Untersuchungen an Stämmen von afrikanischem Rückfallfieber aus Tanganyika

Autor(en): **Geigy, R. / Mooser, H. / Weyer, F.**

Objekttyp: **Article**

Zeitschrift: **Acta Tropica**

Band (Jahr): **13 (1956)**

Heft 3

PDF erstellt am: **30.04.2024**

Persistenter Link: https://doi.org/10.5169/seals-310607

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.

Ein Dienst der *ETH-Bibliothek*
ETH Zürich, Rämistrasse 101, 8092 Zürich, Schweiz, www.library.ethz.ch

http://www.e-periodica.ch

Schweizerisches Tropeninstitut Basel
Hygiene-Institut der Universität Zürich
Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg.

Untersuchungen an Stämmen von afrikanischem Rückfallfieber aus Tanganyika.*

Von R. Geigy, H. Mooser und F. Weyer.

Einleitung.

Geigy & Burgdorfer 1951 stellten an den im Jahre 1949 in verschiedenen Dörfern im Innern Tanganyikas gesammelten Zecken *(Ornithodorus moubata)* fest, daß die in denselben mikroskopisch nachgewiesenen Spirochaeten *(B. duttoni)* gegenüber der weißen Maus große Virulenzunterschiede aufwiesen. Während die Mehrzahl der positiven Zecken Spirochaeten beherbergte, die in der weißen Maus eine langdauernde Spirochaetämie auslösten, wobei diese Stämme mühelos in Mäusepassagen fortgeführt werden konnten, führten die Spirochaeten anderer Zecken zu einer nur flüchtigen Invasion des Blutes der Versuchsmäuse, und es gelang nicht, eine zweite Mäusepassage anzulegen. Zwischen diesen beiden Extremen gab es Stämme, die hinsichtlich ihrer Virulenz für die weiße Maus eine Mittelstellung einnahmen. Unterschiede der Virulenz zwischen Stämmen von *B. duttoni* hatte schon früher Heisch festgestellt.

Ein zweiter Besuch in Tanganyika im Sommer 1954 (Geigy & Mooser 1955) zeitigte ein überraschendes Ergebnis in zweifacher Hinsicht. In Ifakara, wo im Jahre 1949 aus den in Negerhütten gesammelten Zecken ohne Schwierigkeit für Mäuse virulente Stämme isoliert worden waren, enthielten 1954 nur $^1/_5$ der mikroskopisch als infiziert befundenen Zecken für Mäuse vollvirulente Spirochaeten. Die Inokulation einer der spirochaetenhaltigen Zecken in Mäuse verursachte eine nur Stunden dauernde minime Spirochaetämie. Eine Überimpfung des Blutes derselben auf frische Mäuse blieb erfolglos. Der Rest der mikroskopisch als spirochaetenhaltig befundenen Zecken enthielt für weiße Mäuse vollständig avirulente Spirochaeten. Eine analoge Beobachtung wurde an 6 Zecken aus einem Transit Centre in Kilosa gemacht; nur eine derselben war infiziert, und zwar mit für Mäuse avirulenten Spirochaeten. Noch auffallender waren die Feststellungen im Internat für Knaben der katholischen Missionsschule in Itete. Unter den Insassen dieses Internates waren früher von Zeit zu Zeit Fälle von Rückfallfieber aufgetreten (Geigy & Mooser 1955). In den Schlafstellen der Zöglinge war 1949 ein starker Befall mit *Moubata*-Zecken festgestellt worden. Aus solchen Zecken waren damals *Borrelia*-Stämme isoliert worden, die ausnahmslos für weiße Mäuse virulent waren (Geigy & Burgdorfer 1951; Mooser & Weyer 1954). Beim zweiten Besuche im Sommer 1954 wurde uns mitgeteilt, daß sich in den vergangenen 3—4 Jahren keine Fälle von Rückfallfieber unter den Zöglingen der Missionsschule in Itete ereignet hätten (Geigy & Mooser 1955). Trotzdem förderte eine gründliche Untersuchung der Schlafstellen 650 Zecken zutage. Von den 330 Zecken, die mikroskopisch untersucht wurden, erwiesen sich 71 = 21,5% als Spirochaetenträger. Die Zecken wurden einzeln seziert, und eine Aufschwemmung der Organe von positiven Zecken wurde in je zwei Mäuse inokuliert. Von den 71 Zecken lieferten nur zwei für Mäuse voll-

* *Herrn Prof. Dr. Paul Buchner zum 70. Geburtstag gewidmet.*

virulente *Borrelia*-Stämme. Eine Zecke verursachte in einer der zwei inokulierten Mäuse eine sehr flüchtige, minime Spirochaetämie. Die Passage auf frische Mäuse versagte. Die restlichen 68 Zecken beherbergten für Mäuse vollständig avirulente Spirochaeten. Das gleiche Resultat ergab die Inokulation in neugeborene Mäuse. Auch die in Negerhütten gefangenen Ratten *(Praomys jacksoni melanotus)* erwiesen sich als resistent, ob sie nun aus mit Zecken befallenen oder aus zeckenfreien Hütten stammten.

Drei Möglichkeiten waren in Betracht zu ziehen angesichts des Verschwindens der Fälle von Rückfallfieber unter den Zöglingen der Missionsschule in Itete bei gegenüber früher unverändertem Befall der Schlafstellen mit infizierten Zecken:

1. Immunität der Zöglinge durch früher durchgemachte Rückfallfieber, in der Missionsschule selbst oder anderswo vor Eintritt in das Internat.
2. Verlust der Virulenz der Spirochaeten nicht nur für kleine Nagetiere, sondern auch für den Menschen.
3. Die für Mäuse avirulenten Spirochaeten könnten zwar für den Menschen virulent und pathogen sein, werden aber von den Zecken nicht übertragen, weil sie weder mit dem Sekret der Speicheldrüsen noch dem der Coxaldrüsen ausgeschieden werden.

Die Immunität der Zöglinge gegen die in den Zecken ihrer Schlafstellen in Itete festgestellten Spirochaeten wurde nicht untersucht. Hingegen wurde in Hamburg die Empfänglichkeit von Rhesusaffen sowie eines europäischen Freiwilligen (F.W.) für die für Mäuse avirulenten *Borrelia*-Stämme geprüft. Ein weiteres Experiment entschied über die natürliche Übertragbarkeit dieser Stämme durch *O. moubata* auf einen Rhesusaffen. In früheren Mitteilungen (Geigy & Mooser 1955) wurde die Vermutung ausgesprochen, daß der zwischen 1949 und 1954 eingetretene Verlust der Virulenz der Spirochaetenstämme aus Itete für Mäuse das Resultat einer langdauernden exklusiven transovariellen Übertragung derselben von Zeckengeneration zu Zeckengeneration sein könnte. Eine Möglichkeit, dies zu prüfen, bot sich im Laboratorium. Die Filialgenerationen einiger im Jahre 1949 aus Itete mitgebrachter Zecken, die damals für Mäuse virulente Spirochaeten beherbergten, waren seither ausschließlich auf gesunden Mäusen oder Kaninchen gefüttert worden. Es waren damit mutatis mutandis die Verhältnisse gegeben, wie sie unter der Annahme, daß die Zöglinge immun gegen das Fleckfieber waren, im Internat von Itete bestanden hätten.

In einer Serie von Versuchen wurde die Empfänglichkeit von Buschzecken geprüft für einen Stamm von *B. duttoni*, der in der gleichen Gegend von einem Kranken isoliert worden war.

Weitere in vorliegender Mitteilung enthaltene Experimente befassen sich mit dem Verhalten der für Mäuse avirulenten *Borrelia*-Stämme in *Pediculus humanus*. Angesichts des fast vollständigen Verschwindens der für Mäuse virulenten Spirochaeten aus den Zecken in Itete wurde untersucht, ob möglicherweise die Anwesenheit avirulenter Spirochaeten in den Zecken die sekundäre Besiedlung derselben mit virulenten Spirochaeten verhindere. Schließlich wurde in Rhesusaffen geprüft, ob zwischen den für Mäuse avirulenten und den für Mäuse virulenten Stämmen aus Itete gekreuzte Immunität bestehe.

Die im folgenden mitgeteilten Beobachtungen sind das Resultat einer Zusammenarbeit zwischen den Instituten in Basel, Zürich und Hamburg.

Besonderen Dank schulden wir der «Fritz Hoffmann-La Roche-Stiftung zur Förderung wissenschaftlicher Arbeitsgemeinschaften in der Schweiz» für ihre großzügige finanzielle Unterstützung.

Material.

Die Bezeichnungen der Borrelien-Stämme, mit welchen die erwähnten Untersuchungen ausgeführt wurden, beziehen sich auf die in den Jahren 1949 und 1954 in Itete, Ulanga-Distrikt, Tanganyika, gesammelten Zecken *(O. moubata)* und deren Filialgenerationen, soweit sie mit Spirochaeten besiedelt waren.

Stamm Itete I v = mäusevirulenter Stamm, der im Jahre 1949 aus Zecken isoliert wurde (GEIGY & BURGDORFER 1951). Dieser Stamm wurde seither mit verschiedenen Methoden weitergeführt:

1. Durch ausschließliche Passagen in weißen Mäusen. Mit dieser Methode wurde der Stamm vom Oktober 1953 bis Mai 1955 unterhalten, als man die Passagen abbrach. Während dieser Zeit hatte sich der Stamm nicht verändert. Er verursachte in der weißen Maus eine typische Duttoni-Infektion. Die Spirochaetämie mittleren Grades hielt in abnehmender Intensität und kurzen Unterbrüchen ca. 21 Tage an.
2. Normale *Moubata*-Zecken (Nymphen) wurden auf infizierten Mäusen gefüttert und von Zeit zu Zeit mit diesen Zecken frische Mäuse infiziert, entweder durch Inokulation der Zerreibung einer Zecke oder durch Ansetzen von Zecken an weißen Mäusen. Auch bei dieser Haltung des Stammes ist keine Änderung seiner Eigenschaften aufgetreten.
3. Die Nachkommen der Zecken, welche den Stamm Itete I v beherbergten, wurden ausschließlich an gesunden Mäusen oder Kaninchen ernährt. Die in der ersten Filialgeneration enthaltenen Spirochaeten werden mit Itete I v F_1 benannt.

— *Itete I a* ist ein Stamm, der 1949 isoliert worden war (GEIGY & BURGDORFER 1951), ursprünglich für Mäuse virulent war, seither ständig transovariell in Zecken weitergeführt wurde und seine Virulenz für Mäuse eingebüßt hat.

— Mit *Itete II v* werden die zwei für Mäuse virulenten *Borrelia*-Stämme bezeichnet, welche im Jahre 1954 in Itete aus Zecken isoliert wurden. Sie rufen in weißen Mäusen eine typische Duttoni-Infektion hervor.

— Mit *Itete II a* werden die im gleichen Jahr in Zecken in Itete nachgewiesenen, für Jung- und Altmäuse vollständig avirulenten Borrelien bezeichnet. Die Zecken wurden ausschließlich auf gesunden Mäusen oder Kaninchen ernährt. Die in den Filialgenerationen nachgewiesenen Borrelien werden Itete II F_1, Itete II F_2 usw. genannt.

Im Rahmen der hier zu schildernden Versuche sind auch noch verschiedene andere *Borrelia*-Stämme aus Süd-Tanganyika verwendet worden, und zwar solche die wir aus Zecken bzw. aus rückfallfieberkranken Menschen isoliert hatten in den Lokalitäten Ifakara, Mikumi, Kiswago und Kilosa.

Die Spirochaeten der Filialgenerationen von Itete II a.

Männchen und Weibchen von Zecken, die 1954 in Itete gesammelt worden waren und deren Hämolymphe Spirochaeten aufwies, wurden in einem der 3 Laboratorien zur Nachzucht zusammengegeben. Nach der Eiablage wurden Aufschwemmungen der Organe der Weibchen in weiße Mäuse inokuliert. In keinem Falle erfolgte eine Infektion der Mäuse. Von den F_1- und F_2-Generationen wurden wieder positive Exemplare zur Zucht ausgesondert. Bis jetzt ist die dritte Filialgeneration herangewachsen. Der Prozentsatz der auf diese Weise erhaltenen spirochaetenführenden Zecken

schwankte in den Nachkommen der einzelnen Zecken zwischen 60—70%. Die Spirochaeten aller drei Filialgenerationen wurden auf ihre Virulenz für weiße Mäuse geprüft. Dazu wurden jeweils Stichproben von 6—8 Zecken zerrieben und von der Mischung 2 Mäuse intraperitoneal inokuliert. Sie erwiesen sich ohne Ausnahme als avirulent für erwachsene Mäuse und Jungmäuse sowie für weiße Ratten.

Eine ganz entsprechende Feststellung wurde im zweiten Laboratorium gemacht. Eine F_1-Zecke, die von einer Itete-II a-Zecke abstammte, wurde auf normalen Mäusen gefüttert bis zur Eiablage. Sie wurde darauf zerrieben und auf zwei Mäuse verimpft, welche spirochaetenfrei blieben. 100 männliche und weibliche F_2-Nachkommen dieser Zecke wurden zum Adultstadium aufgezogen. Bei 70 der F_2-Nachkommen wurden mikroskopisch Spirochaeten festgestellt. Mit jeder dieser Zecken wurden 2 Mäuse gespritzt. In keiner der 140 Mäuse konnten Spirochaeten nachgewiesen werden. Die vor der Verarbeitung der Zecken gelegten Eier wurden aufgegehoben, um später das Verhalten der Spirochaeten der F_3-Generation zu untersuchen.

Verlust der Virulenz gegenüber Mäusen bei einem transovariell gehaltenen Stamm von B. duttoni.

Es soll hier über die Herkunft des in der Einleitung und unter «Material» erwähnten Itete-I a-Stammes berichtet werden. Er war im Jahre 1949 aus einer der in Itete gesammelten Zecken isoliert worden. Er zeigte anfänglich einen für *B. duttoni* normalen Verlauf in weißen Mäusen. Eine Abzweigung dieses Stammes wurde in Zürich und Hamburg unter der Bezeichnung Itete I v gehalten. In Basel wurde der Originalstamm neben anderen Untersuchungen speziell zum Studium der transovariellen Übertragung von *B. duttoni* über mehrere Generationen verwendet. Alle diesbezüglichen Zecken wurden auf gesunden Mäusen ernährt. Kurz nachdem diese Versuche abgeschlossen waren (GEIGY, WAGNER, AESCHLIMANN 1954), hat ein durch bakterielle Infektion verursachtes Zeckensterben unser Material beträchtlich dezimiert. Drei Zeckenweibchen, die der dritten, mit dem Itete-I-Stamm rein transovariell infizierten Generation angehörten, konnten gerettet werden. Es wurde versucht, die in ihnen in größeren Mengen enthaltenen Spirochaeten mittels Organaufschwemmungen wieder auf die Maus zu bringen. Zwei davon sind in Basel ausgetestet worden, wobei es sich zeigte, daß die Spirochaeten für die Maus avirulent geworden waren. Die dritte Zecke wurde mit demselben Resultat in Hamburg untersucht. Sie wurde dort außerdem für einen Übertragungsversuch auf Läuse verarbeitet (Tab. 1 No. 4021).

Dieser in Laboratoriumszuchten festgestellte Sachverhalt ergibt somit, daß ein ursprünglich virulenter Stamm von *B. duttoni* aus Itete seine Virulenz gegenüber Mäusen verloren hatte, nachdem er während drei Generationen, d. h. während annähernd 2 Jahren ausschließlich in Zecken gehalten worden war.

Das Verhalten von Itete I v nach langer Verweildauer in O. moubata.

Eine Serie von Versuchen wurde mit Zecken ausgeführt, welche am 20. Oktober 1953 im 2. Nymphenstadium durch Füttern auf Mäusen infiziert worden waren. Dies geschah in der Absicht, eine Reserve infizierter Zecken zur Verfügung zu haben, um damit nach Belieben Mäuse für den bakteriologischen Kurs infizieren zu können. Zweimal im Jahr, d. h. im Sommer- und Wintersemester, wurden einige Mäuse mit einer Zerreibung einer Zecke inokuliert. Die letzte der im Oktober 1953 infizierten Zecken wurde im Januar 1956 geprüft. Der Stamm hatte sich gegenüber früher nicht geändert. Er verursachte eine mittelschwere Spirochaetämie bei allen damit inokulierten Mäusen. Analog verliefen die Infektionen der Mäuse, welche mit spirochaetenhaltigen Zecken der Filialgeneration 1 inokuliert wurden. Diese Zecken wurden erst im Adultstadium geprüft, und zwar zum erstenmal im Oktober 1955. Die letzte Prüfung der F_1-Generation geschah im Juli 1956.

Das Verhalten von Itete II a und I a in Pediculus.

1. Versuche mit Itete II a und I a.

In früheren Versuchen mit Spirochaeten aus Itete (MOOSER & WEYER 1951) wurde deren üppige Vermehrung in *Pediculus* festgestellt. Es handelte sich z. T. um den gleichen Stamm von *B. duttoni,* der in dieser Mitteilung Itete I v genannt wird. I a ist im Laboratorium aus Itete I v entstanden. Es interessierte deswegen, zu untersuchen, wie sich dieser Stamm nach dem Verlust der Virulenz für Mäuse in *Pediculus* verhalte, und ob er sich eventuell gleich verhalte wie die für Mäuse avirulenten Spirochaeten Itete II a.

Näher untersucht wurden 9 Zecken von Itete II a. Die Zecken wurden in Bouillon zerrieben, um mit Teilen der spirochaetenhaltigen Suspensionen Läuse intracoelomal, in einigen Fällen rectal zu inokulieren. Die Suspensionen wurden gleichzeitig zur coxalen Inokulation von gesunden Zecken und zur subkutanen Inokulation von Mäusen (Jung- und Altmäuse) benutzt. Die vom 2. bis zum 10. oder 12. Tag nach der Inokulation durchgeführten Blutkontrollen verliefen bei allen Mäusen negativ.

Die Versuche mit Kleiderläusen sind in Tab. 1 zusammengestellt, die nähere Einzelheiten über Inokulationsmaterial und -modus,

TABELLE 1.

Inokulation von Kleiderläusen mit für Mäuse avirulenten Stämmen von B. duttoni (Versuchsno. 4021 mit Itete I a, alle übrigen mit Itete II a).

Vers. No.	Inokulationsmaterial u. -modus (r. = rectal, ic. = intracoelomal)	Zahl der untersuchten Läuse	Davon positiv (%)	Übertragung auf
3834	Zecke 1, r.	28		
3835	Zecke 1, ic.	30	21 (70,0)	Jungmäuse (—), Altmäuse (—), Zecken (3849 u. 3855) und Läuse (3848 u. 3854)
3848	Hämolymphe von 5 Läusen aus 3835, ic.	26	9 (34,6)	Jungmäuse (—) u. zusammen mit 3854 auf Läuse (3872)
3854	Hämolymphe von 8 Läusen aus 3835, ic.	32	20 (62,5)	Jungmäuse (—) u. zusammen mit 3848 auf Läuse (3872)
3872	Hämolymphe von 9 Läusen aus 3848 und 9 Läusen aus 3854, ic.	40	12 (30,0)	Läuse (3888)
3888	Hämolymphe von 10 Läusen aus 3872, ic.	58	2 (3,4)	
3863	Zecke 2, ic.	33	19 (57,9)	Jungmäuse (—) u. Läuse (3884)
3884	Hämolymphe von 9 Läusen aus 3863, ic.	22	7 (61,8)	Rhesusaffen «Pamina» und Läuse (3895)
3895	Hämolymphe von 9 Läusen aus 3884, ic.	27	3 (11,1)	
4132	1 Zecke aus 3864, via Coxa inokuliert mit Zerreibung v. Zecke 2, ic.	26	20 (76,9)	
4147	1 Zecke aus 3864, via Coxa inokuliert mit Zerreibung v. Zecke 2, ic.	23	10 (43,5)	
3993	Zecke 3, ic.	36	10 (27,8)	Läuse (3902 und 3906)
3902	Hämolymphe von 10 Läusen aus 3993, ic.	20	4 (20,0)	Läuse (3924)
3906	Hämolymphe von 6 Läusen aus 3993, ic.	9	4 (44,4)	Mäuse (—)

TABELLE 1 (Fortsetzung).

Vers. No.	Inokulationsmaterial u. -modus (r. = rectal, ic. = intracoelomal)	Zahl der untersuchten Läuse	Davon positiv (%)	Übertragung auf
3924	Hämolymphe von 3 Läusen aus 3902, ic.	22	12 (54,5)	Läuse (3938)
3938	Hämolymphe von 4 Läusen aus 3924, ic.	22	5 (22,7)	Läuse (3943)
3943	Hämolymphe von 7 Läusen aus 3938, ic.	25	11 (44,0)	Mäuse (—)
3915	Zecke 4, ic.	11	2 (18,2)	
3931	Zecke 5, ic.	25	11 (44,0)	Läuse (3940 und 3941)
3940	Hämolymphe von 7 Läusen aus 3931, ic.	16	4 (25,0)	Läuse (3944)
3941	Hämolymphe von 7 Läusen aus 3931, r.	9		Mäuse (—)
3944	Hämolymphe von 4 Läusen aus 3940, ic.	21	5 (23,8)	
3950	Zecke 6, ic.	22	2 (9,1)	Läuse (3964)
3952	Zecke 6, r.	23		
3964	Hämolymphe von 5 Läusen aus 3950, r.	21		
3960	Zecke 7, ic.	21	4 (19,0)	Läuse (3973)
3962	Zecke 7, r.	24		
3973	Hämolymphe von 3 Läusen aus 3960, ic.	11		
3	Zecke 8, ic.	31	5 (16,1)	
3984	Zecke 9, ic.	27	8 (29,6)	Zecken (4000)
4021	1 Zecke, infiziert mit Stamm Itete I a, ic.	24	9 (37,5)	

die Zahl der untersuchten und positiven Läuse sowie die Prüfung und weitere Verarbeitung der aus den Läusen gewonnenen Spirochaeten enthält. In 3 Versuchen (Zecke 1, 6 und 7) wurden die Läuse rectal, in 9 Versuchen (Zecke 1—9) intracoelomal inokuliert. Anschließend wurden die Läuse am Menschen gefüttert. Die einzelnen Versuchsserien umfaßten 25—40 Läuse. Die Läuse wurden bei einer Temperatur von 32° C gehalten. Die Erfolgskontrolle erfolgte durch Untersuchung der nach Giemsa gefärbten Hämolymphe. Zu den erwähnten Übertragungsversuchen mit den Originalzecken aus Itete kommen noch 2 Versuche mit Zecken, die via coxa mit einer Suspension aus Zecke 2 inokuliert und erst später verarbeitet wurden (No. 4132 und 4147), und ein Versuch mit einer Zecke, die mit einem 1949 in Itete isolierten, später für Mäuse avirulent gewordenen Stamm (Itete I a) infiziert war (No. 4021).

Die 3 Versuche mit rectaler Inokulation verliefen negativ, d. h. in der Hämolymphe der Laus traten keine Spirochaeten auf. Da die verwendeten Suspensionen, wie die vorherige Untersuchung der Zeckenhämolymphe und die intracoelomale Inokulation der Läuse gezeigt hatte, spirochaetenhaltig waren, ist aus dem Ergebnis zu schließen, daß es den bei der Inokulation in den Magen verbrachten Spirochaeten nicht gelang, durch die Magenwand die Hämolymphe zu erreichen.

Hingegen konnten nach intracoelomaler Inokulation in allen Fällen Spirochaeten in der Hämolymphe der Laus nachgewiesen werden. Die Zahl der positiven Läuse schwankte in den einzelnen Versuchen zwischen 9,1 und 76,9%. Der Mittelwert lag bei 36,9%. Die relativ hohe Zahl der positiven Läuse ist geeignet, ein falsches Bild von der Empfänglichkeit der Kleiderlaus für die Spirochaeten Itete II a zu geben. Es muß deshalb erwähnt werden, daß die Spirochaeten in den meisten Fällen nur nach sorgfältiger Durchmusterung des nach Giemsa gefärbten, eingetrockneten Tröpfchens der Hämolymphe zu finden waren. Ihre Zahl schwankte zwischen 1 und etwa 10 pro Tröpfchen und nahm vor allem auch bei längerem Verweilen in der Laus nicht merklich zu. Die Verweildauer der Spirochaeten in der Haemolymphe betrug in diesen Versuchen im Minimum 9, im Maximum 24, im Durchschnitt 16,1 Tage. Die einzelnen Spirochaeten waren, ähnlich wie in den Zecken, meist schlank und kurz, hatten nur wenige unregelmäßige Windungen und erschienen z. T. wie brüchig oder aus einzelnen Stücken zusammengesetzt (vgl. Abb. 1—4). Teilungsformen gehörten zu den Seltenheiten, waren aber nachweisbar. Gelegentlich hatte man allerdings den Eindruck, daß es sich bei den Spirochaeten lediglich um die aus der Zecke überimpften Stadien handelte, die sich nicht weiterentwickelten, sondern einige Zeit in der Laus überlebten. Im Ver-

gleich zu dem Verhalten des mäusevirulenten Stammes aus Itete war die mangelnde Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Spirochaeten in der Hämolymphe sehr auffällig. Unter diesen Umständen ist auch das negative Ergebnis der rectalen Inokulation nicht verwunderlich.

Es wurde nun versucht, die Spirochaeten Itete II a möglichst lange in der Läusehämolymphe zu halten, in der Absicht, sie besser an die Laus zu adaptieren. Zu diesem Zweck wurde spirochaetenhaltige Hämolymphe von Läusen auf frische Läuse intracoelomal übertragen. Insgesamt wurden 16 derartige Versuche durchgeführt (Tab. 1). Bei 14 dieser Versuche konnten in den Passageläusen Spirochaeten gefunden werden. Maximal wurde ein Stamm in 6 fortlaufenden Passagen 69 Tage ununterbrochen in Läusen gehalten (Zecke 3).

Die Zahl der positiven Läuse schwankte in diesen Passagen zwischen 20,0 und 54,5%; es kam jedoch nicht zu einer eindeutigen Zunahme der Spirochaeten im Laufe der Passagen, vor allem auch nicht zu einer Änderung ihres morphologischen Bildes oder einer verstärkten Teilungstendenz. In 2 Versuchen (No. 3964 und 3973) waren die Spirochaeten bereits in der 2. Passage nicht mehr nachweisbar.

Da sich die Spirochaeten in der Laus über eine längere Zeit hinweg und auch in einer größeren Zahl von Passagen hielten, so kann dies nur mit einer tatsächlich stattgehabten Vermehrung erklärt werden. Andernfalls hätte die durch die Passagen gegebene Verdünnung zu einem früheren Verschwinden der Spirochaeten in allen Versuchen führen müssen. Die Lebensfähigkeit der Spirochaeten aus den Läusen ergab sich außerdem durch ihre Übertragbarkeit auf Zecken und Rhesusaffen (vgl. S. 204). Die Spirochaeten behielten somit in allen Versuchen ihre mangelnde Vermehrungsfähigkeit in der Laus, und eine bessere Anpassung an diesen Wirt durch Laus-Laus-Passagen wurde nicht erreicht.

In 7 Versuchen wurden Spirochaeten, die aus 4 verschiedenen Zecken stammten, nach kürzerer oder längerer Verweildauer in Läusen mit deren Hämolymphe auf Jung- und Altmäuse übertragen. Alle 7 Versuche verliefen negativ, d. h. das Blut der Mäuse blieb frei von Spirochaeten. Die Spirochaeten hatten somit ihre ursprünglichen Eigenschaften behalten, und die Läusepassage hatte auch in dieser Beziehung keine Änderung bewirkt.

Diese ganz einheitlichen Ergebnisse wurden ergänzt durch Versuche mit dem Stamm Itete I a. Eine Zecke, die größere Mengen Spirochaeten dieses Stammes enthielt, wurde für einen Übertragungsversuch auf Läuse verarbeitet (Tab. 1 No. 4021). Die Läuse wurden intracoelomal inokuliert. Die Spirochaeten waren durch

das gleiche Verhalten und das gleiche Aussehen wie die für Mäuse avirulenten Spirochaeten Itete II a gekennzeichnet. 9 von 24 untersuchten Läusen enthielten Spirochaeten, jedoch handelte es sich wiederum nur um vereinzelte Exemplare, die keine Vermehrungstendenz zeigten.

2. Versuche mit Itete I v und II v.

Das eigentümliche Verhalten der für Mäuse avirulenten Stämme in der Laus wird erst voll beleuchtet durch einen Vergleich mit für Mäuse virulenten Stämmen (Tab. 2). Es handelte sich dabei einmal um einen der 1949 in Itete isolierten Stämme Itete I v. Dieser Stamm wurde in Hamburg seit Herbst 1953 durch subkutane Blutinokulation kontinuierlich und ausschließlich auf Mäusen gehalten. Am 21. 5. 55 wurde auf einer blut-positiven Maus eine Zecke gefüttert. Die Zecke wurde am 30. 6. 55 verarbeitet und enthielt sowohl in der Hämolymphe wie im Ovar reichlich Spirochaeten. Mit einer Suspension dieser Zecke wurden Mäuse subkutan und Läuse intracoelomal inokuliert (Tab. 2 No. 4022). Die Mäuse reagierten in der

TABELLE 2.

Intracoelomale Inokulation von Kleiderläusen mit für Mäuse virulenten Stämmen von B. duttoni (Itete I v und Itete II v).

Vers. No.	Stamm und Material	Zahl der untersuchten Läuse	Davon positiv (%)	Übertragung auf
4022	1 Zecke, infiziert mit Stamm Itete I v, kontinuierlich auf Mäusen gehalten	6	5 (83,3)	Mäuse (+)
4012	Blut von Maus, infiziert mit Stamm Itete II v	14	14 (100)	Mäuse (+) und Läuse (4017)
4017	Hämolymphe von 3 Läusen aus 4012	14	10 (71,4)	Mäuse (+) und Zecken (4023)
4125	2 Zecken aus 4023, via Coxa inokuliert mit Hämolymphe von 2 Läusen aus 4017	21	6 (28,6)	Mäuse (—) und Läuse (4137)
4137	Hämolymphe von 5 Läusen aus 4125	19	14 (73,2)	Mäuse (+)
4127	Blut von Maus, infiziert mit Zerreibung von 2 Zecken aus 4023 (siehe No. 4125)	27	21 (77,8)	
4116	2 Zecken aus 4025, infiziert durch Saugen an Maus mit Stamm Itete II v	14	3 (21,4)	
4128	1 Zecke aus 4025 (siehe No. 4116)	11	8 (72,7)	

üblichen Weise mit einer Spirochaetämie. In der Hämolymphe der Läuse kam es zu einer reichlichen Vermehrung der Spirochaeten, mit denen sich wieder Mäuse infizieren ließen. Der Stamm hatte also bei langer ausschließlicher Haltung in der Maus seine Entwicklungsfähigkeit in der Laus und seine Virulenz für die Maus beibehalten. Das Verhalten in Mäusen und Läusen entsprach früheren Beobachtungen (MOOSER & WEYER) an mehreren für Mäuse virulenten Stämmen aus Itete und andern Orten Tanganyikas.

Noch eindrucksvoller sind die Resultate der Versuche mit dem Stamm Itete II v, der zu gleicher Zeit und unter den gleichen Bedingungen wie die für Mäuse avirulenten Stämme Itete II a gewonnen worden war. Dieser Stamm hatte sich bei der Übertragung von der Zecke auf die Maus als virulent erwiesen. Mit dem Blut einer spirochaetenhaltigen Maus wurde eine Serie von Läusen intracoelomal inokuliert (Tab. 2 No. 4012). In diesem Fall setzte sogleich eine lebhafte Vermehrung der Spirochaeten in der Hämolymphe ein; alle geprüften Läuse waren positiv. Mit der spirochaetenhaltigen Hämolymphe ließen sich wieder Mäuse infizieren, und der Stamm konnte auch durch intracoelomale Passage auf frische Läuse übertragen und von hier wieder auf Mäuse und via coxa auf Zecken gebracht werden (Tab. 2 No. 4017).

Es darf nicht unterlassen werden, hier darauf hinzuweisen, daß offenbar auch virulente Stämme in ihrer Eigenschaft nicht immer streng fixiert sind. So zeigte dieser Stamm im weiteren Verlauf der Untersuchung eine gewisse Labilität und die Tendenz zu einer schwächeren Vermehrung in der Laus und in der Maus. Am 5. 7. 55 wurden 3 Zecken (Tab. 2 No. 4025) an einer spirochaetenhaltigen Maus durch Saugakt inokuliert und am 1. und 15. 11. 55 verarbeitet. Alle 3 Zecken enthielten Spirochaeten. Nach intracoelomaler Übertragung auf Läuse (Tab. 2 No. 4116 und 4128) vermehrten sich die Spirochaeten nur schwach in der Hämolymphe. Im ersten Versuch enthielten 3 von 14 untersuchten Läusen wenige Spirochaeten, und die Spirochaeten zeigten zum Teil die gleichen dünnen und kurzen Formen wie die avirulenten Stämme. Im zweiten Versuch waren 8 von 11 Läusen positiv. Die Zahl der Spirochaeten nahm gegen Ende des Versuches zu. Die gleichzeitig mit den Zekkenzerreibungen inokulierten Mäuse entwickelten eine nur schwache und flüchtige Spirochaetämie.

Am 30. 6. 55 wurden 2 weitere spirochaetenfreie Zecken coxal mit Hämolymphe von 2 positiven Läusen des Versuchs No. 4017 inokuliert und am 10. 11. 55 seziert. Die Hämolymphe beider Zecken enthielt Spirochaeten. Auch diese Spirochaeten waren durch eine schwache Vermehrungstendenz in der Hämolymphe der Laus (No. 4125) gekennzeichnet. 6 von 21 Läusen enthielten Spirochae-

ten in geringer Zahl. Die mit der Hämolymphe von 5 positiven Läusen inokulierten Mäuse blieben negativ. In der angeschlossenen Läusepassage (No. 4137) kam es dann aber zu einer normalen Vermehrung der Spirochaeten. Die mit der Hämolymphe von 5 Läusen inokulierten Mäuse reagierten mit einer schwachen Spirochaetämie von 2tägiger Dauer. Die Läusepassage schien in diesem Fall die Entwicklungsfähigkeit der Spirochaeten in der Maus begünstigt zu haben.

Für die untersuchten Spirochaetenstämme, die alle durch eine gute Vermehrung und durch normales Verhalten in der Zecke gekennzeichnet waren, wurde somit ermittelt, daß ihre Entwicklungsfähigkeit in der Laus im Gegensatz zur Zecke mit der Virulenz für die Maus parallel ging. Spirochaeten, mit denen sich Mäuse infizieren ließen, fanden auch in der Hämolymphe der Laus geeignete Lebens- und Vermehrungsbedingungen und konnten von hier aus ohne weiteres auf Mäuse zurückübertragen werden. Alle 10 näher geprüften, für die Maus avirulenten Stämme verhielten sich in der Laus einheitlich. Zwar blieb ihre Lebensfähigkeit in der Hämolymphe längere Zeit (bei passageweiser Haltung in Läusen bis über 2 Monate) und ebenso ihre Übertragbarkeit auf Zecken erhalten, es kam jedoch in der Laus stets zu einer nur vorübergehenden oder unzureichenden Vermehrung. Die Hämolymphe der Laus erwies sich als ein nicht geeigneter Nährboden für diese Stämme. Es gelang auch nicht, die Spirochaeten durch längere Haltung in der Hämolymphe stärker an die Laus zu adaptieren. Ebensowenig gewannen die Spirochaeten auf diesem Wege ihre Virulenz für Mäuse zurück.

Die Infektion von Macacus rhesus.

1. Versuche mit Itete II a und Itete I a.

Bei diesen Versuchen interessierte zunächst, ob die für Mäuse avirulenten Stämme für den Affen virulent sind, und ferner, ob die Affenpassage die Eigenschaften der Stämme in irgendeiner Form beeinflußt. 4 Rhesusaffen wurden mit für Mäuse avirulenten Spirochaeten inokuliert, 1 Affe zum Vergleich mit einem virulenten Stamm. Die Virulenz für Mäuse wurde in jedem Affenversuch geprüft. Eine Übersicht über die Affenversuche gibt Tabelle 3.

Der Affe No. 1 («Pamina») wurde mit Spirochaeten Itete II a aus der Zecke No. 2 (vgl. Tab. 1 No. 3863) subkutan inokuliert, und zwar am 4. 1. 55 mit der Hämolymphe von 10 Läusen, die ihrerseits mit einer Spirochaetensuspension aus der Zecke 2 intracoelomal gespritzt worden waren. Die Infektion des Affen gelang, und es kam zu einer eindeutigen Spirochaetämie. Sie begann am

11. Tage (15. 1. 55) nach der Inokulation und dauerte 3 Tage. Am 3. Tag war ihr Höhepunkt erreicht, doch war sie relativ schwach: Im dicken Tropfen fand man pro Gesichtsfeld höchstens eine Spirochaete. Es bestand eine geringfügige Temperaturerhöhung während drei Tagen mit Maximum von 40,1° C rectal gemessen. Am 14. Tag (28. 1. 55) nach Beginn des ersten Anfalls bekam der Affe einen Rückfall mit einer etwas schwächeren Spirochaetämie, die 2 Tage anhielt. Die Körpertemperatur betrug an beiden Tagen 38,6° C, war also nicht erhöht.

Um sicher zu gehen, daß die Virulenz der Spirochaeten für den Affen nicht durch die Läusepassage ausgelöst war, wurde der 2. Versuchsaffe «Turido» unmittelbar mit den Spirochaeten aus der Zecke No. 9 inokuliert (Tab. 1 No. 3984). Der Affe erkrankte am 12. 5. 55. Es handelte sich um einen sehr kräftigen, in gutem Allgemeinzustand befindlichen Affen, der am 4. Tag nach Auftreten der ersten Spirochaeten auf der Höhe der Spirochaetämie (1—3 Spirochaeten pro Gesichtsfeld des dicken Tropfens) einen schwerkranken Eindruck machte. Das Tier konnte zum erstenmal ohne ernstlichen Widerstand zur Blutentnahme aus dem Käfig herausgefangen werden. Die Temperatur, die nur an diesem Tage gemessen wurde, betrug 41,4° C. Zwölf Tage nach Beginn des ersten Anfalls (24. 5. 55) kam es zu einem Rückfall von 3tägiger Dauer, der leichter verlief als der erste Anfall. Die Spirochaetämie war etwas schwächer, die Temperatur wurde nicht kontrolliert.

Ein ähnliches Bild bot der 3. Versuch mit dem Affen «Pirat». Dieser Affe wurde am 29. 6. 55 mit der Zerreibung einer Zecke inokuliert, die ihrerseits mit dem Stamm Itete I a infiziert war (vgl. S. 201 und Tab. 1 Nr. 4021). Die Spirochaeten erschienen nach 9 Tagen (8. 7. 55) im Blut, die Spirochaetämie (1 Spirochaete auf mehrere Gesichtsfelder des dicken Tropfens) hielt sich 3 Tage. Die Körpertemperatur war nur geringfügig erhöht (40,0° C bei einer Durchschnittstemperatur von 39,5° C). Der Affe nahm in diesen Tagen keine Nahrung auf und machte einen ausgesprochen apathischen Eindruck. Nach 13 Tagen (21. 7. 55) kam es zu einem kleinen Rückfall von 2tägiger Dauer, bei dem die Temperatur auf 39,9° C anstieg.

Um festzustellen, ob die für Mäuse avirulenten Spirochaeten auch auf natürlichem Wege durch Zeckenstich vermittels Speichel oder Coxalflüssigkeit übertragen werden können, wurden am 4. Versuchsaffen «Olga» an zwei aufeinanderfolgenden Tagen (am 16. und 17. 12. 55) Zecken zum Saugen angesetzt. Es handelte sich um Zecken der F_1-Generation, die mit Itete II a infiziert waren. Insgesamt sogen 24 Zecken, von denen 3, wie durch nachträgliche Sektion festgestellt wurde, Spirochaeten enthielten. Gleichzeitig wurde

TABELLE 3.

Inokulation von Rhesusaffen mit verschiedenen Stämmen von B. duttoni (Itete).

No.	Name	Stamm	Datum und Inokulationsmaterial	Ergebnis	Übertragung auf
1	«Pamina»	Itete II a aus Zecke 2	4. 1. 55 Hämolymphe von 2 Läusen aus 3384 (s. Tab. 1) sc.	1. Anfall nach 11 Tagen, Spirochaetämie 3 Tage, 2. Anfall 14 Tage später, Spirochaetämie 2 Tage	Läuse (3903, 3905), Mäuse (—) u. Zecken (3904) beim 1. Anfall, Läuse (3922), Mäuse (—) und Zecken (3923) beim 2. Anfall
2	«Turido»	Itete II a aus Zecke 9	26. 4. 55 Zecke z. Saugen angesetzt 6. 5. 55 Zerreibung der Zecke sc.	1. Anfall 16 Tage nach d. Saugen, 6 Tage nach subkutaner Inokulation, Spirochaetämie 4 Tage, 2. Anfall 12 Tage später, Spirochaetämie 3 Tage	Läuse (3994), Mäuse (—) und Zecken (3995) beim 1. Anfall, Läuse (4002, 4003), Mäuse (—) u. Zecken (4004) beim 2. Anfall
3	«Pirat»	Itete I a	29. 6. 55 Zerreibung einer Zecke sc.	1. Anfall nach 9 Tagen, Spirochaetämie 3 Tage, 2. Anfall 13 Tage später, Spirochaetämie 2 Tage	Zecken (4027) beim 1. Anfall, Läuse (4034), Mäuse (—) und Zecken (4035) beim 2. Anfall
4	«Olga»	Itete II a	16. und 17. 12. 55 Zecken der F_1-Generation zum Saugen angesetzt	1. Anfall spätestens nach 10 Tagen, Spirochaetämie mindestens 1 Tag, 2. Anfall 10 Tage später, Spirochaetämie 2 Tage	
5	«Udo»	Itete II v	1. 11. 55 Zerreibung von 2 Zecken aus 4025 sc.	1. Anfall nach 6 Tagen, Spirochaetämie 4 Tage, 2. Anfall 11 Tage später, Spirochaetämie 4 Tage, 3. Anfall 13 Tage später, Spirochaetämie 3 Tage	Läuse (4124) und Mäuse (+) beim 1. Anfall, Mäuse (+) beim 3. Anfall

die Avirulenz derselben für Mäuse festgestellt. Da wir mit einer längeren Inkubationszeit rechneten, erfolgte die erste Blutuntersuchung erst nach 10 Tagen (27. 12. 55). Der Affe hatte an diesem Tage 40,2° C Körpertemperatur. Im dicken Tropfen fanden sich spärlich Spirochaeten, und zwar Kurzformen, ähnlich wie bei den Affen No. 1—3 (vgl. Abb. 5 und 6). Die Körpertemperatur war am folgenden Tage normal, die Spirochaeten waren verschwunden. Auf Grund der Beobachtungen bei den übrigen Affen möchten wir annehmen, daß der Anfall bei dem Affen No. 4 bereits vor der ersten Blutuntersuchung begonnen hatte und dieselbe erst am 2. oder 3. Tag der Spirochaetämie stattfand. Somit betrug die Inkubationszeit höchstens 10 Tage. 10 Tage später (6. 1. 56) setzte ein Rückfall mit einer 2tägigen schwachen Spirochaetämie ein. Die Körpertemperatur betrug während des 2. Anfalls 38,4° C, war also nicht erhöht.

Das Verhalten der 4 Stämme (3 Stämme Itete II a, 1 Stamm Itete I a) im Rhesusaffen zeigte weitgehende Übereinstimmung. Alle Stämme waren für den Affen virulent. Die Übertragung gelang sowohl durch subkutane Inokulation von Läuse- und Zeckenzerreibungen als auch auf natürlichem Wege durch Zeckenstich. Die Inkubationszeit betrug, soweit sie eindeutig festgestellt werden konnte, 9—11 Tage, die Spirochaetämie beim 1. Anfall 3—4 Tage. Die Tiere hatten auf der Höhe der Spirochaetämie, die relativ schwach war, nicht nur Fieber, sondern machten auch einen ausgesprochen kranken Eindruck. Der 2. Anfall, der nach 12—14 Tagen einsetzte, war leichter und kürzer (2—3 Tage), die Temperatur war ebenfalls erhöht. Ein 3. Anfall wurde nicht mehr beobachtet, jedoch wurde die Temperaturkontrolle und Blutuntersuchung nach Beendigung des 2. Anfalls nicht mehr systematisch durchgeführt, sondern nur in einigen Stichproben, die negativ ausfielen. Es kann daher nicht mit völliger Sicherheit gesagt werden, daß ein weiterer Anfall ausblieb. Die Spirochaeten traten im Affenblut in den gleichen Kurzformen auf wie in der Zecke und in der Laus.

Daß sich die für Mäuse avirulenten Spirochaetenstämme, die in Läusen nicht zur Entwicklung zu bringen waren, im Affen vermehren und für ihn virulent und pathogen sein würden, war ein nicht a priori erwartetes Ergebnis. Es bestand daher durchaus die Möglichkeit, daß sich die Stämme durch die Übertragung auf den Affen und die Affenpassage in irgendeiner Form geändert hatten. Daher wurden die Spirochaeten aus dem Blut des Affen weiter untersucht. Wie die letzte Spalte in Tab. 3 zeigt, wurden die Spirochaeten mit Affenblut teils beim 1., teils beim 2. Anfall auf Läuse, Zecken und Mäuse übertragen. Alle inokulierten Mäuse (6 Versuche) blieben negativ. Die Stämme hatten also durch die Affenpassage ihre

TABELLE 4.

Direkte und indirekte Übertragung von Spirochaeten aus Rhesusaffen auf Läuse.

Vers. No.	Inokulationsmaterial und -modus	Zahl der untersuchten Läuse	Davon positiv (%)	Übertragung auf
1. Versuchsaffe «Pamina» (Itete II a)				
3903	Blut, ic.	10	5 (50)	Läuse (3913) zusammen mit 3905
3905	Blut, ic.	43	23 (53,5)	Läuse (3913) zusammen mit 3903
3913	Hämolymphe von 6 Läusen aus 3903 und 6 Läusen aus 3905, ic.	22	3 (13,6)	
3922	Blutsaugen	14		
4097	2 Zecken aus 3904, ic.	28	13 (46,4)	
4097a	1 Zecke aus 3904, ic.	27		
4036	3 Zecken aus 3923, ic.	23	19 (82,6)	
2. Versuchsaffe «Turido» (Itete II a)				
3994	Blut, ic.	30		
4002	Blut, ic.	28		
4003	Blutsaugen	37		
4120	4 Zecken aus 3995, ic.	19		
4138	4 Zecken aus 4004, ic.	19	19	
3. Versuchsaffe «Pirat» (Itete I a)				
4034	Blut, ic.	27		
4099	2 Zecken aus 4027, ic.	22	17 (77,3)	
4126	2 Zecken aus 4027, ic.	26		
4139	3 Zecken aus 4035, ic.	24	3 (12,5)	
5. Versuchsaffe «Udo» (Itete II v)				
4124	Blut, ic.	21	20 (95,2)	Mäuse (—) und Läuse (4125)
4135	Hämolymphe von 4 Läusen aus 4124, ic.	20	19 (95,0)	Mäuse (+)

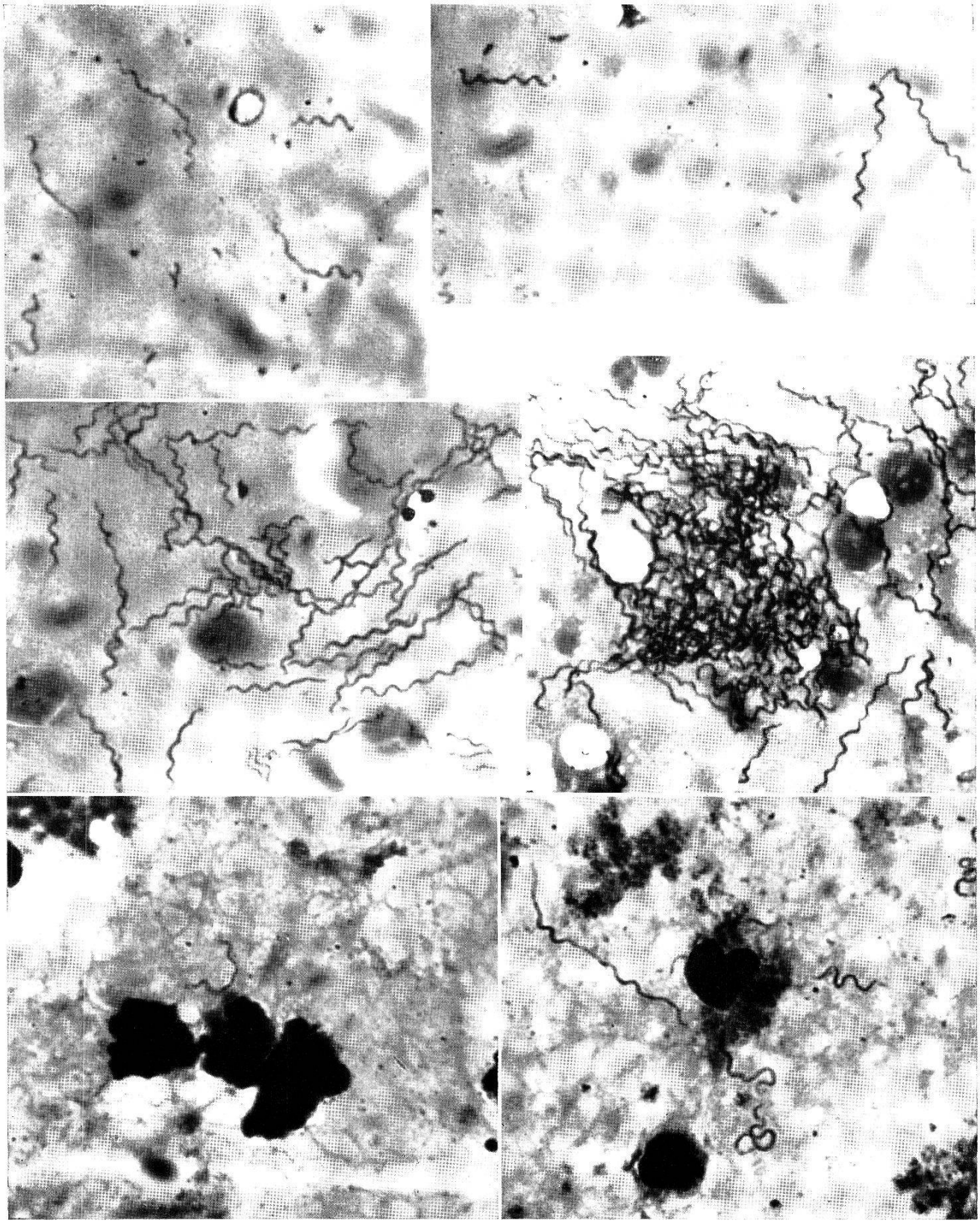

Abb. 1 & 2. Spirochaeten des Stammes Itete II a (Versuchsno. 4132, Tab. 1) aus der Hämolymphe der Laus am 12. Tag nach der Inokulation. In Abb. 2 Teilungsform. Färbung nach Giemsa; Vergrößerung 1200×.

Abb. 3 & 4. Spirochaeten des Stammes Itete II v (Versuchsno. 4124, Tab. 4) aus der Hämolymphe der Laus am 13. Tag nach der Inokulation. In Abb. 4 Spirochaetenknäuel.

Abb. 5. Spirochaeten des Stammes Itete II a im dicken Tropfen des Versuchsaffen 2 («Turido») am 4. Tag des ersten Anfalls.

Abb. 6. Spirochaeten des Stammes Itete II v im dicken Tropfen des Versuchsaffen 4 («Udo») am 3. Tag des ersten Rückfalls.

Virulenz für Mäuse nicht wieder erlangt. Tabelle 4 bringt eine Zusammenstellung aller Versuche zur Übertragung von Spirochaeten, die den Affen passiert hatten, auf Läuse. Es handelt sich um 16 Einzelversuche. Die Spirochaeten wurden entweder direkt mit Affenblut intracoelomal bzw. durch Fütterung von Läusen an Affen oder indirekt nach Zwischenschaltung einer Zeckenpassage auf Läuse übertragen. Die betreffenden Zecken hatten während der Spirochaetämie am Affen gesogen (vgl. Tab. 3). Durch Fütterung der Läuse am Affen (Tab. 4 No. 3922 und 4003) kam es zu keiner Infektion von Läusen. Auch in der Hämolymphe derjenigen Läuse, die mit Blut von «Turido» und «Pirat» intracoelomal inokuliert wurden, waren keine Spirochaeten zu finden. Dagegen wurde etwa die Hälfte der mit dem Blut von «Pamina» intracoelomal inokulierten Läuse positiv. Die Spirochaeten zeigten jedoch dasselbe Aussehen und die gleiche mangelnde Vermehrungstendenz wie die Spirochaeten aus Zecken oder Läusen vor der Affenpassage. Auch der Versuch, die Spirochaeten durch eine weitere Läusepassage besser an die Laus anzupassen (Tab. 4 No. 3913), schlug fehl. Der Prozentsatz der spirochaetenhaltigen Läuse ging dabei von 53,5 auf 13,6 zurück.

In den Zecken hingegen, die an den Affen während des 1. oder 2. Anfalls gesogen hatten, kam es zu einer lebhaften Vermehrung der Spirochaeten. Von den Zecken wurden die Spirochaeten auf Läuse überimpft. Es wurden 6 derartige Übertragungsversuche mit insgesamt 21 Zecken vorgenommen. 15 Zecken wurden vor der Verarbeitung auf ihren Spirochaetengehalt geprüft; bei 8 Zecken waren Spirochaeten in wechselnder Zahl in der Hämolymphe nachweisbar. Die Überimpfung dieser Spirochaeten auf Mäuse (in 8 verschiedenen Versuchen) brachte wiederum nur negative Ergebnisse. Auf Läuse ließen sich die Spirochaeten zwar durch intracoelomale Inokulation in 5 von 8 Versuchen übertragen, aber zu einer normalen Vermehrung der Spirochaeten oder einer Änderung ihrer Eigenschaften kam es auch in diesem Fall nicht, obwohl bis zu 100% der untersuchten Läuse Spirochaeten enthielten (Tab. 4 No. 4138). Wiederum handelte es sich nur um wenige, vorwiegend schlanke und kurze Spirochaeten. Der unterschiedliche Spirochaetengehalt der Zecken, die unter den gleichen Bedingungen am Affen gesogen hatten, drückte sich auch in der wechselnden Zahl positiver Läuse aus. In 3 Versuchen konnten in den Läusen keine Spirochaeten gefunden werden.

Diese Versuche bestätigen, daß die Affenpassage ohne erkennbaren Einfluß auf die Grundeigenschaften der Stämme blieb. Die Spirochaeten behielten wohl ihre Vermehrungsfähigkeit in Zecken, waren aber in Mäusen überhaupt nicht und in Läusen wieder nur

beschränkte Zeit lebensfähig. Auch wenn die aus dem Affen stammenden Spirochaeten vor der Übertragung auf Läuse längere Zeit (4—9 Monate) in Zecken gehalten wurden, änderte sich das Ergebnis nicht.

2. Versuche mit Itete II v.

Um einen unmittelbaren Vergleich mit den für Mäuse avirulenten Stämmen zu haben, wurde der Rhesusaffe No. 5, «Udo», mit einem Stamm Itete II v, und zwar mit der gleichen Suspension wie die Läuse der Versuchsserie No. 4116 (Tab. 2), inokuliert. Als Impfmaterial diente die Suspension von 2 Zecken, die ihrerseits durch Saugakt an der Maus am 5. 7. 55 unter Versuchs-No. 4025 (siehe Tab. 2) infiziert waren. Die näheren Daten des Affenversuches finden sich in Tab. 3. Die Inokulation des Affen erfolgte am 1. 11. 55. Der Affe bekam bereits nach 6 Tagen (7. 11. 55) den ersten Anfall. Die Spirochaetämie dauerte 4 Tage. Am 3. Tag war der Höhepunkt mit etwa 1—5 Spirochaeten pro Gesichtsfeld des dicken Tropfens erreicht. Der Unterschied der langen Spirochaeten gegenüber den Kurzformen der für Mäuse avirulenten Stämme war auffällig (vgl. Abb. 5 und 6). Auch dieser Affe zeigte deutliche klinische Symptome. Er war während des Anfalls appetitlos, adynamisch, steif und schwerfällig in seinen Bewegungen. Die Körpertemperatur betrug 38,6° C (1. Tag), 38,4° C (2. Tag), 40,0° C (3. Tag), 38,4° C (4. Tag). 11 Tage nach Beginn des ersten Anfalls (18. 11. 55) kam es zu einem 4tägigen Rückfall mit Gipfel am 4. Tage. Die Spirochaetämie war etwas stärker als beim 1. Anfall, die klinischen Symptome erschienen jedoch schwächer. Die Temperatur betrug am 4. Tag auf der Höhe der Spirochaetämie 40,3° C, an den übrigen Tagen war sie normal. Dieser Affe bekam nach 13 Tagen (1. 12. 55) einen 2. Rückfall, der 3 Tage dauerte und am 3. Tag mit einer Körpertemperatur von 40,4° C seinen Höhepunkt erreichte. Im Blut fanden sich 1—3 Spirochaeten pro Gesichtsfeld des dicken Tropfens.

Die weitere Untersuchung der Spirochaeten aus dem Blut dieses Rhesusaffen bestätigte die bereits erwähnte Virulenzschwankung und Labilität des Stammes. Am 3. Tag des 1. Anfalls wurden Mäuse mit verdünntem Affenblut subkutan und Läuse intracoelomal inokuliert (Tab. 4 No. 4124). In den Mäusen fanden sich nach 2 Tagen die ersten Spirochaeten. Die Spirochaetämie hielt wenigstens 8 Tage an. Zu dieser Zeit wurde die Blutkontrolle abgebrochen.

In der Hämolymphe der Läuse entwickelten sich die Spirochaeten gut weiter, jedoch traten neben den normalen langen Spirochaeten wieder zahlreiche Kurzformen auf. Von 21 unter-

suchten Läusen enthielten 20 in der Hämolymphe Spirochaeten. Die Zahl der Spirochaeten nahm mit dem Abstand vom Inokulationsdatum zu. Mit der Hämolymphe von 4 Läusen wurden am 12. Tag 2 Mäuse subkutan und eine weitere Serie Läuse intracoelomal (No. 3435) inokuliert. Die Mäuse blieben negativ. In den Läusen kam es jedoch zu einer kräftigen Vermehrung der Spirochaeten. Mit der Hämolymphe von 5 Läusen wurden 15 Tage später 2 Mäuse inokuliert, bei denen nach 3 Tagen eine Spirochaetämie einsetzte. Danach scheint auch hier die Virulenz des Stammes für Mäuse vorübergehend abgeschwächt gewesen, aber durch eine weitere Läusepassage wieder hergestellt worden zu sein.

Im Unterschied zu den Stämmen Itete II a sind die kürzere Inkubationszeit (6 Tage), die verlängerte Spirochaetämie und die größere Zahl von Spirochaeten im Blut des mit Itete II v inokulierten Affen bemerkenswert. Im klinischen Bild ergaben sich keine eindeutigen Unterschiede. Die Körpertemperatur war nur jeweils an einem Tage der Spirochaetämie erhöht. Eine möglicherweise größere Virulenz des Stammes ist vielleicht am ehesten aus der Tatsache zu erkennen, daß es im Verlaufe der Erkrankung zu einem 2. Rückfall kam, der bei den mit Itete II a infizierten Stämmen nicht beobachtet wurde.

Die Infektion des Menschen mit Itete II a.

Die Übertragbarkeit der für Mäuse avirulenten Stämme auf Rhesusaffen machte es wahrscheinlich, daß dieselben auch für den Menschen virulent sein könnten. Deswegen wurde ein Freiwilliger (F.W.) mit den Spirochaeten Itete II a aus einer Zecke subkutan inokuliert. Die betreffende Zecke war am 6. 5. 55 via coxa mit einer Suspension aus Zecke 9 (vgl. Tab. 1 und 3) inokuliert worden, mit der auch der Rhesusaffe No. 2 («Turido») infiziert wurde. Diese Zecke wurde am 18. 11. 55 verarbeitet. Die Hämolymphe enthielt Spirochaeten. Für die Übertragung auf den Menschen wurde nur das stark spirochaetenhaltige, in Bouillon zerriebene Ovarium benutzt. Die Versuchsperson erkrankte nach 9-tägiger Inkubationszeit am 27. 11. 55. Nach kurzen Prodromalerscheinungen mit Frösteln und leichtem Unwohlsein kam es zu einem 4tägigen Fieberanfall. Es wurden folgende Temperaturen gemessen:

27. 11. 55	20 h	39,1° C		18 h	39,3° C
				20 h	38,1° C
28. 11. 55	6 h	38,1° C			
	20 h	39,3° C	30. 11. 55	8 h	37,6° C
				14 h	39,7° C
29. 11. 55	6 h	39,8° C		16 h	39,1° C
	10 h	39,2° C		18 h	37,6° C
	16 h	39,1° C		20 h	37,1° C

Es bestanden Gliederschmerzen und besonders quälende Kopfschmerzen, Konjunktivitis, Appetitlosigkeit und allgemeine Schwäche. Die Blutsenkung war leicht beschleunigt, das Blutbild zeigte mit 4—5000 Leukozyten eine deutliche Leukopenie und außerdem eine ausgeprägte Linksverschiebung. Die Rekonvaleszenz dauerte etwa 1 Woche. In dieser Zeit waren Abgeschlagenheit, leichte körperliche Ermüdbarkeit, Schlafstörungen und nächtliche Schweißausbrüche bemerkenswert. Es erfolgte keine medikamentöse Beeinflussung des Krankheitsablaufes.

Während der ganzen Zeit der Fieberattacke ließen sich Spirochaeten im Blut nachweisen, jedoch in auffällig spärlicher Zahl. Nur beim Durchmustern einer größeren Anzahl von Gesichtsfeldern des Dunkelfeldes oder dicken Tropfens konnten vereinzelte Spirochaeten gefunden werden. Am 2. Fiebertage wurden 3 Mäuse mit je 1 ccm Blut des Patienten inokuliert; außerdem wurden ihm 3 Zecken zum Saugen angesetzt. Die Mäuse blieben negativ. Für eine Infektion von Läusen war die Spirochaetämie zu schwach. Die Spirochaeten traten im Blut in denselben Kurzformen auf wie beim Affen. Nach 15 Tagen (12. 12. 55) kam es zu einem 2tägigen Rückfall, bei dem sich wieder nur wenige Spirochaeten im Blut fanden. Die klinischen Symptome glichen denen des 1. Anfalls, waren jedoch heftiger und von kürzerer Dauer. Das Fieber stieg in den Abendstunden auf 40,2° C. Ein zweiter, aber abortiver Rückfall trat 17 Tage später auf. Das Fieber erreichte 38,4° C und hielt sich nur etwa 12 Stunden. Es bestanden leichte Kopf- und Gliederschmerzen. Spirochaeten wurden im Blut nicht gefunden.

Von den während des ersten Anfalls angesetzten Nymphen von *O. moubata* wurde eine nach 9 Tagen untersucht. Sie enthielt bei der mikroskopischen Untersuchung der inneren Organe keine Spirochaeten. Die Überimpfung des Zeckenbreies auf Mäuse und Läuse verlief ebenfalls negativ. Die beiden übrigen Zecken wurden 7 Tage später zerrieben und auf Mäuse und Läuse intracoelomal übertragen. Während das Blut der Mäuse keine Spirochaeten zeigte, enthielten später 6 von 14 Läusen in der Hämolymphe Spirochaeten. Die Hämolymphe von 6 weiteren Läusen wurde auf eine Serie frischer Läuse überimpft. Von 23 geprüften Läusen war nur eine positiv.

Der Mensch reagierte also auf die Infektion mit einem avirulenten Stamm Itete II a nach einer Inkubationszeit von 9 Tagen mit einem unter den klinischen Symptomen einer Allgemeininfektion einhergehenden Anfall, der 4 Tage anhielt, bei dem aber nur wenige Spirochaeten im Blut nachweisbar waren. Es kam nach 15 Tagen zu einem 2tägigen Rückfall mit schwacher Spirochaetämie und 17 Tage später zu einem zweiten abortiven Rück-

fall, bei dem sich keine Spirochaeten im Blut nachweisen ließen. Erwähnenswert ist, daß die Spirochaetämie des Menschen auch durch den Zeckenversuch bestätigt wurde. Die Spirochaeten konnten durch Übertragung von Zeckenbrei auf Läuse festgestellt werden. Sie waren sowohl im Menschen wie in der Laus durch Kurzformen gekennzeichnet und zeigten in der Laus keine Vermehrungstendenz, auch nicht nach Übertragung mit der Hämolymphe in frische Läuse.

Im Vergleich zu dem von HEISCH (1950, S. 29 ff.) an sich selbst beobachteten Fall scheint die Erkrankung von F.W. eher milde verlaufen zu sein. Dies kann besonders auch auf die Affen zutreffen, wobei uns allerdings Vergleiche fehlen, da uns aus der Literatur Versuche mit Rhesusaffen nicht bekannt sind.

Versuche über Immunität zwischen den für Mäuse virulenten und avirulenten Spirochaeten aus Itete.

Für diese Versuche standen vier Rhesusaffen zur Verfügung, die bereits eine Infektion mit Itete I a, Itete II a oder Itete II v durchgemacht hatten. Die Resultate der Reinokulation sind aus Tabelle No. 5 ersichtlich.

TABELLE 5.

Affe	Primoinfektion		Reinokulation		Resultate
«Pamina»	Itete II a	4. 1. 55 *	Itete I v	20. 1. 56	immun
«Pirat»	Itete I a	29. 6. 55 *	Itete I v	20. 1. 56	nicht immun
«Olga»	Itete II a	16. & 17. 12. 55 *	Itete I v	20. 1. 56	nicht immun
«Udo»	Itete II v	1. 11. 55 *	Itete II a	17. 1. 56	nicht immun

Nach HEISCH hinterlassen homologe Stämme von *B. duttoni* in Versuchstieren Immunität. Entsprechende Erfahrungen wurden am Menschen gemacht anläßlich der Fiebertherapie mit *B. duttoni*.

Der Umstand, daß im Falle von «Pamina» die Primoinfektion mit Itete II a gegen die Reinfektion mit Itete I v schützte, während dies bei «Olga» nicht der Fall war, zeigt die antigenetische Heterogenität der Spirochaeten aus Itete an. Dies ist um so bemerkenswerter, als die Zecken nicht nur aus der gleichen Lokalität stammen, sondern aus den gleichen Schlafstätten der Zöglinge der Missionsschule in Itete.

Die Reinkulation der Affen mit dem Stamm Itete I v verlief mit einem Anfall und 2 Rückfällen ähnlich wie die Erstinokulation mit dem gleichen Stamm bei «Udo», jedoch leichter. Inkubations-

* siehe Tabelle 3 und S. 204 ff.

zeit, Intervalle zwischen den Anfällen und Dauer der Spirochaetämie waren verkürzt. Die Spirochaetämie war bei «Pirat» sehr schwach. Die Temperatur war nicht oder nur unwesentlich erhöht. Bei dem Versuchsaffen «Olga», bei welchem die Erstinokulation nur einen Monat zurücklag, war die Reaktion auf die Reinokulation etwas stärker als bei «Pirat». Hier fiel die Zunahme der Spirochaetenzahl bei den Rückfällen und die Dauer der Spirochaetämie beim 2. Anfall auf, die ohne merkliche Temperaturerhöhung verlief. Die Reinokulation des Affen «Udo» mit dem Stamm Itete II a war durch einen Anfall mit einer 4tägigen Spirochaetämie und durch das Ausbleiben von Rückfällen gegenüber der Erstinokulation mit dem gleichen Stamm («Pamina», «Turido», «Pirat», «Olga») gekennzeichnet. Die Spirochaeten behielten ihre kurzen Formen auch im Blut des Affen.

Da Spirochaeten von Itete I v nur für diese Reinokulationsversuche benutzt wurden, ist es keineswegs angängig, den milden Verlauf nach den Reinokulationen mit Itete I v auf eine vorgängige Infektion mit den übrigen Stämmen aus Itete zurückzuführen.

Superinfektion von Itete II a-beherbergenden Zecken mit virulenten Borrelia-Stämmen.

Die Beobachtung, daß die im Internat in Itete gesammelten Zekken mit wenigen Ausnahmen für Mäuse avirulente Spirochaeten enthielten, wies auf die Möglichkeit hin, daß die mit avirulenten Spirochaeten besiedelten Zecken für eine sekundäre Besiedlung mit einem virulenten Stamm nicht geeignet sein könnten.

Mit aus der Coxa von Imagines der F_1-Generation von Itete II a durch Punktion entnommener spirochaetenhaltiger Hämolymphe wurden Jungmäuse subkutan inokuliert. Keine der Mäuse zeigte in der Folge Spirochaeten im Blute. 25 dieser Zecken wurden daraufhin zweimal auf Mäusen gefüttert, die mit dem virulenten Stamm Itete I v infiziert waren. Drei Monate später wurden die 23 überlebenden Zecken einzeln zerrieben und intraperitoneal in je zwei Mäusen verimpft. Pro Versuch wurden 4—7 Zecken verarbeitet; 17 der 23 Zecken enthielten virulente Spirochaeten:

$$\frac{6}{6} \quad \frac{5}{6} \quad \frac{2}{4} \quad \frac{4}{7} \text{ [1]}$$

Aus diesen Resultaten ist ersichtlich, daß in den Zecken keine Interferenz zwischen für Mäuse avirulenten und virulenten Spirochaeten bestand.

Ganz entsprechend gestaltete sich auch der Verlauf nach intra-

[1] Der Zähler gibt die Anzahl der virulente Spirochaeten enthaltenden Zekken an, der Nenner die Anzahl der verwendeten Zecken.

coxaler Inokulation eines virulenten *Borrelia*-Stammes. Man verwendete dazu 18 Nachkommen einer Original-Itete-Zecke, Trägerin des Itete-I a-Stammes; sie enthielten alle avirulente Spirochaeten in ihrer Hämolymphe. Außerdem wurden 29 spirochaetenfreie Zecken intracoxal mit einer den Itete-I a-Stamm enthaltenden Zekkenaufschwemmung inokuliert; gleichzeitige Injektionen in 2 Mäuse bestätigten die Avirulenz. 7 dieser insgesamt 47 Zecken gingen ein. Von den 40 überlebenden wiesen innert 10 Tagen 21 zahlreiche Spirochaeten in der Hämolymphe auf; wir bezeichnen sie als Gruppe A und die 19 übrigen (von denen sich später herausstellte, daß sie ausnahmslos nicht in der Hämolymphe, wohl aber in den Organen Spirochaeten enthielten) als Gruppe B. Es erfolgte nun in folgender Weise die Superinfektion:

Gruppe A.

Eine der 21 Zecken wurde kontrollweise zur Aufschwemmung verarbeitet und in 2 Mäuse gespritzt, wobei sich die Avirulenz des Itete-I a-Stammes erneut bestätigte.

Den 20 übrigen Zecken wird intracoxal Mäuseblut gespritzt, das einen 1954 in Ifakara aus einem Rückfallfieberpatienten isolierten, virulenten Stamm enthält. Diese superinfizierten Zecken werden 2—6 Wochen im Wärmeschrank gehalten und auf spirochaetenfreier Maus gefüttert. Sodann werden sie einzeln seziert, wobei überall in Hämolymphe und Organen Spirochaeten festgestellt werden. Aufschwemmungen jeder Zecke werden in je 2 Mäuse gespritzt und diese vom 4. Tag an kontrolliert, wobei sich bezüglich der Mäuse-Virulenz dieser Spirochaeten-Mischung folgendes Resultat ergibt.

Bei 2 Zecken erwiesen sich die Spirochaeten als avirulent, die 4 Mäuse blieben negativ. Bei 16 Zecken zeigten die beiden Mäuse nach 6-tägiger Inkubationszeit mittleren, bei 2 Zecken erst nach 8- und 9-tägiger Inkubationszeit leichten Spirochaetenbefall, der auch in der Folgezeit schwach blieb und rasch verschwand. Es erwies sich somit, daß der in das «avirulente Zeckenmilieu» verbrachte virulente Borrelia-Stamm seine Virulenz gegenüber der Maus in 2 Fällen eingebüßt hatte, während sie in den 18 andern Fällen keine merkliche Abschwächung erfahren hatte, abgesehen vielleicht von einer Verlängerung der Inkubationszeit, die bei der Maus normalerweise 4—5 Tage beträgt.

Gruppe B.

5 dieser 19 Zecken mit reinem Organbefall wurden wie die Gruppe A intracoxal mit Mäuseblut gespritzt, das denselben humanpathogenen Ifakara-Stamm enthielt. Nach 6 Wochen Sektion

jeder Zecke, Feststellen des Vorhandenseins von Spirochaeten und Inokulation von je 2 Mäusen mit diesen Aufschwemmungen. Die Kontrollen der Mäuse (vom 4. Tag an) ergaben, daß 3 Zecken-Emulsionen bei den betreffenden 6 Mäusen nach 5 bzw. 7 Tagen nur sehr leichten Spirochaetenbefall zeigten; die 4. Zecken-Emulsion führte nach 5 Tagen zu leichtem und die 5. nach 5 Tagen zu deutlichem Spirochaetenbefall. Sie bestätigen somit die Resultate von Gruppe A.

Die 14 übrigen Zecken der Gruppe B, an denen keine Superinfektion vorgenommen wurde, sind seziert und ihre Aufschwemmungen teils in je 2 Mäuse, teils zum Konservieren des Stammes in reine Zecken intracoxal gespritzt worden. Es haben sich auch diese ausnahmslos als für die Maus avirulent erwiesen.

Zum Superinokulationsversuch wurde eine *Kontrollserie* geführt, indem 19 reine Zecken gleichzeitig mit dem humanpathogenen Ifakara-Stamm (in Mäuseblut) intracoxal gespritzt wurden. Bei allen wurden nach 2—6 Wochen Spirochaeten festgestellt und ihre Aufschwemmungen an je 2 Mäuse gespritzt. Eine Aufschwemmung lieferte nur sehr schwachen Spirochaetenbefall bei den Mäusen, 17 mittleren und 1 sehr deutlichen. Die Kontrollserie stimmt also im wesentlichen mit den Resultaten der Gruppen A und B überein.

Versuche über die Empfänglichkeit von Buschzecken für B. duttoni.

In einer früheren Publikation (GEIGY & MOOSER) wurde berichtet, daß in dem von uns untersuchten Gebiet in Süd-Tanganyika nicht nur in menschlichen Siedlungen, sondern auch im Busch *O. moubata* festgestellt wurde, speziell in den von Warzenschweinen benützten unterirdischen Gängen von Erdferkeln. Bei keiner dieser «Buschzecken», von denen gegen 200 sorgfältig mikroskopisch untersucht worden sind, konnten Spirochaeten festgestellt werden, weder in der Hämolymphe noch in den Organen. Im Hinblick auf die Epidemiologie des afrikanischen Rückfallfiebers war es von Interesse zu erfahren, ob die von uns gesammelten Buschzecken für einen in der gleichen Gegend isolierten virulenten Stamm von *B. duttoni* empfänglich seien. Als Kontrollen dienten Zecken aus einer Zucht normaler *O. moubata*.

Je eine Anzahl Busch- und Hüttenzecken, Männchen und Weibchen sowie Nymphen, wurden gleichzeitig auf einer stark mit *B. duttoni* infizierten Maus gefüttert. Es hatten somit jeweils sämtliche Busch- und Hüttenzecken, die auf einer Maus gefüttert wurden, die gleiche Chance, sich zu infizieren. Nach einem Monat wurden die Zecken seziert und auf ihren Spirochaetengehalt untersucht.

TABELLE 6.

	Centralganglion		*Speicheldrüsen*		*Geschlechtsorgane*	
	Busch-Zecken 43	Hütten-Zecken 36	Busch-Z.	Hütten-Zecken	Busch-Z.	Hütten-Zecken
Adulte Zecken	(+)	+(+)	—	+	+	+
	+	++	—	+	+++	+++
	(+)	+++	—	(+)	(+)	++
	(+)	++	—	—	—	+++
Adulte und Nymphen IV	+(+)	+++	—	+	+	+
	++	++(+)	(+)	(+)	+	(+)
	+++(+)	++	—	+	—	—
	+(+)	(+)	(+)	—	+(+)	—
	+	++++	(+)	++	+	++++!
	+++	++	—	+	—	—
	(+)	++	—	+	—	—
	++	++(+)	—	—	+	(+)
	+(+)	++	(+)	+	—	+++
	(+)	+(+)	—	+(+)	(+)	+
	+(+)	+	—	(+)	—	—
	—	+(+)	(+)	(+)	(+)	?
	—		—		+	
	+		—		(+)	
	++		—		(+)	
Nymphen II	++(+)	++(+)	++	(+)		
	(+)	++++	—	(+)		
	+	++	—	—		
	++	++++	—	+++		
	+	+	—	(+)		
	(+)	++	+	+		
	(+)	+++	(+)	+++		
	++	+++	(+)	++++		
	+	+++	—	+++		
	+	+	(+)	—		
	(+)	+++	(+)	+		
	++(+)	+++	+(+)	++(+)		
	++(+)	++(+)	—	++		
	(+)	++	(+)	++		
	+	+	(+)	+		
	+++	(+)	(+)	—		
	+	+	—	(+)		
	++(+)	+	—	+		
	++(+)	++	—	(+)		
	++	+++	(+)	+		
	+++		(+)			
	++		—			
	+++		—			
	+(+)		—			

Bewertung des Infektionsgrades:

— = kein Befall.
(+) = 1 Spirochaete in jedem 10. Blickfeld.
+ = 1 Spirochaete im 1. bis 3. Feld.
++ = 2 Spirochaeten pro Feld.
+++ = 3—4 Spirochaeten pro Feld.
++++ = zahlreiche Spirochaeten pro Feld.
++++! = zahlreiche Spirochaeten mit Knäuelbildung

Von 45 Buschzecken erwiesen sich 43 = 95,5% als infiziert;
von 38 Hüttenzecken » » 36 = 94,7% » »

Tabelle 6 gibt Aufschluß über den Organbefall bei Busch- und Hüttenzecken. Mehrere Proben mit infizierten Buschzecken-Nymphen ergaben, daß sie, genau wie Hüttenzecken, fähig sind, *B. duttoni* beim Stechakt auf die Maus zu übertragen.

Diskussion.

Unter den Zecken-Rückfallfiebern nimmt die durch *B. duttoni* verursachte und von *O. moubata* übertragene Krankheit Afrikas eine epidemiologische Sonderstellung ein. Während bei den sporadischen Rückfallfiebern der Neuen Welt und z. T. auch der Alten Welt die Erreger in *Ornithodorus*-Arten nachgewiesen wurden, die auf wildlebenden Tieren parasitieren, besonders Nagetieren, ist es bis jetzt nicht gelungen, mit *B. duttoni* infizierte Exemplare von *O. moubata* außerhalb menschlicher Behausungen zu finden. Während langer Zeit hatte man sogar angenommen, daß diese Zecke ein ausschließlicher Bewohner der Negerhütten und der Karawansereien Afrikas sei. Heute weiß man, daß diese Zecke in einem weiten Gebiete Ostafrikas in Erdlöchern wildlebender Tiere, besonders von Warzenschweinen, anzutreffen ist. Diese Feststellung weist darauf hin, daß die Domestikation von *O. moubata* als ein sekundäres Phänomen zu betrachten ist. Völlig ungeklärt bleibt hingegen die Frage, wo diese domestizierte Zecke den Erreger des afrikanischen Rückfallfiebers, *B. duttoni,* ursprünglich bezogen hat. In Analogie mit andern durch *Ornithodorus*-Arten übertragenen Rückfallfiebern wird angenommen, daß ursprünglich auch *B. duttoni* ein Parasit wildlebender Tiere und der auf denselben parasitierenden Zecken gewesen sei. Bei denjenigen *Ornithodorus*-Arten, welche ihren Spirochaetengast in hohem Prozentsatz der Gelege auf die folgenden Generationen übertragen, scheint allerdings ein empfänglicher Säugetierwirt nicht erforderlich zu sein für die Existenz der Spirochaete. Die Zecke bildet das Erregerreservoir, und das Säugetier scheint nur erforderlich zu sein für das Fortkommen der Zecken. Dies scheint der Fall zu sein für die durch *O. moubata* übertragene *B. duttoni.* Es fragt sich aber, ob *B. duttoni* bei ausschließlicher transovarieller Übertragung, also ohne gelegentliche Zwischenschaltung eines infizierten Säugetierwirtes, ihre Eigenschaften dauernd beibehält. Die im Blut kranker Menschen kreisenden Spirochaeten scheinen stets virulent zu sein für weiße Mäuse und weiße Ratten, ebenso die meisten in *O. moubata* nachweisbaren Spirochaeten. Dies war auch der Fall im Jahre 1949 in Dörfern des Ulanga-Distriktes von Tanganyika, besonders in Ifakara und in Itete, wo damals ausgedehnte Untersuchungen

angestellt worden waren (GEIGY & BURGDORFER 1951). Seither scheint das Rückfallfieber im Internat von Itete verschwunden und im Dorfe Ifakara zur Ausnahme geworden zu sein. Dem Verschwinden des Rückfallfiebers im Knabeninternat von Itete entsprach nun keineswegs ein Rückgang der Anzahl oder gar das Verschwinden der mit *B. duttoni* infizierten Zecken. Tatsächlich erwiesen sich bei mikroskopischer Untersuchung über 20% der in den Schlafstätten gesammelten Zecken als spirochaetenhaltig. Überraschenderweise ergab sich aber, daß nur ca. 3% der infizierten Zecken Spirochaeten enthielten, die auf weiße Mäuse übertragen werden konnten, während 97% derselben Spirochaeten enthielten, die sich für weiße Mäuse und für die in der Nähe der Schlafstellen gefangenen Ratten als völlig avirulent erwiesen. Hingegen reagierten Rhesusaffen und eine freiwillige Versuchsperson auf die Inokulation mit diesen für Mäuse avirulenten Spirochaeten mit den Symptomen des Rückfallfiebers. In einem Experiment gelang die Infektion eines Rhesusaffen durch den natürlichen Saugakt einer Zecke, welche für weiße Mäuse avirulente Spirochaeten enthielt. Das Verschwinden des Rückfallfiebers in Itete könnte deswegen wohl durch eine erworbene Immunität der Zöglinge bedingt worden sein. Eine Immunität der Zöglinge, deren Schlafstellen mit Hunderten von Zecken bevölkert waren, hätte es notgedrungen mit sich gebracht, daß während mehrerer Jahre die Persistenz der Spirochaeten nur durch ausschließliche transovarielle Übertragung hätte verwirklicht werden können. Da alle im Jahre 1949 in Itete gesammelten Zecken für Mäuse virulente Spirochaeten enthalten hatten, während 97% der dort im Jahre 1954 gesammelten Zecken für Mäuse avirulente Spirochaeten beherbergten, war die Vermutung naheliegend, daß der inzwischen eingetretene Virulenzverlust durch eine lange dauernde ausschließliche transovarielle Übertragung bedingt sein könnte.

Diese Annahme scheint durch die seither im Laboratorium gemachten Beobachtungen gestützt zu werden. Der Stamm Itete I a, der anläßlich seiner Isolierung aus einer Zecke im Jahre 1949 in Mäusen eine typische Duttoni-Infektion hervorgerufen hatte, ist seither im Laboratorium nach ausschließlicher transovarieller Übertragung avirulent geworden für weiße Mäuse. Er verhält sich wie die Spirochaeten Itete II a der im Jahre 1954 ebenfalls in der Missionsschule in Itete gesammelten Zecken und wie die in deren Filialgenerationen 1—3 enthaltenen Spirochaeten. Der Stamm Itete I v, dessen Abkömmlinge die avirulenten Spirochaeten I a sind, wurde vom Oktober 1953 bis Mai 1955 in ausschließlichen Mäusepassagen gehalten. Er hat während dieser Zeit keine Abnahme der Virulenz für Mäuse erkennen lassen. Dies war auch der

Fall mit Stamm Itete I v bei seiner Aufbewahrung in *O. moubata.* Die Zecken, die sich im Oktober 1953 durch Füttern auf Mäusen infiziert hatten, beherbergten im Januar 1956 immer noch Spirochaeten, welche in Mäusen eine für diesen Stamm ursprünglich charakteristische mittelstarke Spirochaetämie von ca. 3 Wochen erzeugten.

Für Mäuse vollständig avirulente Spirochaeten beherbergende *Moubata*-Zecken wurden im Jahre 1954 nicht nur in der Mission in Itete festgestellt, sondern auch in den Dörfern Ifakara und Kilosa. Es ist deswegen zu erwarten, daß dieses Phänomen auch anderswo festzustellen ist, wenn nur danach gefahndet wird. Nach unseren Erfahrungen genügt die übliche Inokulation von Mäusen oder Ratten nicht, um die Infektion einer Zecke mit *B. duttoni* festzustellen.

Der Verlust der Virulenz für die Maus und die Ratte muß als das Resultat einer definitiven Mutation betrachtet werden. Weder eine Passage durch Rhesusaffen noch durch den Menschen änderte die Eigenschaft von Itete II a. Ebensowenig trat eine Änderung ein nach experimenteller Passage durch die Kleiderlaus. Die Spirochaeten in den Zecken der dritten Filialgeneration von Itete II a verhielten sich identisch mit denjenigen, welche in den Zecken enthalten waren, die 1954 in Itete gesammelt worden waren. Man darf annehmen, daß nicht alle Stämme von *B. duttoni* diese ausgesprochene Eigenschaft zur Mutation haben wie die in Itete und Ifakara beobachteten Stämme. In der Literatur sind Stämme von *B. duttoni* erwähnt, welche ihre Virulenz für Versuchstiere nach Passagen bis in die dritte Zeckengeneration unverändert beibehalten haben (WENYON 1926, p. 1249).

Da mit *B. duttoni* infizierte Zecken in der freien Natur noch nie gefunden wurden, nimmt man allgemein an, daß das afrikanische Rückfallfieber eine ausschließliche Infektion des Menschen und der in seinen Behausungen lebenden Zecken sei. Wo, wie in Itete, in fast 100% der Zecken Spirochaeten nachgewiesen werden, die für die in den Wohnungen der Eingeborenen vorkommenden Tiere nicht infektiös sind, wohl aber für den Menschen, bleibt gar nichts anderes übrig als die Annahme, daß *O. moubata* und der Mensch die ausschließlichen Wirte von *B. duttoni* seien. Wenn *B. duttoni,* wie die Erreger anderer durch Zecken auf den Menschen übertragener Rückfallfieber, in freilebenden Zecken nachgewiesen werden könnte, dann müßte man die in Itete und Ifakara nachgewiesene Variante als das letzte Glied betrachten einer über lange Zeitläufe vor sich gegangenen Entwicklung des afrikanischen Rückfallfiebers von einer ursprünglich unter Nagetieren vorkommenden Infektion zur ausschließlichen Krankheit des Menschen.

Da *B. duttoni* transovariell in ununterbrochener Kette von Zecke zu Zecke übertragen wird, scheint es logisch, daß die meisten Autoren nicht den Menschen als das Virusreservoir betrachten, sondern die Zecke. Man könnte sich aber wohl vorstellen, daß bei ausschließlicher transovarieller Übertragung der Spirochaete über sehr lange Zeit die Virulenz für den Menschen verlorengehen könnte. Wenn dies nachgewiesen werden sollte, dann müßte die Ansicht, daß *O. moubata* das Reservoir des afrikanischen Rückfallfiebers ist, dahin modifiziert werden, daß zur Erhaltung der Virulenz der Spirochaeten, und damit zur Persistenz der menschlichen Erkrankung, der Mensch ebenso notwendig sei wie die Zecke. Aus wenigen Beobachtungen weitgehende Schlüsse zu ziehen, besteht keine Berechtigung. Die Versuche mit Rhesusaffen sowie der Versuch an F. W. scheinen aber doch darauf hinzuweisen, daß der Verlust der Virulenz für Mäuse möglicherweise mit einer Abnahme der Virulenz für Affen und den Menschen einhergehen kann.

Bemerkenswert war auch das Verhalten der für Mäuse avirulenten Stämme von *B. duttoni* gegenüber *Pediculus vestimenti*. Für Mäuse virulente Stämme vermehren sich im Coelom der Laus ungehemmt, sowohl nach intracoelomaler und rectaler Inokulation spirochaetenhaltigen Materials als auch nach Fütterung der Läuse an infizierten Mäusen (MOOSER & WEYER 1954). Ganz anders verhielten sich die für Mäuse avirulenten Spirochaeten aus Itete. In keinem Falle gelang die Infektion von Läusen durch rectale Inokulation, weder mit Zerreibungen infizierter Zecken noch mit spirochaetenhaltigem Affenblut. Nach intracoelomaler Inokulation kam es zu einer nur sehr mäßigen Ansiedlung der Spirochaeten in der Hämolymphe, und eine passageweise intracoelomale Fortführung des Stammes gelang nur mühsam oder versagte. In keinem Falle kam es zu der für den mäusepathogenen Stamm Itete I v charakteristischen ungehemmten Vermehrung im Coelom der Laus. Die Avirulenz für die weiße Maus scheint deswegen gekoppelt zu sein mit einem mangelhaften Vermögen der Entwicklung in *Pediculus*. Auch in morphologischer Hinsicht scheint eine Korrelation zu bestehen zwischen dem Fehlen der Virulenz der für Mäuse avirulenten Stämme und dem Verhalten derselben in der Laus sowie in Rhesusaffen und im Menschen. Die Spirochaeten waren zarter, färbten sich weniger intensiv und hatten nur wenige Windungen. In den Zecken hingegen unterschieden sie sich nicht von virulenten Stämmen. Die Versuche mit Rhesusaffen ergaben, daß die für Mäuse virulenten und avirulenten Spirochaeten aus dem Internat von Itete mit einer Ausnahme gekreuzte Immunität vermissen ließen. Man könnte, da diese Spirochaeten alle aus den gleichen Schlafquartieren stammen, versucht sein, anzunehmen, daß pari

passu mit der Mutation virulent — avirulent für Mäuse eine Änderung der antigenen Eigenschaften vor sich gegangen sei. Es liegt aber näher, anzunehmen, daß die avirulenten Stämme polyvalent sind, weil ihre virulenten Vorfahren dies schon waren. HEISCH stellte fest, daß: «Absolute cross-immunity between homologous strains was a striking feature of the cross-immunity experiments.» Die gleiche Erfahrung wurde wiederholt am Menschen gemacht nach therapeutischen Infektionen mit *B. duttoni*. Es ist bekannt, daß Stämme von *B. duttoni* nicht nur aus verschiedenen Gegenden, sondern aus der gleichen Gegend in antigener Beziehung oft verschieden sind. Es ist aber doch bemerkenswert, daß Zecken aus dem gleichen Schlafquartier in Itete antigene Verschiedenheit aufwiesen. GEIGY & BURGDORFER (1951) beschrieben Stämme von *B. duttoni,* welche areziproke Immunität hinterließen. Dieses Phänomen könnte darauf beruhen, daß ein aus einer Zecke isolierter Stamm ein Gemisch enthält von zwei in antigener Beziehung verschiedenen Spirochaeten, während der zweite Stamm, dessen antigenes Verhalten gegenüber dem ersteren geprüft wird, nur eine der zwei Spirochaeten enthält. Daß ein solches Vorkommen möglich ist, geht aus den Versuchen hervor, in welchen Zecken, die mit Itete II a infiziert waren, sich mit Itete I v infizieren ließen.

Literatur.

GEIGY, R. (1951). Transmission de *Spirochaeta duttoni* par *Ornithodorus moubata* et évolution de diverses souches de cet agent pathogène dans la souris blanche. — Atti III° Congr. Internaz. Igiene & Med. mediterran., Palermo, 14-16 maggio.

GEIGY, R. & BURGDORFER, W. (1951). Unterschiedliches Verhalten verschiedener Stämme von *Spirochaeta duttoni* in der weißen Maus. — Acta Tropica, *8,* 151-154.

GEIGY, R. & MOOSER, H. (1955). Studies on the Epidemiology of African Relapsing Fever in Tanganyika. — J. Trop. Med. & Hyg., *58,* 199-201.

GEIGY, R. & MOOSER, H. (1955). Untersuchungen zur Epidemiologie des afrikanischen Rückfallfiebers in Tanganyika. — Acta Tropica, *12,* 327-345.

GEIGY, R., WAGNER, O. & AESCHLIMANN, A. (1954). Transmission génitale de *Borrelia duttoni* chez *Ornithodorus moubata.* — Acta Tropica, *11,* 81-82.

HEISCH, R. B. (1950). Studies in East African Relapsing Fever. — East Afr. med. J., *27,* 1-58.

MOOSER, H. & WEYER, F. (1954). Künstliche Infektion von Läusen mit *Borrelia duttoni.* — Zschr. Tropenmed., *5,* 28-45.

WENYON, C. M. (1926). Protozoology, 2. — London.

Résumé.

A Bâle, une souche de *B. duttoni,* provenant du village d'Itete (Tanganyika) et qui a été maintenue transovariellement dans trois générations de tiques *O. moubata,* a perdu sa virulence initiale pour la souris blanche. Elle se comporte à ce point de vue comme certaines souches récoltées en 1954 dans les dortoirs d'un internat de la mission capucine d'Itete, où, autrefois en

1949, on n'avait rencontré que des spirochètes normalement virulents pour la souris. Comme dans cet internat aucun nouveau cas de fièvre récurrente n'a été signalé depuis 1949, on arrive à la conclusion que le même phénomène s'est produit dans l'internat d'Itete et dans le cas expérimental de Bâle ; c'est-à-dire que les spirochètes auraient perdu leur virulence pour la souris par suite de leur séjour prolongé et exclusif dans la tique au cours de plusieurs transmissions transovarielles.

La perte de virulence pour la souris n'a pas été associée à une avirulence pour l'homme et pour le singe *M. rhesus*. Les symptômes cliniques et la spirochétémie, qu'accompagnait cette maladie chez cinq singes et un volontaire, ont été plutôt faibles. Tandis que les spirochètes des souches virulentes pour la souris évoluaient abondamment dans *Pediculus*, les souches avirulentes montraient une évolution plutôt réduite. Il a été prouvé qu'une souche avirulente pour la souris conserve ce caractère même lorsqu'elle est maintenue sur *O. moubata* pendant plusieurs générations. Lorsqu'on provoque une superinfection d'une tique hébergeant une souche avirulente en lui injectant une souche virulente, le caractère de cette dernière n'en est pas affecté.

Summary.

In Basle a strain of *B. duttoni* from Itete, Tanganyika, which was exclusively kept in *O. moubata* down to the third filial generation of the ticks, has lost its original virulence for mice. It behaves in this respect like the spirochaetes which were observed in 1954 in more than 90 per cent of the ticks in the sleeping quarters of the boarding school of the Catholic Mission in Itete, where in 1949 all the ticks examined had harboured spirochaetes of normal virulence for mice. Since no new cases of relapsing fever had shown up in that school during several years previous to 1954, it is suggested that the same sequence of events may have occurred in Itete and in Basle, i.e., exclusive longstanding transovarial transmissions followed by the loss of virulence of the spirochaetes for mice. The loss of virulence for mice was not associated with a loss of virulence for man and *M. rhesus*.

The clinical symptoms of the disease in 5 monkeys and in a volunteer were rather mild and the spirochaetemia scanty. Whereas the spirochaetes of the mouse-virulent strains multiplied abundantly in *Pediculus*, the avirulent strains showed very limited growth. An avirulent strain preserves its character even after having been maintained in several generations of *O. moubata*. When a tick, harbouring an avirulent strain, is superinfected with a virulent one, the virulence of the latter is not affected.