrollen konnte es sich nicht um eine zahlenmäßige Bestimmung der Infusorien handeln, sondern lediglich um eine Übersichtskontrolle darüber, wie und welche Infusorienarten den Gärversuch überlebten.

5.2. *Auswertung der Versuche*

Die mittlere Gärgasproduktion der Kontrollgruppe jeder Versuchsreihe vom Versuchsbeginn bis zur jeweiligen Ablesung wurde immer = 100% gesetzt. In der graphischen Darstellung entspricht somit die Gärgasproduktion des Blindversuches (= Kontrollgruppe) einer Horizontalen. Auf diese Basiswerte wurden die Ablesungen der Versuchsgruppen bezogen und in % ausgedrückt. Die Streuungswerte sind in den Kurven nicht dargestellt, sie liegen innerhalb der mit dieser Apparatur an mehreren hundert Versuchen bestätigten Schwankungsbreite von $\pm 10\%$.

5.3. Versuchsergebnisse

5.3.1. Sulfonamide

Die Wirkung der Sulfonamide wurde geprüft in Dosen von 2,5, 100, 300 und 500 mg pro 25 ml. Pansensaft (Fig. 3). Die entsprechenden Dosen pro kg Panseninhalt wären: 0,1, 4,0, 12,0 und 20,0, während die Dosierungen nach dem *Britisch Veterinary Codex* [8] bei 0,2–0,3/kg liegen. Wenn in den Versuchen Dosen angewandt wurden, die weit über jeder praktischen Bedeutung liegen, so nur deshalb, weil bei Konzentrationen therapeutischer Größenordnung keine sicheren Wirkungen festzustellen waren.

Die wesentlichen Ergebnisse lassen sich dahin zusammenfassen:

1. Sulfanilamid wirkt bei allen Dosierungen schwach gärungshemmend. Das Maximum wird schon nach der ersten Stunde erreicht.
2. Sulfathiazol wirkt bei 2,5 mg sehr schwach hemmend. Die unbedeutende Gärungsförderung bei den höheren Dosierungen konnte in Zwischenversuchen schon bei 50 mg festgestellt werden.
3. Sulfaguanidin verhält sich sehr ähnlich dem Sulfanilamid.
4. Sulfadimidin führt mit zunehmender Konzentration zu immer stärkeren Gärungshemmungen, die schon nach einer Stunde sehr deutlich sind und bei den hohen Konzentrationen bereits den völligen Gärungsstillstand bewirken.

Sulfadimidin war auch bei der höchsten Versuchsdosis völlig gelöst im Pansensaft, Sulfanilamid löst sich bis etwa 1%, Sulfathiazol bis knapp 0,1%, und Sulfaguadinin ist praktisch unlöslich.

Die Infusorien verhielten sich in diesen Gärversuchen folgendermaßen (Versuchsende):

Sulfanilamid: Zusätze bis 0,1 überleben alle vorhandenen Infusorienarten ohne Schädigungen. Bei 0,3 und mehr sind alle Infusorien tot.

Sulfathiazol: Die Infusorien blieben bei allen Versuchsreihen unbeschädigt.

Sulfaguanidin: Keine Schäden bis 0,1, Zusätze von 0,3 und mehr sind in unterschiedlichem Maße toxisch.

Sulfadimidin: 2,5 mg sind in Einzelfällen bereits toxisch; bei 0,1 sind die Schädigungen bereits deutlich, und bei 0,3 und mehr sind alle Infusorien tot.

5.3.2. Antibiotika

Bei den Antibiotika wurden die Wirkungen folgender Dosen geprüft:

Penicillin: 250, 2500, 10 000, 25 000, 50 000, 150 000 IE.

Streptomycin: 2,5, 25, 100, 200, 300, 900 mg.

Chloramphenicol: 0,1, 0,5, 2,5, 100 mg.

Chlortetracyclin: 0,5, 1,5, 2,5, 25, 100, 200 mg.

Oxytetracyclin: 0,5, 1,5, 2,5, 25, 100 mg.

Pro kg Panseninhalt ergäbe das Dosen von:

Penicillin: 10 000, 100 000, 400 000, 1 Mill., 2 Mill., 6 Mill. IE.

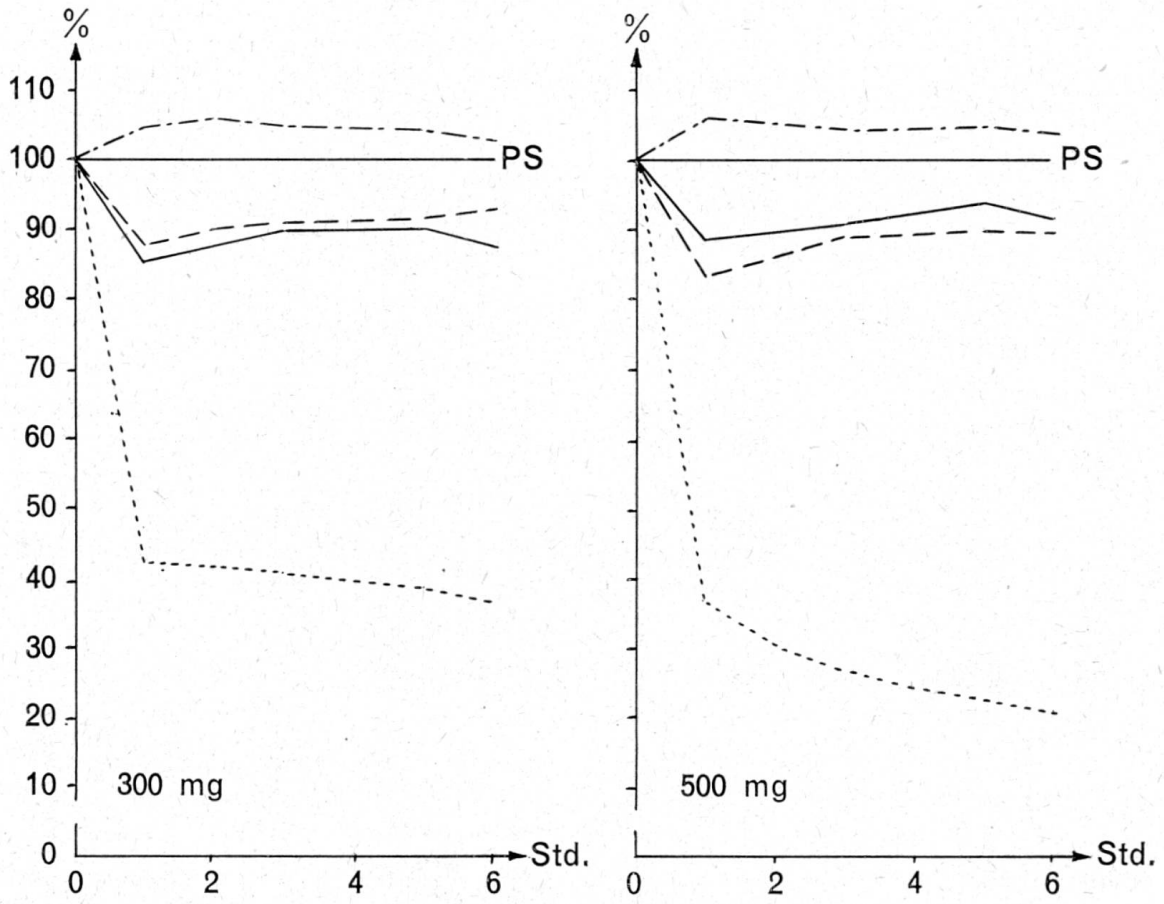
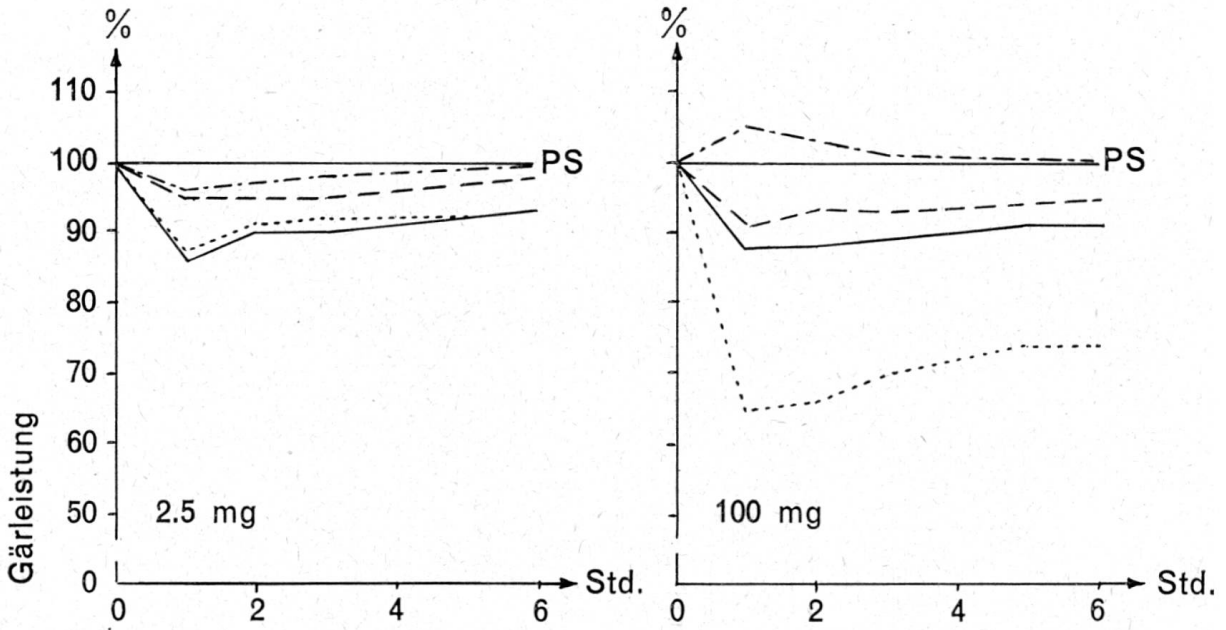
Streptomycin: 0,1, 1,0, 4,0, 8,0, 12,0, 36,0.

Chloramphenicol: 0,004, 0,02, 0,1, 4,0.

Chlortetracyclin: 0,02, 0,06, 0,1, 1,0, 4,0, 8,0.

Oxytetracyclin: 0,02, 0,06, 0,1, 1,0, 4,0.

Gärversuche mit Sulfonamiden



PS = Kontroll-Pansensaft

— = Sulfadimidin

- - - = Sulfaguanidin

- · - · = Sulfathiazol

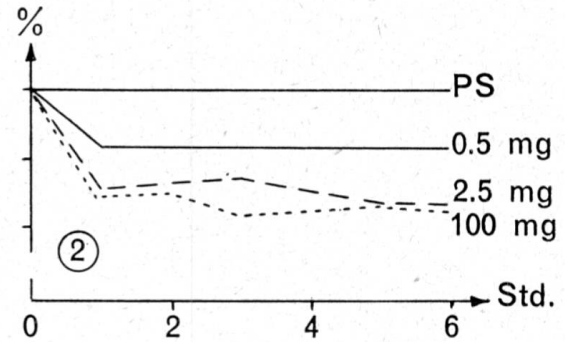
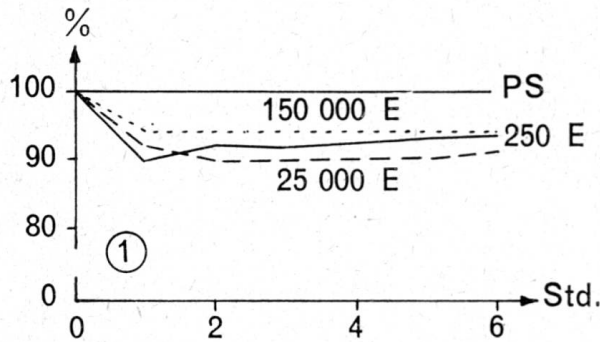
- · - · = Sulfanilamid

Fig. 3

Die therapeutisch verwendeten Dosen wurden bereits früher (vergl. 4.2.3.3.) angegeben.

Die Wirkungen auf die Gärgasproduktion sind in den Kurven Fig. 4 dargestellt.

Gärversuche mit Antibiotika



- 1 = Penizillin
- 2 = Chloramphenikol
- 3 = Streptomycin
- 4 = Chlortetrazyklin
- 5 = Oxytetrazyklin

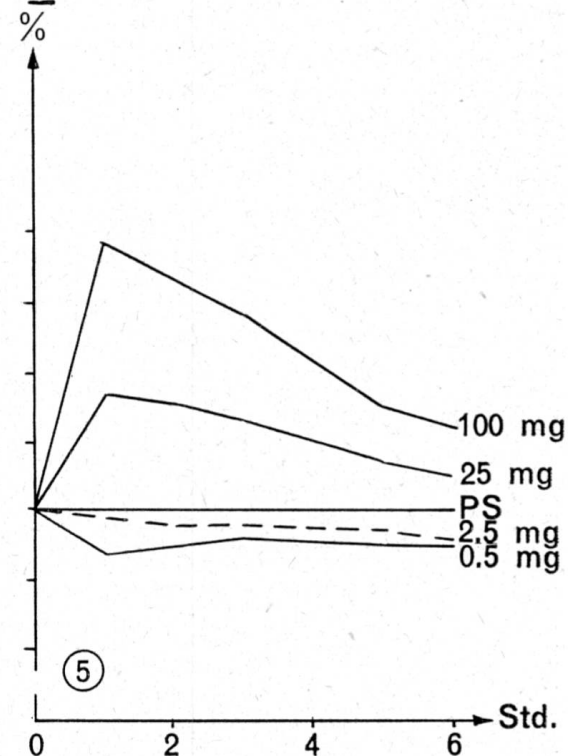
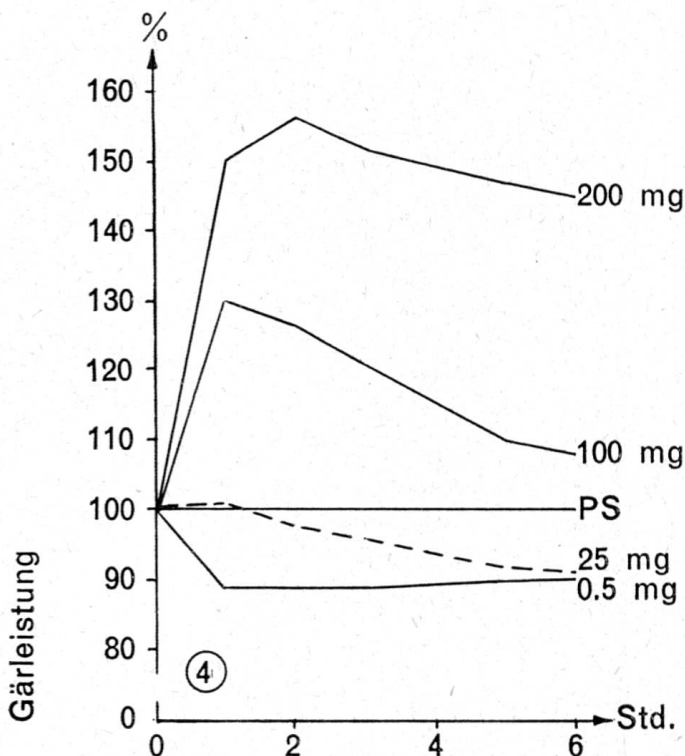
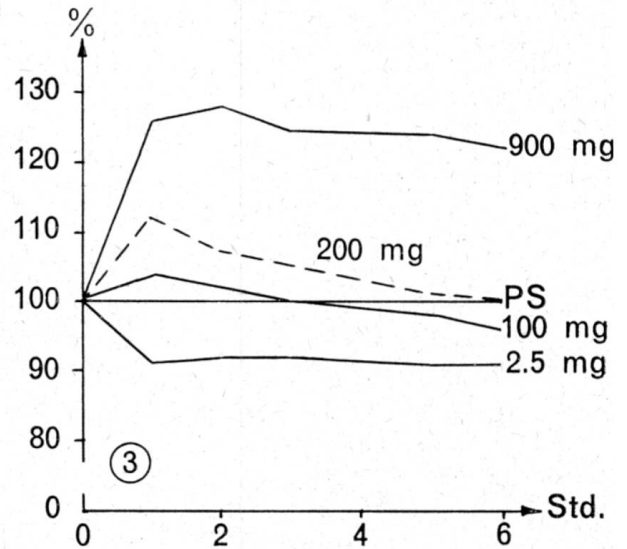


Fig. 4

Wir sehen aus diesen Kurven, daß:

1. Penicillin in allen Dosierungen mit unwesentlichen Differenzen als schwacher Gärungshemmer wirkt,
2. Streptomycin in Dosen bis 25 mg als schwacher Hemmer wirkt, bei 100 mg von einer anfänglich schwachen Förderung bei Versuchshalbzeit in eine schwache Hemmung umschlägt und in höheren Dosen die Gärung zunehmend fördert,
3. Chloramphenicol mit steigender Dosis die Gärung, wenn auch nicht stark, so doch zunehmend hemmt,
4. Chlortetracyclin in Dosen unter 25 mg die Gärung schwach hemmt und nachher in eine starke Förderung umschlägt,
5. Oxytetracyclin ungefähr bei 2,5 mg von einer Hemmung in eine Förderung umschlägt, die stärker ist als bei allen andern untersuchten Substanzen.

An den Infusorien konnten folgende Wirkungen festgestellt werden:

Penicillin: Fördert die Lebenderhaltung der Infusorien in jeder Dosis. Neben den Isotrichen bleiben auch alle andern Infusorienarten erhalten.

Streptomycin: Seine Wirkung kann ziemlich stark schwanken; meistens sind aber die gleichen Ergebnisse zu beobachten wie bei Penicillin, besonders bei höherer Dosierung.

Chloramphenicol: Wirkt in Dosen bis 0,5 mg lebenserhaltend auf alle Infusorienarten; bei 2,5 mg schwankt die Wirkung stark, und bei 0,1 sind alle Infusorien tot.

Chlortetracyclin: Bis 1,5 mg ist die Wirkung sehr unterschiedlich, bei 2,5–100 mg wird die Schädlichkeit eindeutig, und bei 0,2 sind alle Infusorien tot.

Oxytetracyclin: Wirkt günstig in Dosen bis 2,5 mg; von 25 mg an wird die Wirkung uneinheitlich und vorwiegend schädlich.

5.3.3. Kombinationen von Sulfonamiden und Antibiotika

Es konnte sich hier nicht darum handeln, alle möglichen Kombinationen der einzeln geprüften Sulfonamide und Antibiotika in verschiedenen Dosierungen zu berücksichtigen. Von besonderer Bedeutung schienen einige Kombinationen, die auch in der Praxis bereits Eingang gefunden haben, wie zum Beispiel:

Sulfanilamid–Penicillin,
Sulfanilamid–Streptomycin,
Penicillin–Streptomycin;

ferner wurden auch geprüft:

Penicillin–Sulfaguanidin,
Streptomycin–Sulfaguanidin.

Als Dosen wurden für alle Versuche gewählt:

Penicillin	50 000 IE
Streptomycin	0,3
Sulfanilamid	0,1
Sulfadimidin	0,1
Sulfaguanidin	0,1

Die Ergebnisse dieser Versuche sind dargestellt in den Kurven der Fig. 5.

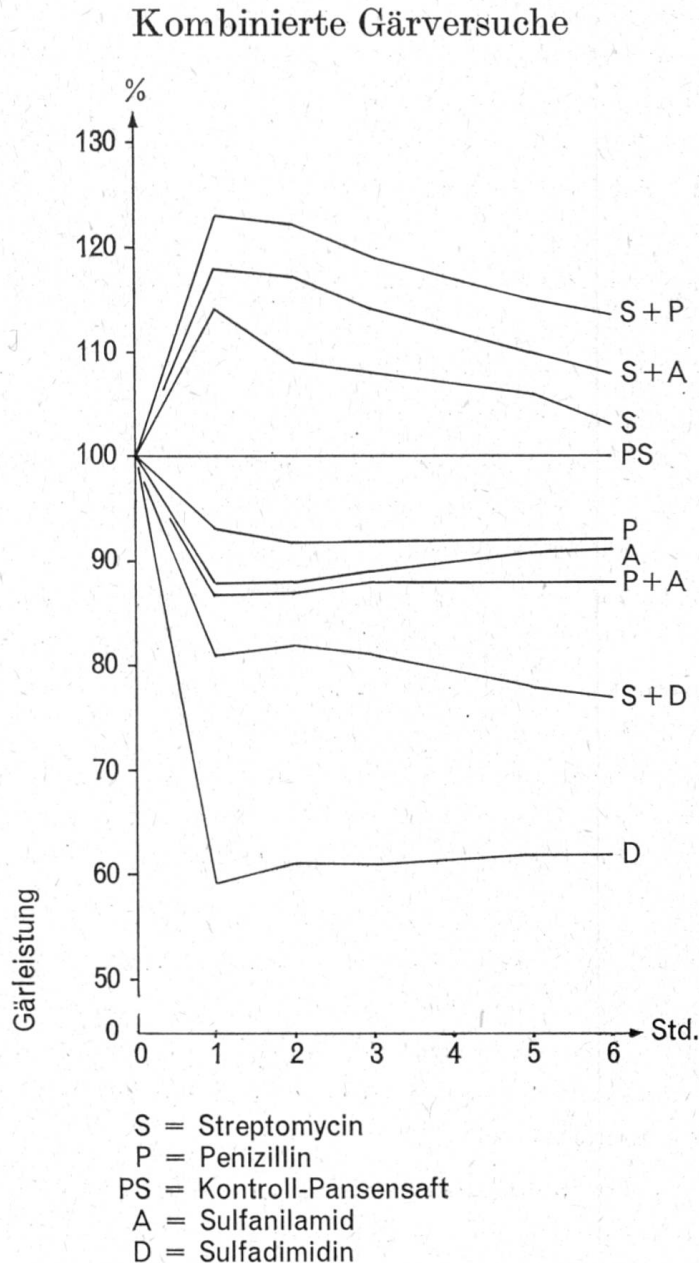


Fig. 5

Diese Kombinationsversuche nahmen teilweise einen Verlauf, der auf Grund der Versuche mit den Einzelsubstanzen nicht zu erwarten war. So wird zum Beispiel die Gärungsförderung durch Streptomycin bei Zusatz des im Alleinversuch hemmenden Penicillin oder Sulfanilamid nicht etwa gedämpft, sondern noch weiter gefördert. Ebenfalls wird die sehr starke Gärungshemmung durch Sulfadimidin allein wesentlich gedämpft beim Zusatz von Streptomycin oder Streptomycin + Penicillin. Bei der Kombination Sulfadimidin-Penicillin bleibt eine additive Hemmungswirkung aus. Bei den übrigen Kombinationen verliefen die Versuche als Resultanten entsprechend den Ergebnissen bei den Einzelversuchen.

Schädigungen der Infusorien waren bei den Kombinationsversuchen nicht festzustellen.

5.4. *Diskussion der Versuchsergebnisse*

Die Gärversuche haben einige Ergebnisse gezeitigt, deren Erklärung auf Grund der heutigen Kenntnisse über die Biologie des Panseninhaltes noch nicht mit Sicherheit möglich ist. Die Lücken betreffen insbesondere die Zusammensetzung der Mikrofauna im Pansen, ihre Reaktion auf Sulfonamide und Antibiotika sowie die Anteile der einzelnen Arten an der Gesamt-Gärgasproduktion.

Bei Sulfanilamid und Sulfaguanidin bleibt die Gärungshemmung bei allen Dosierungen annähernd konstant, ungeachtet der Toxizitätsgrenze für die Infusorien; also können diese als wesentliche Ursache für die Gasbildung nicht in Frage kommen.

Beim Sulfathiazol konnten bei steigender Dosis im Gegensatz zum Wirkungsumschlag auf die Gärung an den Infusorien keine entsprechenden Beobachtungen gemacht werden.

Die auffällige starke Wirkung des Sulfadimidins ist sicher zu einem wesentlichen Teil auf seine sehr gute Löslichkeit im Pansensaft zurückzuführen. Es darf aus den Resultaten aber auch geschlossen werden, daß sich die Wirkung auf sehr viele Arten von gasbildenden Elementen erstrecken muß. Daß den Infusorien keine bedeutende Rolle bei der Gärgasproduktion zukommen kann, beweist ein Vergleich der 500 mg-Kurven von Sulfanilamid und Sulfadimidin: in beiden Fällen sind alle Infusorien tot.

Die Antibiotika wirken in Konzentrationen bis 1:10 000 alle mehr oder weniger deutlich gärungshemmend. In höheren Konzentrationen bilden sie zwei Gruppen mit gegensätzlicher Wirkung: auf der einen Seite Penicillin und Chloramphenicol, die die Gärung weiterhin, wenn auch nicht stärker, hemmen; auf der andern Seite Streptomycin und die Tetracycline, die die Gärung immer stärker fördern.

Aus einem Vergleich der Antibiotika-Gärversuche geht eindeutig hervor, daß die Infusorien mindestens im Rahmen der gegebenen Meßgenauigkeit an der Gärgasproduktion nicht beteiligt sein können: Penicillin hemmt die Gärung in jedem Fall, die Wirkung des Streptomycins schlägt um; beide Substanzen gewähren aber in allen Dosierungen den Infusorien überdurchschnittliche Lebensbedingungen; bei den Tetracyclinen sind die Wirkungen steigender Dosen auf die Infusorien und die Gärgasproduktion umgekehrt proportional.

Zusammenfassend ist festzuhalten, daß die untersuchten Substanzen, soweit sie peroral überhaupt verabreicht werden, in therapeutischen Dosen keine wesentlichen Veränderungen der Gärgasproduktion im Pansen bewirken. Das Schicksal der geprüften Wirkstoffe im Panseninhalt und ihr Wirkungsmechanismus gegenüber den Infusorien ist nicht abgeklärt. Sicher ist aber, daß die Infusorien an der Gasproduktion nicht oder nur ganz unwesentlich beteiligt sein können.

6. Zusammenfassung

Die Versuche haben ergeben:

6.1. Die mittlere Infusorienzahl pro ml Panseninhalt betrug 206 500, wobei Abweichungen bis $\pm 50\%$ als normal zu betrachten sind.

6.2. Das mittlere Volumen der Infusorien beträgt etwa $\frac{1}{70}$ der Volumeneinheit Panseninhalt. Das Volumen ist viel stärker von der artenmäßigen Verteilung als von der Zahl der vorhandenen Infusorien abhängig.

6.3. Die Wirkung von Sulfonamiden und Antibiotika wurde an Isotrichakulturen geprüft. Die angewandte Kulturmethode und die für die Wirkungsbeurteilung entwickelte Zählkammer werden beschrieben.

Von den geprüften Sulfonamiden ist nur Sulfadimidin bereits in subtherapeutischer Dosis toxisch für die Isotrichen.

Von den geprüften Antibiotika liegt beim Chlortetracyclin die Toxizitätsgrenze etwa fünfmal tiefer als der therapeutische Anwendungsbereich. Dagegen wirken Penicillin und Streptomycin auch in sehr hohen Dosen vorteilhaft auf die Lebensfähigkeit der Isotrichen.

6.4. Die Panseninfusorien sind an der Produktion von Gärgasen nicht oder nur ganz unwesentlich beteiligt.

Von den Sulfonamiden führt allein Sulfadimidin zu einer bemerkenswerten Hemmung der Gärvorgänge, allerdings auch erst bei Überdosierungen.

Bei den Antibiotika sind keine wesentlichen Gärungshemmungen festzustellen. Auffälligerweise kommen im Gegenteil – allerdings bei hohen Dosen – bei Streptomycin, Chlor- und Oxytetracyclin starke Gärungsförderungen vor.

Die Wirkungsprüfungen sowohl an den Isotrichenkulturen wie bei den Gärversuchen sind in dem Sinne nicht als endgültig zu betrachten, als die Ergebnisse nicht unbesehen auf das lebende Rind übertragen werden dürfen. Im Pansen leben die Infusorien vergesellschaftet mit Bakterien, Hefen und Fermenten, zwischen denen sicher biologische Beziehungen bestehen. So wenig wie also die Infusorien allein für das biologische Geschehen im Panseninhalt verantwortlich sind, sind sie – rein von der Pansenbiologie aus betrachtet – auch nicht allein dafür maßgebend, wie hoch die Dosis eines peroral verabreichten Wirkstoffes gewählt werden darf.

Über den Wirkungsmechanismus der verwendeten Wirkstoffe sind auf Grund der gemachten Beobachtungen und der Versuchsergebnisse keine Aussagen möglich.

Résumé

Résultats des essais:

6.1. Le nombre moyen d'infusoires par ml de contenu de la panse comportait 206 500; les écarts allant jusqu'à $\pm 50\%$ doivent être considérés comme normaux.

6.2. Le volume moyen des infusoires est d'environ $\frac{1}{70}$ de l'unité de volume du contenu de la panse. Le volume dépend beaucoup plus de la répartition des espèces que du nombre des infusoires présentes.

6.3. L'action des sulfamidés et des antibiotiques a été contrôlée par des cultures

d'isotriches. Description de la méthode de culture et des chambres de numération apparues pour l'appréciation de l'action développée. Parmi les sulfamidés, seule la sulfamidine est déjà toxique pour les isotriches à dose subthérapeutique. Parmi les antibiotiques examinés, la limite de toxicité pour la tétracycline de chlore se situe à 5 degrés plus bas que les champ d'application thérapeutique. En revanche, la pénicilline et la streptomycine exercent une influence très heureuse sur la viabilité des isotriches.

6.4. Les infusoires de la panse ne prennent qu'une part très faible à la production de gaz de fermentation. Seule d'entre les sulfamidés, la sulfamidine exerce une action inhibitrice certaine sur les processus de fermentation. Pour ce qui touche les antibiotiques, on ne constate guère d'inhibition des fermentations. En revanche, il est remarquable d'observer de fortes fermentations avec de hautes doses de streptomycine, de tétracycline de chlore et d'oxytétracycline.

Les contrôles de l'action exercée tant par les cultures d'isotriches que par les essais de fermentation, ne doivent pas être considérés comme définitifs, en ce sens que les résultats ne peuvent être sans autre reportés sur les bovins. Dans la panse, les infusoires vivent en compagnie de bactéries, de levures et de ferments qui ont entre eux des relations biologiques. Les infusoires sont aussi peu responsables des phénomènes biologiques se réalisant dans le contenu de la panse que déterminants pour le choix d'une dose d'une substance active à administrer oralement. En ce qui concerne les substances actives, il ne peut être fait de déclaration sur la base des observations faites et du résultats des essais.

Riassunto

Il numero medio degli infusori per ml nel contenuto del panzone è di 206 500 e sono da considerare normali le deviazioni fino al $\pm 50\%$.

Il volume medio degli infusori è di circa 1/70 dell'unità di volume del contenuto del panzone. Il volume è molto più forte della ripartizione mediocre delle specie, che dipende dal numero degli infusori presenti.

L'effetto di sulfamidici e di antibiotici fu provato sulle colture di isotrichidi. Si descrivono il metodo di coltura usato e la camera di conteggio sviluppata per valutare l'effetto. Dei sulfamidici controllati, solo il Sulfamidin è già tossico in dose sotto-terapeutica per gli isotrichidi. Degli antibiotici provati, nel Clorotetracyclin il limite tossico è 5 volte più basso del campo terapeutico usato. Invece la penicillina e la streptomycina, anche in dose molto elevate, sono molto vantaggiose sulla capacità vitale degli isotrichidi.

Gli infusori del panzone prendono parte solo in forma non essenziale o non partecipano alla produzione dei gas di fermentazione. Dei sulfamidici, solo il Sulfamidin produce un impedimento notevole dei fatti fermentativi, tuttavia anche solo nei superdosaggi. Con gli antibiotici non si accertano impedimenti alle formazioni gassose. E sorprendente invece che - ma solo in dosi elevate - con la streptomycina, la Cloro - e l'ossitetracyclina si producono forti produzioni di gas.

Le prove di effetto, sia nelle colture di isotrichidi che negli esperimenti di fermentazione, non sono da considerare conclusive, dato che i risultati non possono essere applicati sul bovino vivente. Nel panzone gli infusori vivono insieme con i batteri, i lieviti ed i fermenti, fra i quali esistono certamente delle relazioni biologiche. Gli infusori da soli, non sono responsabili delle manifestazioni biologiche nel contenuto del panzone e nemmeno competenti per spiegare la biologia del panzone e circa la quale non si possono ancora dare degli schiarimenti.

Summary

Results of the investigations:

6.1. The average number of infusoria in the content of the rumen amounts to 206 500 pro ml. Deviations up to $\pm 50\%$ are taken as normal.

6.2. The average volume of the infusoria was about 1/70 of the volume unity of rumen content. The volume depends to a greater extent on the species distribution than on the number of the infusoria present.

6.3. The effect of sulphonamide drugs and antibiotics was examined on cultures of isotricha. Culture methods and counting chamber used for the judgement of the effect are described. From the sulphonamides only sulphamidin is toxic even in sub-therapeutical doses for isotricha. With chlortetracyclin the toxic limit is about five times lower than the therapeutic concentration. Penicillin and tetracyclin however are favourable for the vitality of isotricha even in high concentrations.

6.4. The infusoria of the rumen are not or only very little engaged in the production of fermentation gases. Among sulphonamids only sulphamidine shows a remarkable inhibition of fermentation, but only in supertherapeutic doses. The inhibitory effect of antibiotics is very slight. But in high doses of streptomycin, chlortetracyclin and oxytetracyclin the activation of fermentation is very strong.

The results of these investigations with isotricha cultures and fermentation should not or only with care transferred to living cattle. In the rumen the infusoria live in combination and relation with bacteria, yeasts and enzymes. The infusoria alone are not responsible for the rumen biology nor for the choice of the dosis of a perorally applied drug. The experiments do not allow conclusions regarding the mechanism of action of the mentioned drugs.

7. Benützte Literatur

- [1] Adler, J. H., J. A. Dye, D. E. Boggs u. H. H. Williams: *The Cornell Veterinarian*, 48, 53-66 (1958). - [2] Andersson, P.: *Nordisk Vet.*, 5, 636-652 (1953). - [3] Becker, E. R.: *Proc. Nat. Acad. Sc.*, 15, 435-438 (1929). - [4] Becker, E. R. u. R. C. Everett: *ibid.*, 15, 683-684 (1929). - [5] Becker, E. R. u. T. S. Hsiung: *ibid.*, 15, 684-690 (1929). - [6] Beyrle, E.: *Untersuchungen über die Panseninfusorien bei Schlachttieren*, Diss. München, 1956. - [7] Braune, R.: *Untersuchungen über die im Wiederkäuermagen vorkommenden Protozoen*, Diss. Berlin, 1913. - [8] *British Veterinary Codex*, S. 38-40, 94, 249-251, 258-262, 355, 367-369, 371, 378, The Pharmaceutical Press, London, 1953. - [9] Bush, L. J., N. L. Jacobson u. P. A. Hartmann: *Antibiotics and Chemotherapie*, 7, 9-12 (1957). - [10] Conrad, H. R. u. J. W. Hibbs: *J. Dairy Sc.*, 38, 548 (1955). - [11] Crasemann, E.: *Schweiz. Landw. Mh.*, 34, 494-499 (1956). - [12] D'Agostino Barbaro, A.: *Zootecnia e Veterinaria*, 6, 432-436 (1951). - [13] dies.: *ibid.*, 7, 20-24 (1952). - [14] dies.: *Boll. Soc. Ital. Biologia speriment.*, 28, 2026-2029 (1952 II). - [15] dies.: *ibid.*, 28, 2029-2032 (1952 II). - [16] Dogiel, V.: *Arch. Protistenkde.*, 50, 283-442 (1925). - [17] Eadie, J. M. u. A. E. Oxford: *Nature*, London, 174, 973 (1954). - [18] Eberlein, R.: *Zschr. wissenschaftl. Zool.*, 59, 233, (1895). - [19] Falaschini, A.: *Ann. del R. Istituto Sup. Agrario di Milano*, 1, fasc. II (1934). - [20] Ferber, K.-E.: *Zschr. Tierzüchtg. u. Züchtungsbiol.*, 12, 1-35 (1928). - [21] Ferber, K.-E. u. T. Winogradowa-Fedorowa: *Biol. Zbl.*, 49, 321-328 (1929). - [22] Forsyth, G. u. E. L. Hirst: *J. Chemical Soc.*, S. 2132-2135 (1953). - [23] Gengoux, P.: *Pharmacologie générale et vétérinaire*, S. 193, Verlag Jules Duculot, Gembloux, 1959. - [24] Gruby und Delafond: *zit. nach Eberlein [18]*. - [25] Gutierrez, J.: *J. of Protozoology*, 1, Suppl. 9-10 (1954). - [26] ders.: *Biochemical J.*, Cambridge, 60, 516-522 (1955). - [27] Heald, P. J., A. E. Oxford u. B. Sugden: *Nature*, London, 169, 1055-1056 (1952). - [28] Heald, P. J. u. A. E. Oxford: *Biochemical J.*, 53, 506-512 (1953). - [29] Hedler, L.: *Zschr. Tierzüchtg. u. Züchtungsbiol.*, 60, 117-172 (1952). - [30] Horstmann, G.: *Untersuchungen des Pansensaftes gesunder Rinder bei Weidegang und Stallfütterung sowie nach Behandlung mit antibiotischen Mitteln*, Diss. Hannover, 1956. - [31] Huffmann, C. F.: *The Scientific monthly*, 66, 342-344 (1948). - [32] Huhtanen, C. N., R. K. Saunders u. L. S. Gall: *J. Dairy Sc.*, 37, 328-335 (1954). - [33] Hungate, R. E.: *Biological Bull.*, 83, 303-319, (1942). - [34] ders.: *ibid.*, 84, 157-163 (1943). - [35] ders.: *Ann. Rev. of Microbiol.*, 4, 53-66 (1950). - [36] Karlson, A. G. u. W. H. Feldmann: *J. Am. Vet. Med. Ass.*, 110, 63, (1947). - [37] Knoth, M.: *Z. Parasitenkde.*, 1, 262-282 (1928). - [38] Koch, A.: *Landwirtschaftl. Forschung*, 6, 70-73 (1954). - [39] Latteur, J.-P.: *Revue de l'agriculture*, 6, 1337-1371 (1953). - [40] Liebetanz, E.: *Arch. Protistenkde.*, 19, 19-80 (1910). - [41] Louw,

- J. G., H. H. Williams u. L. A. Maynard: *Science*, *110*, 478–480 (1949). – [42] Mangold, E.: *Handbuch der Ernährung und des Stoffwechsels der landwirtschaftlichen Nutztiere*, 2. Bd.: *Verdauung und Ausscheidung*, S. 156–182, Springer, Berlin, 1929. – [43] ders.: *Ergebn. der Biologie*, *19*, 1–81 (1943). – [44] Mangold, E. u. W. Lenkeit: *Arch. Tierernährg. u. Tierzucht*, *5*, 201–205 (1931). – [45] Mangold, E. u. T. Radeff: *Arch. Tierernährg. u. Tierzucht*, *4*, 173–199 (1930). – [46] Mangold, E. u. C. Schmitt-Krahmer: *Biochem. Zeitschr.*, *191*, 411–422 (1927). – [47] Mangold, E. u. F. Usuelli: *Wiss. Arch. Landw. B (Tierernährg. u. Tierzucht)*, *3*, 189–201 (1930). – [48] Manusardi, L.: *Boll. del Laboratorio di Zoologia Agraria e Bachicoltura del R. Istituto di Milano, Separatabzug*, *4* (1931–32). – [49] Margolin, S.: *Biological Bull.*, *59*, 301–305 (1930). – [50] Masson, F. M. u. A. E. Oxford: *J. gen. Microbiology*, *5*, 664–672 (1951). – [51] McDougall, E. I.: *Biochemical J.*, *43*, 99–109 (1948). – [52] McNaught, M. L., E. C. Owen, K. M. Henry u. S. K. Kon: *Biochemical J.*, *56*, 151–156 (1954). – [53] Meyer-Jones, L.: *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, S. 451, Iowa State College Press, Ames, 1954. – [54] Milks, H. J.: *Practical Veterinary Pharmacology, Materia Medica and Therapeutics*, 5. Aufl. mit Addendum, S. 75, Baillière, Tindall and Cox, London, 1946. – [55] Oxford, A. E.: *J. gen. Microbiology*, *5*, 83–90 (1951). – [56] ders.: *Experiment. Parasitology*, *4*, 569–605 (1955). – [57] Peschek, I.: *Untersuchungen über den Keimgehalt im Pansen der Wiederkäuer*, Diss. München, 1954. – [58] *Pharmacopoea Helv.*: Ed. Quinta, Suppl. I, deutsche Ausgabe, S. 85, Verlag Stämpfli & Co, Bern, 1948. – [59] *ibid.*: Suppl. II, deutsche Ausgabe, S. 17, 33, 110, 112, 114, Verlag Eidg. Druck-sachen- und Materialzentrale, Bern 1955. – [60] Poche, F.: *Arch. Protistenkde*, *30*, 125–321 (1913). – [61] Pounden, W. D. u. J. W. Hibbs: *J. Dairy Sc.*, *33*, 639–644, (1950). – [62] Prabucki, A. L.: *Agradata*, *2*, Nr. 5 (1958). – [63] Rolle, M. u. I. Peschek: *Berl., Münch. Tierärztl. Wschr.*, *69*, 248–250 (1956). – [64] Scheunert, A.: zit. nach H. Brandt: *Münch. Tierärztl. Wschr.*, *88*, 481–483 (1937). – [65] Schumacher, E.: *Vergleichende Untersuchungen über die Wirkung von Blattextrakten der Taxus baccata L., Abies alba Miller und Taxus-Wirkstoffen mit besonderer Rücksicht auf die Automatie der überlebenden Pansenwand und die Gasgärung im Panseninhalt des Rindes*, Diss. Zürich, 1955. – [66] Schwarz, C.: *Biochem. Zeitschr.*, *156*, 130–137 (1925). – [67] Strelkow, A., G. Poljansky u. M. Issakowa-Keo: *Arch. Tierernährg. u. Tierzucht*, *9*, 679–697 (1933). – [68] Sugden, B.: *J. gen. Microbiology*, *9*, 44–53 (1953). – [69] Trier, H. J.: *Zschr. für vergl. Physiologie*, *4*, 305–330 (1926). – [70] Usuelli, F.: *La Clinica veterinaria*, *53*, 543–570, 625–645, 787–805 (1930). – [71] Van der Wath, J. G. u. S. J. Myburgh: *Onderstepoort J. of Veterinary Sc. and Animal Industry*, *17*, 61–88 (1941). – [72] Völtz, W.: zit. nach C. Schwarz, [66]. – [73] Warner, A. C. I.: *J. gen. Microbiology*, *14*, 733–748 (1956). – [74] Wasserman, R. H., C. W. Ducan, E. S. Churchill u. C. F. Huffman: *J. Dairy Sc.*, *35*, 571–580 (1952). – [75] Weineck, E.: *Arch. Protistenkde.*, *82*, 169–202 (1934). – [76] Weller, R. A. u. F. V. Gray: *J. exp. Biology*, *31*, 40–48 (1954). – [77] Wertheim, P.: *Biolog. Zbl.*, *54*, 390–402 (1934). – [78] Westphal, A.: *Zschr. Parasitenkde.*, *7*, 71–117 (1935). – [79] Willing, E.: *Arch. Tierernährg. u. Tierzucht*, *9*, 637–670 (1933). – [80] Winogradow, T., T. Winogradowa-Fedorowa u. A. Wereninow: *Zbl. Bakter., II. Abt.*, *81*, 230–244 (1930). – [81] Winogradowa-Fedorowa, T. u. M. P. Winogradoff: *Zbl. Bakter., II. Abt.*, *78*, 246–254 (1929). – [82] Zorita, E. u. M. L. Calvo de Zorita: *Zschr. Tierernährg. u. Futtermittelkde.*, *11*, 370–385 (1956).