**Zeitschrift:** Acta Tropica

**Herausgeber:** Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)

**Band:** 30 (1973)

Heft: 3

Artikel: Verhalten von "Rickettsia montana" und "R. canada" in Kleiderläusen

**Autor:** Weyer, F. / Reiss-Gutfreund, R.J.

**DOI:** https://doi.org/10.5169/seals-311871

## Nutzungsbedingungen

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

### **Conditions d'utilisation**

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

#### Terms of use

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

**Download PDF:** 19.11.2025

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

Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg (Dir.: Prof. Dr. med. H.-H. Schumacher)

Istituto di Microbiologia della Università di Torino (Dir.: Prof. Dr. G. CAVALLO)

# Verhalten von *Rickettsia montana* und *R. canada* in Kleiderläusen

F. WEYER und R. J. REISS-GUTFREUND

# Entdeckung und Merkmale von R. montana und R. canada

Bell et al. (1963) gaben die Isolierung einer zur Spotted-fever-Gruppe gehörenden Rickettsienart bekannt. 41 Stämme wurden aus Schildzecken der Art Dermacentor variabilis und zwei aus D. andersoni isoliert. Es handelte sich um nüchterne Weibchen, die an 6 Plätzen in 2 Gebieten im östlichen Montana gesammelt worden waren. LACKMAN et al. (1965) kamen nach genauerer Prüfung und Vergleich mit den Angehörigen der Spotted-fever-Gruppe (R. rickettsi, R. sibirica, R. conori, R. akari und R. parkeri) zu dem Ergebnis, daß es sich um eine neue Art handelt. Sie erhielt den Namen R. montana. Diese Autoren geben noch an, daß die Rickettsien außer in Zecken auch in 2 Nagern, einer Peromyscus- und einer Microtus-Art, gefunden wurden. R. montana unterscheidet sich morphologisch und färberisch nicht von den anderen Arten der Gruppe, Meerschweinchen sind aber für R. montana nicht empfänglich. Außerdem konnte R. montana mit Hilfe der KBR bei Benutzung von Antiseren aus Mäusen klar von den übrigen Dermacentroxenus-Arten abgetrennt werden. Die Stämme ließen sich im Dottersack des Hühnerembryos züchten und behielten ihre Eigenschaften auch nach längeren Passagen.

Ein Jahr später beschrieben McKiel et al. (1966) eine weitere Rickettsienart als *R. canada*, die aus vollgesogenen Zecken (*Haema-physalis leporispalustris*) isoliert worden war. Die Zecken stammten von Kaninchen, die man in der Nähe von Richmond, Ontario, zur Anlockung von Zecken ausgesetzt hatte. Die Isolierung erfolgte ebenso wie bei *R. montana* durch Beimpfung von Dottersäcken mit Suspensionen aus den Zecken. Es handelte sich um 2 Stämme.

Die Rickettsien waren im Unterschied zu R. montana auf Meerschweinchen übertragbar und verursachten bei einem Teil der Tiere Fieber, jedoch keine Skrotalreaktion. Serologische Tests bei Meerschweinchen, Hamstern und Kaninchen ergaben überraschenderweise eine enge Antigen-Verwandtschaft von R. canada mit R. prowazeki und besonders R. mooseri. Bei Benutzung von Antiseren aus Mäusen in der KBR und mit Hilfe des Toxin-Neutralisationstests ließ sich jedoch

R. canada von den Erregern des klassischen und murinen Fleckfiebers abgrenzen. Keine Antigen-Beziehungen bestehen zu R. rickettsi, R. akari und Coxiella burneti. R. canada wird daher zur Typhus-Gruppe gerechnet.

Burgdorfer (1968) hat sich mit der Biologie von R. canada, insbesondere ihrem Verhalten in Zecken und verschiedenen warmblütigen Versuchstieren befaßt. Später konnten Burgdorfer & Brinton (1970) eine transovarielle Weiterleitung der Rickettsien bei Dermacentor andersoni und eine intranukleäre Vermehrung in Zecken feststellen, während Brinton & Burgdorfer (1971) die Feinstruktur von R. canada aufklärten. Konkrete Anhaltspunkte für die systematische Stellung der Art und ihre Beziehungen zu anderen Rickettsien ergaben sich dabei jedoch nicht.

Da einer von uns (WEYER, 1954, 1965) das Verhalten aller bisher bekannten menschenpathogenen Rickettsien in Kleiderläusen in ausgedehnten Versuchen studiert hatte, erschien es von Interesse, auch die beiden neuen Rickettsienarten auf Läuse zu übertragen und ihre Biologie in diesem Wirt zu untersuchen, um dadurch möglicherweise weitere Anhaltspunkte für ihre systematische Stellung zu gewinnen. Das Vorkommen von Rickettsien (die auf Grund ihrer Antigen-Struktur zur Typhus-Gruppe gerechnet werden müssen) in Zecken schien auch geeignet, auf die Isolierung von *R. prowazeki* und *R. mooseri* aus Haustieren und den auf ihnen parasitierenden Zecken in Äthiopien (REISS-GUTFREUND, 1955, 1956, 1966) und die daran anschließenden Untersuchungen und Spekulationen ein neues Licht zu werfen.

Über die Versuche zur Übertragung von R. montana und R. canada auf Läuse haben wir bereits auf dem «II. Symposium on Medical and Veterinary Acaroentomology» vom 21.–23. 10. 1971 in Gdańsk kurz berichtet (Weyer & Reiss-Gutfreund, 1971). Diese Beobachtungen sollen hier detaillierter und durch einige Abbildungen ergänzt beschrieben und vor allem ausführlicher diskutiert werden.

# Material und Untersuchungsmethoden

Im Oktober 1969 sandte uns Dr. W. Burgdorfer vom Rocky Mountain Laboratory in Hamilton (Montana) freundlicherweise einen Stamm von *R. montana* in Form von 8 infizierten *Dermacentor andersoni*. Mit einer Suspension aus diesen Zecken wurde je eine Serie von Kleiderläusen nach der Methode von Weigl rektal und intracölomal inokuliert. Die Läuse wurden bei 32 °C gehalten, am Menschen gefüttert und in bestimmten zeitlichen Intervallen nach der Inokulation auf das Vorkommen von Rickettsien an Hand von Ausstrichen des Magens und der Hämolymphe untersucht. Die Färbung der Ausstriche erfolgte nach Giemsa und Stamp.

Ein Stamm von R. canada wurde einem von uns (REISS-GUTFREUND) liebenswürdigerweise durch Dr. R. Ormsbee, ebenfalls vom Rocky Mountain Laboratory in Hamilton, zur Verfügung gestellt. Mit lyophilisiertem und frischem Material aus Dottersackkulturen wurden teils in Turin, teils in Hamburg einige Serien von



Abb. 1. Ausstrich vom Magen einer Kleiderlaus, infiziert mit R. montana. Rickettsien in extrazellulärer Lage auf und zwischen den Epithelzellen. 10. Tag p. i., Vergr. 1200×, Färbung nach Giemsa.

Kleiderläusen inokuliert und später in ähnlicher Weise verarbeitet wie die mit R. montana inokulierten Läuse. Versuche zur längeren Haltung der Stämme in Läusen mit Hilfe von Passagen konnten aus äußeren Gründen leider nicht unternommen werden.

# **Ergebnisse**

## R. montana

Bei den rektal inokulierten Läusen setzte eine kräftige Vermehrung der Rickettsien ein. Die ersten nach 7 Tagen hergestellten Ausstriche von Läusemägen und Läusefäzes enthielten bereits reichlich Rickettsien. Alle von diesem Zeitpunkt ab angefertigten Ausstriche von insgesamt 22 Läusen waren positiv. Die letzten zwei Läuse wurden 21 Tage nach der Inokulation verarbeitet.

Zu unserer Überraschung vermehrte sich *R. montana*, im Unterschied zu allen anderen menschenpathogenen Rickettsien (mit Ausnahme von *R. quintana*), nicht nur intrazellulär in den Zellen des Magenepithels, sondern zu einem erheblichen Teil auch extrazellulär auf den Epithelzellen und im Magenlumen. Das war in dem auf den Objektträgern möglichst gleichmäßig ausgebreiteten und gefärbten Magenepithel deutlich zu erkennen (Abb. 1 u. 2). Die Rickettsien erschienen klein und waren nach GIEMSA relativ schwach gefärbt. In den meisten Ausstrichen fanden sie sich überwiegend in extrazellulärer Lage, doch waren fast stets auch einige vergrößerte Zellen mit intrazellulären Rickettsien zu erkennen (Abb. 3). In den ersten Vermehrungsstadien kam es auch zur Bildung kurzer Ketten. In den zuletzt



Abb. 2. Ausstrich vom Magen einer Kleiderlaus, infiziert mit R. montana. Größere Mengen von Rickettsien in extrazellulärer Lage im Magenlumen. 13. Tag p. i., Vergr. 1200×, Färbung nach Giemsa.

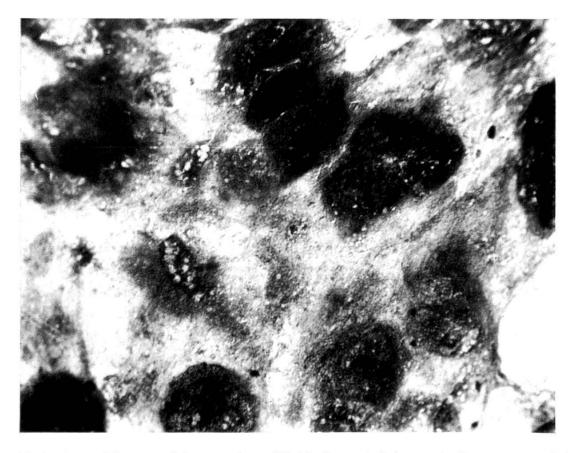


Abb. 3. Ausstrich vom Magen einer Kleiderlaus, infiziert mit R. montana. Die dunklen Zellen sind vergrößert und enthalten Rickettsien in intrazellulärer Lage. 18. Tag p. i., Vergr. 350×, Färbung nach Giemsa.

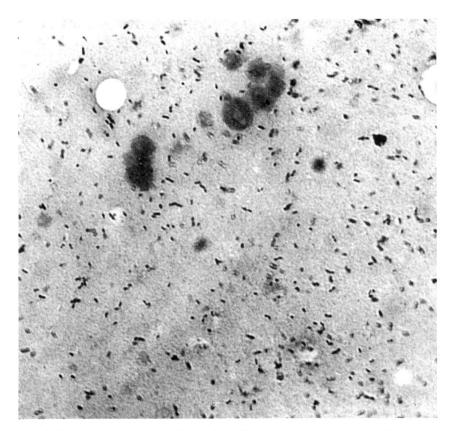


Abb. 4. Ausstrich von der Hämolymphe einer intracölomal mit R. montana infizierten Kleiderlaus. Spärliche Vermehrung der Rickettsien. 19. Tag p. i., Vergr. 1200x, Färbung nach Giemsa.

sezierten Läusen, 18 bis 21 Tage p. i., überwogen intrazelluläre Rikkettsien.

Da in den meisten Fällen nur ein Teil der Magenzellen befallen war, dürfte damit die fehlende oder wenigstens nicht erkennbare Schädigung der Läuse zusammenhängen. Eine rötliche Verfärbung von Läusen, wie sie bei intrazellulärer Vermehrung von Rickettsien in der ganzen Schleimhaut sonst die Regel ist, wurde nicht gesehen. Auf der Höhe der Vermehrung wurde vor der Sektion der Läuse und der Herstellung von Magenausstrichen jeweils auch die Hämolymphe untersucht. Sie enthielt keine Rickettsien; diese beschränkten sich vielmehr auf den Magen.

Bei den intracölomal inokulierten Läusen wurde am 8. Tag p. i. mit der Untersuchung der Hämolymphe begonnen. Zu diesem Zeitpunkt enthielt die Hämolymphe Rickettsien, die sich in Vermehrung befanden. Zweifellos wären sie schon früher nachzuweisen gewesen. Alle von diesem Zeitpunkt ab bis zum Abbruch der Versuche 19 Tage p. i. untersuchten Läuse, insgesamt 23, waren positiv. Die Rickettsien vermehrten sich intrazellulär in den Hämozyten, überwiegend aber extrazellulär. Sie verhielten sich also wie die bekannten intrazellulären Rickettsienarten (Weyer, 1954, 1964), jedoch war die Vermehrung deutlich schwächer (Abb. 4). Bei anderen in dieser Richtung untersuchten

Rickettsien, z. B. R. mooseri oder C. burneti, stellte die Hämolymphe zwei Wochen nach der Inokulation fast eine Reinkultur von Rickettsien dar.

Zehn Tage p. i. wurden beiläufig auch die Fäzes der Läuse kontrolliert. Wider Erwarten enthielten sie Rickettsien. Ihre Zahl nahm in den folgenden Tagen deutlich zu. Daraufhin wurden bei allen anschließend verarbeiteten Läusen außer der Hämolymphe auch die Mägen untersucht. Die Ausstriche zeigten, daß die Rickettsien von der Hämolymphe aus den Magen befallen hatten und sich hier, ebenso wie nach rektaler Applikation, teils extra-, teils intrazellulär vermehrten. Die intrazelluläre Vermehrung überwog. Alle 14 Magenausstriche waren positiv. Die Magenzellen übten also eine besondere Anziehung auf die Rickettsien aus.

Die Tatsache, daß R. montana von der Hämolymphe in den Magen eindringt, ließ den Gedanken aufkommen, daß die Rickettsien auch die Ovarien befallen könnten, daß also ihre transovarielle Weiterleitung auf die Nachkommenschaft im Bereich der Möglichkeit lag. Daher wurden 60 Larven (Stadium I) der F<sub>1</sub>-Generation, die größtenteils aus Eiern von intracölomal inokulierten Läusen geschlüpft waren, in Form einer Suspension rektal auf Läuse übertragen. Die später untersuchten Läuse enthielten keine Rickettsien, eine transovarielle Übertragung hatte also nicht stattgefunden.

## R. canada

In Turin wurden in 3 Versuchsserien 75 weibliche Kleiderläuse und in 3 weiteren Serien 65 männliche mit *R. canada* rektal inokuliert. Von den 75 Weibchen konnten später 52 seziert werden, 24 waren positiv, d. h., sie enthielten Rickettsien. Von den 65 inokulierten Männchen wurden 48 zu Magenausstrichen verarbeitet. Die Zahl der positiven Ausstriche betrug 25. Rund 50% der untersuchten Läuse waren also mit *R. canada* infiziert. Die ersten positiven Ausstriche fanden sich 5 Tage nach der Inokulation, in einem Fall bereits nach 4 Tagen. In zwei weiteren Versuchsserien mit je 25 Läusen waren unter 42 Ausstrichen in einer Serie 4, in der zweiten nur 3 infiziert. Ob die im Vergleich zu den anderen Versuchen schwache Empfänglichkeit der Läuse rein zufällig oder nur durch technische Faktoren bedingt war, konnte nicht geklärt werden.

Die intraperitoneale Übertragung von Läusekot auf zwei Meerschweinchen führte weder zu klinischen noch zu serologisch nachweisbaren Reaktionen bei den Versuchstieren. Ausstriche von 30 Eiern und einigen Larven enthielten keine Rickettsien. Weitere Larven (insgesamt kamen rund 50 Larven zur Untersuchung, die noch 3 bis 8 Tage nach dem Schlüpfen gefüttert worden waren) wurden in Form einer Suspension auf Meerschweinchen übertragen. Auch dieser Versuch

verlief negativ. Es gab also keinen Anhalt für eine transovarielle Weiterleitung der Rickettsien auf die nächste Generation, obwohl einige Ausstriche von Eiern verdächtig schienen. Nach den Erfahrungen mit dem Verhalten anderer Rickettsien in Läusen war ein Befall der Eier auch nicht zu erwarten.

Ende November 1970 wurde in Hamburg je eine Serie von Kleiderläusen rektal und intracölomal mit lyophilisiertem Material aus Dottersackkulturen, das von Turin nach Hamburg geschickt worden war, inokuliert. Diese Läuse wurden im Verlauf von 16 Tagen zu Ausstrichen von Mägen bzw. der Hämolymphe verarbeitet. Alle Ausstriche waren negativ, auch Ausstriche von den Läusefäzes. Offenbar enthielt das Ausgangsmaterial keine oder nicht genügend lebende Rickettsien.

Aus diesem Grunde wurden weitere Serien von Läusen in Turin rektal mit Material aus frischen Dottersackkulturen inokuliert. Eine dieser Serien wurde in Hamburg in der Zeit vom 17. 2. bis 15. 3. 71 verarbeitet. In den ersten beiden 10 Tage p. i. sezierten Läusen fanden sich Rickettsien in Vermehrung in Form von kurzen Ketten. Auch in den später sezierten Läusen waren Rickettsien nachzuweisen. Von 17 untersuchten Läusen waren 10 positiv.

Die Infektion mit *R. canada* war im Vergleich zu anderen Rickettsien schwach. Die Kotausstriche enthielten nur vereinzelte Rickettsien. Im Magen vermehrten sich die Rickettsien nur intrazellulär (Abb. 5–8). Ihr Verhalten in der Laus unterschied sich deutlich von dem anderer Rickettsien durch die geringe Vermehrungsintensität, vor allem aber dadurch, daß gewöhnlich nur wenige Zellen des Magenepithels befallen waren (Abb. 5). Die Rickettsien schienen sehr fest im Zellplasma fixiert zu sein, denn in den Ausstrichen waren nur wenige freie, aus den Zellen herausgelöste Rickettsien zu sehen. Mit dem Befall nur einzelner Zellen dürfte zusammenhängen, daß die infizierten Läuse keine Lebensverkürzung oder sonstige Schädigung erkennen ließen. Die letzte überlebende und normal erscheinende Laus wurde einen Monat p. i. seziert. Die Rickettsien beschränkten sich auf die Magenschleimhaut, die Hämolymphe war negativ.

### Diskussion

Obwohl nur eine beschränkte Zahl von Experimenten angestellt und auch keine längere Haltung der Stämme in Läusen mit Hilfe von Passagen vorgenommen werden konnten, ergab sich, daß sowohl *R. montana* als auch *R. canada* auf Kleiderläuse übertragbar und in den Läusen lebens- und vermehrungsfähig sind, wie das für alle menschenpathogenen Rickettsien gilt. Das Verhalten der beiden neuen Arten unterschied sich aber in einigen Punkten deutlich von dem der anderen Rickettsien.

R. montana vermehrte sich rasch und intensiv im Magen der Laus; dabei war bemerkenswert, daß die Vermehrung nicht nur intrazellulär,

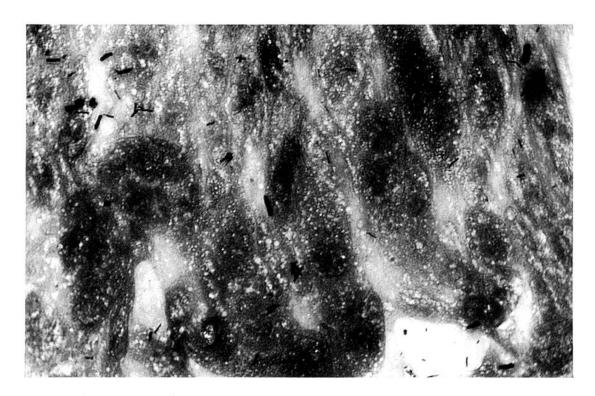


Abb. 5. Ausstrich vom Magen einer mit R. canada infizierten Kleiderlaus. Aus dem Epithel heben sich nur wenige dunkle mit Rickettsien befallene Zellen heraus. 26. Tag p. i., Vergr. 140×, Färbung nach Giemsa.

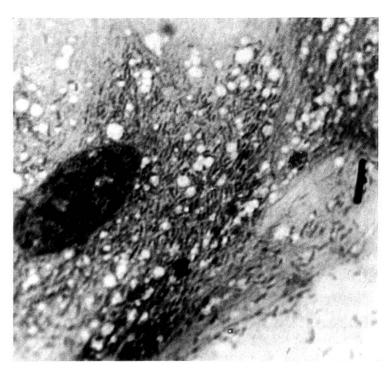


Abb. 6. Ausschnitt aus Abb. 5 bei stärkerer Vergrößerung. Intrazelluläre Lage der Rickettsien deutlich erkennbar. Vergr. 1200×, Färbung nach Giemsa.



Abb. 7. Ausstrich vom Magen einer mit R. canada infizierten Kleiderlaus, der den relativ spärlichen Befall der Zellen mit Rickettsien erkennen läßt. 30. Tag p. i., Vergr. 1200×, Färbung nach Stamp.

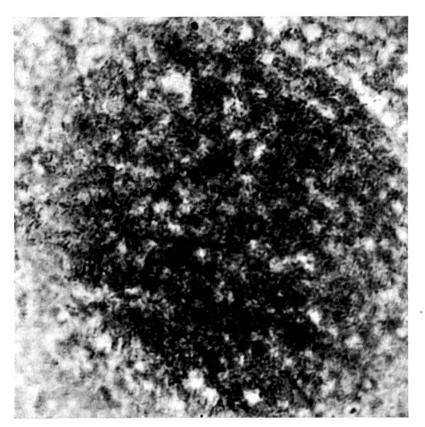


Abb. 8. Ausstrich vom Magen einer mit R. canada infizierten Kleiderlaus, eine stark infizierte und vergrößerte Zelle zeigend. 30. Tag p. i., Vergr. 1200×, Färbung nach Stamp.

sondern, soweit sich das nach der relativ kleinen Zahl von untersuchten Läusen beurteilen läßt, mindestens in gleicher Intensität auch extrazellulär im Magenlumen vor sich ging. Das ist von keiner anderen Rickettsienart bekannt, wenn man davon absieht, daß sich Stämme von R. mooseri unter bestimmten Bedingungen auch extrazellulär wie R. quintana vermehren können, wobei sie allerdings ihre Pathogenität für Warmblüter einbüßen (Weyer, 1971). Zu einer erkennbaren Schädigung der infizierten Läuse kam es nicht, offenbar weil die intrazelluläre Vermehrung sich nur in einem Teil der Magenzellen vollzog und nicht zu einer Desintegration der Zellen oder der Schleimhaut führte.

R. montana, aufgrund ihrer Antigen-Struktur zur Spotted-fever-Gruppe gestellt, verhielt sich also in der Laus anders als die übrigen Angehörigen der Gruppe: R. rickettsi, R. sibirica, R. conori, R. akari und R. australis. Bei diesen Arten wurde in zahlreichen, sich über längere Zeit hinziehenden Versuchen mit kontinuierlicher Haltung der Stämme durch Passagen niemals eine extrazelluläre Vermehrung der Rickettsien gesehen. Die Vermehrung fand nur innerhalb der Epithelzellen statt, sie breitete sich über die gesamte Schleimhaut aus, und häufig kam es zu einer merklichen Schädigung der Läuse, die sich in einer mehr oder weniger starken Lebensverkürzung äußerte. Die Rickettsien waren somit für die Läuse pathogen. Das gilt besonders für einige Stämme von R. rickettsi und R. conori. Hier gingen die infizierten Läuse oft schon nach 4–7 Tagen ein (Weyer, 1954, 1965).

Eine weitere Eigentümlichkeit zeigte R. montana nach intracölomaler Applikation. Die Vermehrung in der Hämolymphe war im Vergleich zu anderen Rickettsien reduziert. Es ist verständlich, daß die Läuse dadurch nicht beeinträchtigt wurden. Erstaunlich war aber, daß die Rickettsien von der Hämolymphe aus den Magen befielen und sich hier wesentlich intensiver als in der Hämolymphe extra- und besonders intrazellulär vermehrten. Ein solcher Übergang von der Hämolymphe in die Magenzellen wurde bei anderen Rickettsien ganz selten und dann nur bei starker Vermehrung auf der Höhe der Infektion gesehen. Eine Ausnahme machte C. burneti. Dieser Erreger befiel regelmäßig von der Hämolymphe aus nicht nur den Magen, sondern auch andere Organe der Laus (WEYER, 1953, 1954). Die Invasion von der Hämolymphe in den Magen und die zum Teil extrazelluläre Vermehrung im Magenlumen stellen also die wichtigsten spezifischen Merkmale nach Übertragung von R. montana in die Laus im Vergleich zu anderen Rickettsien und speziell zu denen der Spotted-fever-Gruppe dar.

R. canada war charakterisiert durch eine rein intrazelluläre, aber langsame und spärliche Vermehrung in den Magenzellen der Laus. Im Unterschied zu R. prowazeki beschränkten sich Befall und Vermehrung auf wenige Zellen der Schleimhaut. Zu der für R. prowazeki typischen raschen Ausbreitung der Infektion auf benachbarte Zellen und das

gesamte Epithel kam es nicht. Damit hängt wahrscheinlich zusammen, daß bei den infizierten Läusen keine Schädigung zu erkennen war.

Das in unseren Versuchen beobachtete Verhalten von *R. montana* und *R. canada* in der Laus ist zwar biologisch recht bemerkenswert, gibt aber auch keinen Hinweis auf ihre systematische Stellung oder die verwandtschaftlichen Beziehungen zu anderen Arten. Es betont allerdings durch spezifische Merkmale ihre Sonderstellung und rechtfertigt auch von diesem Blickwinkel aus die Aufstellung neuer Arten. Mit Rücksicht auf die nahen Antigen-Beziehungen von *R. canada* zu *R. mooseri* und *R. prowazeki* hatten wir angenommen, daß sich *R. canada* in der Laus ähnlich wie die Angehörigen der Typhus-Gruppe, zu der ja *R. canada* gerechnet wird, verhalten würde. Das traf aber nicht zu.

Die Antigen-Eigenschaften von *R. canada* haben für diesen Organismus ein besonderes Interesse ausgelöst, auch im Zusammenhang mit der bereits erwähnten Isolierung von *R. prowazeki* aus Haustieren bzw. den auf ihnen parasitierenden Zecken (Reiss-Gutfreund, 1955, 1956, 1966). *R. canada* ist daher schon Gegenstand mehrerer Untersuchungen gewesen. Die Annahme, daß *R. canada* für den Menschen nicht pathogen ist, wird übrigens in Zweifel gesetzt durch eine Beobachtung von Bozeman et al. (1970). Diese Autoren fanden nämlich in Seren von 4 Patienten, bei denen klinisch ein schweres Felsengebirgsfleckfieber diagnostiziert worden war, ohne daß diese Diagnose serologisch gesichert wurde, komplementbindende Antikörper gegen *R. canada*.

BURGDORFER (1968) hat Rickettsien aus Dottersackkulturen (12. Eipassage) auf Schneeschuhhasen (Lepus americanus), Kaninchen, Mäuse und junge Küken übertragen; ferner wurden Zecken auf natürlichem Wege durch Saugen an infizierten Mäusen oder durch künstliche Fütterung mit Hilfe von Glaskapillaren, teilweise auch intracölomal, inokuliert. Eine Rickettsiämie war nur bei Wiesenmäusen (Microtus pennsylvanicus) und jungen Küken festzustellen, aber nicht bei Hasen und Kaninchen. In natürlich oder künstlich infizierten Zecken (Dermacentor andersoni und Haemaphysalis leporispalustris) kam es zu einem generalisierten Befall des ganzen Organismus. Die Rickettsien vermehrten sich in verschiedenen Geweben unter Bevorzugung von Hypodermal- und Darmzellen, bei erwachsenen Zecken gelegentlich auch in Hämozyten. Die Zecken übertrugen die Rickettsien von einem Stadium zum anderen und beim Blutsaugen auf Hasen und Meerschweinchen. Bei den Versuchstieren wurden später komplementbindende Antikörper nachgewiesen. Eine Schädigung der infizierten Zecken war nicht zu erkennen.

Später konnten Burgdorfer & Brinton (1970) bei Haltung der Rickettsien in *H. leporispalustris*, *D. andersoni* und *D. variabilis* zu  $100 \, ^{0}/_{0}$  eine transovarielle Weiterleitung der Rickettsien auf die fol-

gende Generation und eine intranukleäre Vermehrung in verschiedenen Zeckengeweben konstatieren. Wiederum waren Zellen der Hypodermis und des Darmepithels bevorzugt. Teilweise vermehrten sie sich intranukleär in Hämozyten, aber auch in verschiedenen Geweben von vollgesogenen Larven, die von infizierten Weibchen abstammten.

Für ein Studium der Ultrastruktur von *R. canada* benutzten Brinton & Burgdorfer (1971) Rickettsien in Hämozyten, Hypodermal-, Muskel- und Darmzellen, in Zellen der Malpighi'schen Gefäße und der Ovarien von Zecken der 4. Filialgeneration (*Dermacentor andersoni*). Wiederum waren Hypodermal- und außerdem Muskelzellen besonders stark befallen. Eine intranukleäre Vermehrung beschränkte sich auf die Zellen des Darmepithels. Elektronenmikroskopische Untersuchungen von Rickettsien in den Hypodermalzellen erlaubten die Unterscheidung von drei morphologischen Erscheinungsformen. Die strukturellen Unterschiede sind wahrscheinlich Ausdruck von Wachstums- und Entwicklungsformen unter dem Einfluß von Stoffwechselvorgängen in den Wirtszellen. Im Grundaufbau (dreischichtige Zell- und Plasmamembran, netzförmige Matrix mit Ribosomen usw.) stimmt *R. canada* jedoch mit anderen Rickettsien und speziell mit denen der Spotted-fever-Gruppe durchaus überein. Von dieser Seite waren irgendwelche spezifischen Details auch nicht zu erwarten.

Das Verhalten von *R. canada* in Zecken, insbesondere die unter bestimmten Bedingungen auftretende intranukleäre Vermehrung und die transovarielle Weiterleitung der Rickettsien auf die nächste Generation, deckt sich mit dem der anderen Angehörigen der Spotted-fever-Gruppe. Würde man nur diese Eigenschaften kennen, käme man nicht auf den Gedanken, den Organismus zur Typhus-Gruppe zu rechnen. Das wäre auch nicht der Fall, wenn man das Verhalten der Rickettsien in der Kleiderlaus als Kriterium heranzieht. Es ist deutlich anders als das von *R. prowazeki* oder *R. mooseri*. Allerdings stimmt es auch nicht mit dem der von uns untersuchten Angehörigen der Spotted-fever-Gruppe überein.

Der Widerspruch, weitgehende Parallelen der biologischen Eigenschaften bei einem Parasitismus in Zecken zwischen *R. canada* und den Rickettsien des Subgenus *Dermacentroxenus* und enge Antigenverwandtschaft mit *R. prowazeki* und *R. mooseri*, ist ungeklärt. Die Antigenstruktur der Rickettsien galt bisher als streng spezifisch und bildete die feste Grundlage für die systematische Gliederung der verschiedenen Rickettsienarten und ihre Zusammenfassung zu bestimmten Gruppen.

Die bisherigen Stellungnahmen zur Erklärung dieses Widerspruchs sind keinesfalls befriedigend. Französische Autoren (GIROUD et al., 1953; GIROUD & CAPPONI, 1968) haben die Ansicht geäußert, daß sich Rickettsienstämme biologisch und physiologisch wandeln können, so daß sich z. B. R. conori bei längerer Haltung in Mäuselungen morphologisch ändern und die Eigenschaften von R. mooseri gewinnen kann, auch bezüglich der Antigenstruktur. Diese Annahme kann aber nur als Hypothese gewertet werden. Schlüssige Beweise für die Möglichkeit derartiger Wandlungen stehen noch aus. Die Beobachtungen wurden bisher nicht bestätigt. Dasselbe gilt auch für die Angaben von PRICE et al. (1958), daß es ihnen gelungen

sei, einen Stamm von R. prowazeki durch Behandlung mit Extrakten aus R. mooseri so zu verändern, daß er die Merkmale von R. mooseri annahm. Auch diese Experimente sind weder wiederholt noch von anderer Seite nachgeprüft worden. Bei den von Reiss-Gutfreund aus Haustieren und Zecken isolierten Rickettsien handelt es sich einwandfrei um R. prowazeki bzw. R. mooseri und nicht um irgendwelche Zwischenformen. Einer dieser äthiopischen Stämme von R. prowazeki wurde in Hamburg auch auf Läuse übertragen und in Läusen gehalten (unveröffentlichte Beobachtungen). Er verhielt sich genau wie andere Stämme von R. prowazeki.

Die meisten Untersucher stimmen darin überein, daß die Eigenschaften der Rickettsienarten, ja vielfach auch die bestimmter Stämme, durch genetische Fixierung konstant sind und auch durch jahrelange Haltung in Dottersackkulturen und Versuchstieren oder durch äußere Einflüsse nur in einigen Merkmalen phänotypische, quantitative Variationen, z. B. in der Stoffwechselaktivität, Virulenz, Toxizität und Pathogenität für Versuchstiere, zeigen können. Die Antigen-Eigenschaften blieben in allen Fällen unverändert erhalten, selbst bei dem Auftreten eines als Mutation gedeuteten apathogenen Stammes von *R. prowazeki*, des bekannten Stammes E (Espagne).

Auch Burgdorfer & Brinton (1970) halten daher *R. canada* nicht für die Modifikation eines Stammes aus der Spotted-fever- oder Typhus-Gruppe, sondern für eine besondere Art, die als ein bisher nicht bekanntes und ungeklärtes Phänomen die biologischen Eigenschaften der einen und die Antigenstruktur der anderen Gruppe in sich vereinigt. Man darf die Bedeutung der Antigenstruktur als typisches und streng spezifisches Merkmal einzelner Rickettsienarten oder Artengruppen aber wohl nicht überschätzen. Welche Schwierigkeiten und ungeklärte Fragestellungen sich dabei ergeben können, zeigen z. B. die Untersuchungen von Peacock et al. (1971) über das Vorkommen von Rickettsiosen in Mittelamerika.

Die Autoren prüften eine größere Zahl von menschlichen Seren mit Hilfe der KBR und der Mikroagglutination (nach FISET et al., 1969). Dabei fanden sie in Costa Rica, Guatemala, Honduras und Panama insgesamt 16 Seren mit Antikörpern gegen R. canada. Acht dieser Seren enthielten außerdem Antikörper gegen Erreger der Spotted-fever-Gruppe, darunter drei speziell gegen R. akari. In sechs Seren fanden sich auch Antikörper gegen R. prowazeki und R. mooseri. Da Doppelinfektionen der betreffenden Serumspender nicht in Betracht kamen, ist daraus zu schließen, daß die Spezifität der Antikörper gegen die verschiedenen Rickettsiose-Erreger nicht so eindeutig ist bzw. daß die einzelnen Erregergruppen mehr gemeinsame Antigenkomponenten besitzen, als man gewöhnlich annimmt.

Das bestätigen auch Tierversuche. McKiel et al. (1967) stellten fest, daß 31 % von 58 Meerschweinchen, die mit *R. canada* infiziert waren, eine Immunität gegen eine Infektion mit *R. rickettsi* entwickelten, daß also doch auch Antigen-Beziehun-

gen zwischen R. canada und der Spotted-fever-Gruppe bestehen. Andererseits hatten schon früher PLOTZ et al. (1944) mitgeteilt, daß Patienten nach Überstehen eines Felsengebirgsfleckfiebers agglutinierende Antikörper nicht nur gegen R. rickettsi, sondern auch gegen R. prowazeki und R. mooseri besaßen. Umgekehrt fanden Murray & Gaon (1944) bei Patienten, die an Rickettsienpocken oder Felsengebirgsfleckfieber erkrankt waren, einen Anstieg der komplementbindenden Antikörper gegen R. prowazeki, insbesondere, wenn die betreffenden Personen gegen klassisches Fleckfieber geimpft waren. Die vier Seren aus Mittelamerika (Peacock et al., 1971), die nur mit Antigen gegen R. canada reagierten, hatten einen sehr niedrigen Titer (1:4). Die agglutinierenden Antikörper waren teilweise spezifischer als die komplementbindenden.

Ob *R. canada* wirklich zur «Typhus-Gruppe», also in die nächste Verwandtschaft von *R. prowazeki* und *R. mooseri* gehört, dürfte aufgrund der geschilderten Tatsachen und Zusammenhänge nicht eindeutig festliegen. Unsere Beobachtungen über das Verhalten von *R. canada* in Läusen könnten diese Zweifel stützen, zumal die Biologie von *R. canada* in der Zecke deutlich für Beziehungen zur Spotted-fever-Gruppe spricht. In jedem Fall handelt es sich nach wie vor um ein theoretisch höchst interessantes Phänomen.

#### Literatur

- Bell, E. J., Kohls, G. M., Stoenner, H. J. & Lackman, D. B. (1963). Nonpathogenic rickettsias related to the spotted fever group isolated from ticks, *Dermacentor variabilis* and *Dermacentor andersoni* from eastern Montana. J. Immun. 90, 770–781.
- BOZEMAN, F. M., ELISBERG, B. L., HUMPHRIES, J. W., RUNCIK, K. & PALMER, D. B., Jr. (1970). Serologic evidence of *Rickettsia canada* infection of man. J. Inf. Dis. 121, 367–371.
- Brinton, L. P. & Burgddrefer, W. (1971). Fine structure of *Rickettsia canada* in tissues of *Dermacentor andersoni* Stiles. J. Bact. 105, 1149–1159.
- BURGDORFER, W. (1968). Observations on *Rickettsia canada*, a recently described member of the typhus group rickettsiae. J. Hyg. Epid. Microbiol. Immun. 12, 26–31.
- BURGDORFER, W. & BRINTON, L. P. (1970). Intranuclear growth of *Rickettsia canada*, a member of the typhus group. Inf. Immun. 2, 112–114.
- FISET, P., ORMSBEE, R. A., SILBERMAN, R., PEACOCK, M. & SPIELMAN, S. H. (1969). A microagglutination technique for detection and measurement of rickettsial antibodies. Acta virol. 13, 60–66.
- GIROUD, P. & CAPPONI, M. (1968). Nouveaux résultats concernant des souches rickettsiennes intermédiaires, cas de R. canada. C. R. Acad. Sci. (Paris) 267, 452–453.
- GIROUD, P., GAILLARD, J. & ROGER, F. (1953). La démonstration des mutants dans les rickettsioses et plus particulièrement pour l'agent étiologique de la fièvre boutonneuse *Rickettsia conori.* Bull. Soc. Path. exot. 46, 173–175.
- LACKMAN, D. B., BELL, E. J., STOENNER, H. G. & PICKENS, E. G. (1965). The Rocky Mountain spotted fever group of rickettsias. Hlth Lab. Sci. 2, 135–141.
- McKiel, J. A., Bell, E. J. & Lackman, D. B. (1967). *Rickettsia canada:* A new member of the typhus group rickettsiae isolated from *Haemaphysalis leporis-palustris* ticks in Canada. Canad. J. Microbiol. 13, 503–510.

- Murray, E. S. & Gaon, J. A. (1968). Cross reactions and anamnestic responses between the typhus and Rocky Mountain spotted fever groups of rickettsiae. 8th Intern. Congr. trop. Med. Malaria, September 7–15, 875–876.
- Peacock, M. G., Ormsbee, R. A. & Johnson, K. M. (1971). Rickettsioses of Central America. Amer. J. trop. Med. Hyg. 20, 941–949.
- PLOTZ, H., BENNETT, B., WERTMAN, K. & SNYDER, M. (1944). Cross-reacting typhus antibodies in Rocky Mountain spotted fever. Proc. Soc. exper. Biol. Med. 57, 336–339.
- PRICE, W. H., EMERSON, H., NAGEL, H., BLUMBERG, R. & TALMADGE, S. (1958). Ecologic studies on the interepidemic survival of louse-borne epidemic typhus fever. Amer. J. Hyg. 67, 154–178.
- REISS-GUTFREUND, R. J. (1955). Isolement de souches de *Rickettsia prowazeki* à partir du sang des animaux domestiques d'Ethiopie et de leur tiques. Bull. Soc. Path. exot. 48, 602–606.
- Reiss-Gutfreund, R. J. (1956). Un nouveaux réservoir de virus pour *Rickettsia prowazeki*: Les animaux domestiques et leurs tiques. Bull. Soc. Path. exot. 49, 946-1023.
- REISS-GUTFREUND, R. J. (1966). The isolation of *Rickettsia prowazeki* and *mooseri* from unusual sources. Amer. J. trop. Med. Hyg. 15, 943–949.
- WEYER, F. (1953). Die Beziehungen des Q-Fieber-Erregers (Rickettsia burneti) zu Arthropoden. Z. Tropenmed. Parasit. 4, 344–382.
- WEYER, F. (1954). Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Rickettsien-Arten in der Kleiderlaus. Acta trop. 11, 193–221.
- WEYER, F. (1964). Experimentelle Übertragung von Rickettsien auf Arthropoden. Z. Tropenmed. Parasit. 15, 132–138.
- WEYER, F. (1971). Beobachtungen an extrazellulären Rickettsien (*Rickettsia mooseri* und *R. quintana*) und Versuche zur Beeinflussung ihrer Eigenschaften. Z. Tropenmed. Parasit. 22, 405–430.
- WEYER, F. & REISS-GUTFREUND, R. J. (1972). Experiments to transmit *Rickettsia* montana and R. canada to body lice. Wiad. Paraz. 18, 551–555.

#### Summary

R. canada and R. montana which have been isolated from hard ticks only a few years ago have been injected experimentally into human body lice: both have been introduced rectally and R. montana into the coelomic cavity as well.

Both species multiply in lice, R. montana intensively but R. canada on the contrary, develops slowly and sparingly.

R. montana multiplies inside the cells of the intestinal epithelium but only part of the cells is invaded. Furthermore multiplication was also detected in the lumen, a unique occurrence among rickettsiae (with the exception of R. quintana). Intracoelomic inoculation resulted in a relatively low multiplication in the hemolymph but the microorganisms invariably migrated from there into the stomach where they developed intracellularly and outside the cells. No pathogenic effect for the lice could be detected.

R. canada multiplies only inside the intestinal epithelium and attacks only a restricted part of the cells. The microorganism is not pathogenic for the lice. The behaviour of R. canada in lice differs distinctly from R. prowazeki.

Based on these observations and other publications the problems of the systematic position of the new species and of the specificity of antigenic structure of rickettsiae are discussed.

#### Résumé

R. canada et R. montana, isolés d'Ixodides depuis peu d'années, ont été injectées dans les poux humains: les deux espèces par voie rectale et R. montana dans la cavité coelomique également.

Les deux espèces se multiplient dans les poux, R. montana de manière intensive, R. canada lentement et plus modestement.

R. montana se multiplie dans les cellules de l'épithélium intestinal; cependant seule une partie de la cellule est envahie. On observe également une multiplication extracellulaire, dans la lumière de l'intestin, cas unique parmi les rickettsies (à l'exception de R. quintana).

A la suite de l'inoculation intracoelomique, les rickettsies se multiplient lentement dans l'hémolymphe, mais elles migrent invariablement dans l'estomac où elles se développent de manière intra- et extracellulaire. Aucun effet pathologique ne peut être détecté chez le poux.

R. canada se multiplie seulement dans l'épithélium intestinal et elles n'attaquent qu'une partie réduite de la cellule. Le microorganisme n'est pas pathogène pour le poux. Le comportement de R. canada diffère nettement de celui de R. prowazeki.

Se basant sur ses observations personnelles et sur d'autres publications, les auteurs discutes la position systématique des ces espèces nouvelles ainsi que la spécificité des structures antigéniques des rickettsies.