

FILE

ACTA TROPICA

THE FRANCIS & TAYLOR
LIBRARY OF MEDICINE
COUNTWAY
BOSTON

APR 27 1978

Journal of Biomedical Sciences
Revue de Sciences Biomédicales
Zeitschrift für Biomedizinische Wissenschaften

Published in charge
of the Swiss Tropical Institute, Basel



Editorial Board:

A. Degrémont, T. Freyvogel, H. Hecker, L. Jenni, D. Stürchler, N. Weiss

Vol. 35 (1978)

SCHWABE & CO · PUBLISHERS · BASEL/STUTT GART

chistosomiasis of the penis simulating

RENER: Concanavalin A receptors on

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

am hospes Looss, 1907 (Trematodes.

ecopic studies on the development of vector ticks *Rhipicephalus appendicu-*

Progresses in ecology and epidemiology of rickettsioses

A review

netic studies in Mediterranean Kala-

F. WEYER

DUL ASSIZ HUSSEIN: Seroepi-
a gegen Rickettsien und Chla-
Jordanien

Summary

idea). II. Antibody dependent adhe-

Despite the great successes in control, none of the rickettsioses pathogenic to man have been eradicated. Therefore, it is necessary to preserve the knowledge about these once devastating and important diseases, because the present situation could change suddenly. Under this aspect, a short review is presented with special reference to recent findings and actual problems in the ecology and epidemiology of rickettsioses.

ofilaraemia in hamsters in relation to

Particular emphasis is given to louse-borne and tick-borne typhus fevers. Some foci of louse-borne typhus continue to exist in Africa (Rwanda, Burundi, Ethiopia), comprising several thousands of cases annually, and on a smaller scale in Central and South America. In Africa, the control is complicated by the increasing resistance of lice to insecticides. In Southern Europe, special interest is paid to the late relapses of typhus fever (Brill-Zinsser disease).

The constant and alarming increase of cases of Rocky Mountain spotted fever in the United States during the last years is of particular interest and is due to the more frequent contact of people with infected ticks. As to Old World tick-bite fever, research is mainly directed to the detection of causative agent reservoirs in animals and ticks. The disease is, as zoonosis, more widely spread than previously assumed. Strains of rickettsiae identical or closely related to the known rickettsial species were isolated, for instance, in Thailand, Pakistan, Armenia, Czechoslovakia, and more recently in Austria and Southern Germany.

Key words: Rickettsioses, ecology, epidemiology, epidemic typhus, Brill-Zinsser disease, tick-borne typhus fevers, review.

Correspondence: Prof. Dr. F. Weyer, Bernhard-Nocht-Institut, Bernhard-Nocht-Strasse 74, D-2000 Hamburg 4 (BRD)

Introduction

For a long time, few data about incidences of typhus fever and other rickettsioses have been published, so that many people believe that these diseases are no longer of any importance. We must not forget, however, that none of the rickettsioses transmissible to man have disappeared or have been eradicated by special control measures. The present situation can change unexpectedly. Therefore, authorities concerned with public health, including the World Health Organization (WHO), stress the fact that the experiences and knowledge in the field of rickettsioses, gained by difficult and arduous investigations, must be preserved in order to avoid dangers from these diseases [9, 109].

This has been emphasized repeatedly. In 1972, the WHO organized in Washington an International Symposium on the control of lice and the diseases transmitted by them at which some 30 papers were presented [66]. The themes dealt with new methods of lice control, resistance against insecticides, experiences in the control of lice and typhus fever in Yugoslavia, Hungary, South Africa and Bolivia, distribution and ecology of typhus fever in the world, and with questions of reservoirs and late relapses. In June 1976, the "IInd International Symposium on Rickettsiae and Rickettsial Diseases" was held in Smolence (Czechoslovakia) and dealt, among other problems, with ultrastructure of biochemistry, metabolism, biological properties [107] and antigenic structure of rickettsiae [58], advances in research of diagnostic procedures and knowledge of immunity in rickettsial infections [41], along with a series of new contributions on ecology [67], various epidemiologic aspects (main results of observations 1968-1975) [97], and with the significance and control of rickettsioses. The "2nd International Colloquium on Natural Foci of Infectious Diseases in Central Europe" from 25.-28. 2. 1976 in Graz (Austria) also considered rickettsioses and in the meeting of German-speaking societies of tropical medicine from 24.-26. 3. 1977 in Lindau (Federal Republic of Germany) rickettsioses were discussed in a special session.

Some of the observations and facts presented at these meetings are mentioned in this review including the most important progresses and some current problems in the field of rickettsioses, especially the incidence of diseases, properties of the causative agents, reservoirs and transmission, i.e. *ecology and epizootiology of rickettsioses* in its broadest meaning. Ultrastructure, metabolism of rickettsiae and related questions are not included in the present review.

Epidemic (louse-borne) typhus

The classical, epidemic, louse-borne typhus, transmitted to man by lice, is still the rickettsiosis with the greatest significance to public health and it belongs to those diseases that have to be reported and are continuously checked by the WHO. Fortunately, the times of great typhus fever epidemics with their man-

thousands of victims are over. The decisive change came after the World War II through the introduction of antibiotics in therapy and application of effective insecticides, especially of DDT, against lice as vectors of epidemic typhus [111]. The disease has almost completely disappeared from those areas in Europe, Asia, South and North Africa, where it used to be widely distributed. At present, the most important remaining foci are found in Africa, mainly in Rwanda and Burundi [110]. Of the 10,548 officially reported cases in 1975 (148 deaths), 10,308 were in Africa and of these 9,000 in Burundi alone [113].

Ethiopia must be considered as another focus in Africa. It is true that no cases of typhus fever have been reported since 1971 - probably due to organizational difficulties - but until then 2,000-3,000 cases had been reported each year. It is unlikely that this situation has changed remarkably since that time.

During 1975, according to WHO [115] a total of 8,065 cases (106 deaths) occurred worldwide. 94.6% of these again came from Africa. In Burundi, the number of cases decreased to 7,022. In Uganda, however (at the border to Rwanda), 185 cases (6 deaths) have been registered for the first time.

Apart from Africa, there exist only some insignificant foci of epidemic typhus in Middle and South America (Mexico, Bolivia, Ecuador, Peru, Guatemala). In Peru, two small epidemics were reported in 1976, one in the spring-time with 33 cases and the other near the end of the same year with 22 cases (8 deaths) [114]. In Bolivia, 150 cases and in Ecuador 16 cases were registered [115]. In Peru, 129 cases have already been reported during 1977 [116].

Although the real number of cases in the world may be greater than the number of reported cases, this fact is, in comparison with other diseases, of no practical importance. On the other hand, the question is justified, why this disease is still present and why despite favourable conditions, the elimination of the remaining foci of typhus fever cannot be achieved. The population at risk lives under very primitive conditions in widely scattered and barely accessible mountain villages. As a result, control would be very difficult and expensive. Besides, there is, especially in Africa, an increasing resistance of lice to insecticides. Insecticide resistant populations of lice have been known for a long time in several regions of the world, but this was not a serious obstacle to their control. The resistant populations were small and, moreover, it was a resistance in the first place to DDT. There were and are enough other effective insecticides at hand, although they have some disadvantages in comparison with DDT. It seems that particular difficulties appeared in Rwanda and Burundi in connection with the resistance of lice against several otherwise effective insecticides. From Ethiopia, a resistance of lice against malathion was reported [90].

The possibility to eradicate epidemic typhus is very promising because it is an anthroponosis involving no animal reservoirs in the normal life cycle of the agent. By contrast, all other rickettsioses (with exception of trench fever) are zoonoses, in which the man is merely an accidental host and does not represent an indispensable member in the biological cycle of the agent. The consensus

that only man represents the warm-blooded reservoir of the agent of typhus fever, *Rickettsia prowazekii*, was shaken by the detection of the same agent in goats, sheep and some ixodid ticks infesting these domestic animals and zebras [71]. This discovery, made in Ethiopia, gave rise to the hypothesis that domestic animals and ticks may play a role as reservoirs of *R. prowazekii* and the disease caused by them. This stimulated a great deal of research.

The idea that domestic animals may be involved as reservoirs in the life cycle of the agent of epidemic typhus was at first supported by the identification of antibodies against *R. prowazekii* in these animals in regions where typhus fever still existed, for instance in Egypt, Mexico and Ecuador [62]. However, extensive serological investigations of domestic and wild animals, mainly in North Africa, along with attempts to infect experimentally domestic animals and ticks with *R. prowazekii*, could not confirm this suspicion [18, 24, 51a, 57]. It was not possible to detect any clinical symptoms or to isolate the rickettsiae from the blood of ewe-lambs after being inoculated with *R. prowazekii* and with the closely related species *R. canada* (see below) [85]. It seems that agglutinins against *R. prowazekii*, which can sometimes be found in the blood of domestic animals, are probably induced by other organisms [84]. In Serbia, complement fixing antibodies were found in the blood of cows and sheep not only in hyper-endemic areas of typhus fever but also nearly in the same abundance (in sheep more than 30%) in places, where typhus fever has not existed for more than 20 years [61]. Occurrence and identification of such antibodies cannot be considered as a reliable evidence of an infection in the past.

Therefore, there is no doubt that domestic animals may play only a temporary and locally limited role in the epidemiology of epidemic typhus, without any influence on the possibility of eradication of the disease. Domestic animals and ticks were not involved in the great epidemics of the past, chiefly those in Europe and Asia.

Nevertheless, the observations made in Ethiopia remain important and interesting. The same is true for the recent detection of rickettsiae in the eastern flying squirrel (*Glaucomys volans volans*) in Florida and Virginia [7, 8]. Here, 13 strains of rickettsiae — 3 of them from fleas and lice parasitizing on the squirrels — were isolated and tested in detail. Considering all known facts, these rickettsiae cannot be distinguished from *R. prowazekii* or are identical with this species. Although this finding may be sensational for all rickettsiologists, it will not allow the conclusion that flying squirrels represent a reservoir for *R. prowazekii*. But we may remember that it was also a great surprise, when the rabbit tick *Haemaphysalis leporis palustris*, in Canada was found to contain a rickettsia which showed close relationship to *R. prowazekii* and *R. mooseri* in their antigenic structure and which, therefore, was systematically included in the typhus group of rickettsiae.

This species named *R. canada* has been the subject of a great number of investigations. At first, its behaviour was studied in ticks and in several warm-

blooded animals [13]. Later on, an intranuclear propagation and a transovarial transmission (like in members of the spotted fever group) could be demonstrated in *Dermacentor andersoni*. The rickettsia also multiplied in body lice, though its behaviour was clearly different from that of *R. prowazekii* and *R. mooseri* [112]. Transmission experiments showed a good adaptation to soft and hard ticks [38]. The rickettsia could be demonstrated in *Ornithodoros papillipes* and *O. moubata* up to 735 and 588 days after inoculation. The ticks were also infected after feeding on guinea pigs. In *O. papillipes* and *Hyalomma dromedarii*, a transovarial transmission was... but not a transmission by feeding infected ticks on guinea pigs. However, the results of all these interesting and comprehensive investigations cannot explain the close relationship of the species to *R. prowazekii* and *R. mooseri* and cannot answer the question whether *R. canada* phylogenetically belongs to the Rocky Mountain spotted fever group or to the typhus group. It is not certain, whether *R. canada* is pathogenic to man, although there is serologic evidence according to observations made in the USA [6].

Thus, we can still start from the fact that among warm-blooded organisms humans are the only reservoirs for the typhus agent *R. prowazekii*. Through careful evaluation of many case histories and by experiments it has been proved that some persons keep their rickettsiae without any symptoms after reconvalescence from typhus fever. Sometimes, these persons are affected by a late relapse, well known as Brill-Zinsser disease, after years or even decades. The reasons for the persistence of rickettsiae and for the origin of such a relapse are unknown. Certain criteria show, however, that a diminished resistance through other diseases may provoke relapses. In their case history, some patients had mentioned paratyphoid fever, leptospirosis, influenza and shigellosis [52]. In any case, there is no doubt that lice can infect themselves on patients with Brill-Zinsser disease, in spite of its relatively mild clinical course. This phenomenon has been known for a long time, and has been re-confirmed by new experiments [28]. In a lice-infested population, cases of Brill-Zinsser disease can become the source of new cases of epidemic typhus [28, 53], thus confirming that epidemic typhus in this way can survive interepidemic phases. Incidentally, late relapses are known in trench fever, whose agent, *Rochalimea quintana*, is also transmitted by lice. The longest observed interval lasted about 32 years [54].

Interesting data were collected in Yugoslavia and Czechoslovakia about cases of Brill-Zinsser disease registered during the last years, and about some questions connected with this phenomenon. In Yugoslavia, 651 first attacks of epidemic typhus occurred between 1961 and 1971 [28]. Since 1964, Brill-Zinsser disease were officially registered there. 803 cases were observed between 1964 and 1975, 623 of them in Bosnia alone. In Serbia at the same time 107 cases were investigated [60]. In more than 26% of the cases there was an interval of 30-39 years between the first attack and the relapse. In the southern part of East Slavakia, 37 cases were registered between 1956 and 1971 [53]. Further observa-

tions were made in Romania [19]. Here most of the relapses appeared 10-20 years after the first attack. 54% of the persons who had had epidemic typhus showed antibodies in their serum, some of them for up to 50 years after the affection. Similar findings were made in a group of the population of western Bosnia that suffered from a severe epidemic of typhus fever during World War II [5]. This population was resettled after the war in a region without lice and typhus fever, thus giving us an opportunity to study Brill-Zinsser disease.

In the program to eradicate typhus fever in Serbia, which has been going on for many years, the detection of cases of Brill-Zinsser disease plays an important role [4]. A correct diagnosis is absolutely essential. An improvement in diagnostic methods is also of interest [63]. When comparing different serological procedures, the indirect micro-immunofluorescence test is considered to be the most sensitive one [64]. This method can be used in the differentiation between first attack and relapse [59].

Cases of late relapses which can occur in all regions where persons are living with a history of typhus fever, are at present quite problematic, particularly because lice can get infected on such cases, this depending on the density of infestation with lice [28]. The control of lice should not be neglected. In this context, we have to remember that the number of persons infested with lice has been steadily increasing for more than 10 years, especially in "highly developed" countries [32, 93, 94, 110] (the cited publications are only hints as regards the situation). Although these "lice of affluence" chiefly involve head lice, we have to bear in mind that head lice are also able to become infected with, and transmit *R. prowazekii* (*Borrelia recurrentis*, the agent of relapsing fever, as well), a fact, that was recently re-confirmed experimentally [56]. Likewise, rickettsiae can develop in crab lice [108].

Murine (flea-borne) typhus

Murine typhus, which is closely related to classical typhus and transmitted by rat fleas, mainly by *Xenopsylla cheopis*, presents no actual problems. The causative agent, *R. mooseri*, and its behaviour in the plague flea, were investigated by means of electron microscopy. This led to quite impressive pictures [39]. The successful control of rats and rat fleas has considerably reduced the number of human cases, especially in the USA, but this rickettsiosis has also not yet been extinguished. During the last years, cases were reported from Vietnam, Thailand, Mexico, Guatemala, Costa Rica and also from the Mediterranean area [for references see 110]. Recent data about murine typhus came from Malaysia and Israel. In a village in Malaysia, 45% of the inhabitants and 35% of the examined rats showed antibodies to *R. mooseri* [12]. There, human cases of murine typhus have also been observed. Between 1969 and 1972, more than 100 patients treated in hospitals, some with severe symptoms, have been reported in

Israel [79]. The number of cases decreased distinctly since 1948/49, but increased again since 1972. Murine typhus is primarily a rodent disease, mainly of rats. Attempts to eradicate this disease are therefore limited.

Tick-borne typhus fevers of the Old World

The tick-borne rickettsioses, tick-borne typhus fevers in a comprehensive sense, occur chiefly in warm countries. They are found on all continents, but mainly as sporadic cases. In the Old World, they have a relatively mild clinical pattern. The Asian tick typhus has gained public health significance because of the great number of cases and their wide geographical distribution. It is found from Central Asia to Siberia, on the islands in the Japanese Sea and on the west coast of the Pacific Ocean. Foci of the disease also exist in Northern Asia (Tula region) [119].

Wild animals, chiefly rodents and, furthermore, ixodid ticks are the natural reservoirs for tick-borne typhus fevers, because rickettsiae in ticks are passed not only transstadially but also transovarially to the following generations. This transovarial transmission was verified with *R. rickettsii*, the agent of Rocky Mountain spotted fever, in the laboratory and followed up to the 11th generation [17]. Even after such a long time, 100% of the offspring of ticks may still be infected. Thus, ticks and their relationship to rickettsiae have gained an increasing interest for quite some time [29, 20, 33, 48, 51].

Depending on the geographical distribution, we can differentiate between five boutonneuse, African, Indian, Asian, Siberian and North Queensland tick-borne typhus fevers and at last three more or less related species of agents: *R. conorii*, *R. sibirica* and *R. australis*. During the last years, investigations primarily concerned the search for rickettsial strains in ticks and wild animals, and serological surveys. It was found that these rickettsioses, at least in the form of zoonoses, are remarkably wider distributed than had been previously suspected. Strains of rickettsiae, identical with or closely related to the known species *R. conorii* and *R. sibirica*, were isolated from ticks in West Pakistan, Thailand [74, 75], Israel [31] and Armenia, (USSR) [98, 99]. Three species of ixodid ticks were collected in 7 districts of Armenia. In 105 of them rickettsiae belonging to the spotted fever group were found. Thirty-seven strains of this group were isolated from *Dermacentor marginatus* and 2 strains from *D. reticulatus*. Furthermore, antibodies against antigens of this group were detected in man, cows, sheep and mice. The isolated strains were tested in detail [1]. Thirteen infections of man, some of them rather severe, were observed on the coast of Israel [34]. Additional 11 cases from another region were studied between 1969 and 1972 [79]. The agent involved was probably *R. conorii* though the clinical pattern resembled Rocky Mountain spotted fever.

Some years ago, strains of rickettsiae belonging to the spotted fever group were also detected in ticks in Czechoslovakia [68, 69]. It was possible to isolate

24 strains from *D. marginatus*. They were later studied more intensively [118]. Antibodies to the agents of this group were seen in 66 animal sera, including 10 from 114 cows. A species isolated in Central Slovakia was carefully investigated and appears to be a new one. The name *R. slovakia* is proposed for this species as a new member of spotted fever rickettsiae [104]. Spotted fever group rickettsiae were detected in *Ixodes ricinus* in South Bohemia [70a]. Antibodies to rickettsiae of the Rocky Mountain spotted fever group were found in wild animals in Italy, Yugoslavia and Austria [92]. Rickettsiae of the same group could be isolated from *D. marginatus* in Southern Germany [70] and in Tyrol [2]. The rickettsiae isolated in Tyrol and Southern Germany are very similar to or identical with *R. slovakia*. A new spotted fever group rickettsia was isolated from the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus*, in USA, investigated in detail and named *R. rhipicephali* [17a, 18a]. In Oregon (USA) a rickettsial strain related to the spotted fever group was found in *Ixodes pacificus* [37]. After many years of investigations in Queensland, *R. australis*, the causative agent of Queensland tick-borne typhus, was detected in *Ixodes holocyclus* and *I. tasmani* [21].

It is noteworthy that the tick-borne typhus fever of Africa and of the Mediterranean region, fièvre boutonneuse, with *R. conorii* as its agent, has gained some importance with regard to tourism, because many attractive places exist in these areas. The tendency to stay in the open air longer, for instance when camping, visiting safari parks and the like has enhanced the danger of contact with infected ticks. Tick-borne typhus fever has already been brought into the Netherlands, Germany and Switzerland by returning tourists [110].

Fièvre boutonneuse can be differentiated into a field- and a domestic-form [2]. The difference between the two forms is based only on the species of ticks acting as a vector. Quite a number of not recognized or incorrectly diagnosed cases such as those reported from Italy [22], should be added to the few human cases that have become known.

Rocky Mountain spotted fever

The current situation of Rocky Mountain spotted fever in the USA is of special interest. From the clinical point of view, this is the most severe rickettsiosis. Formerly, a fatality rate of about 90% was recorded in some places. Until 1949, an annual average of 500 cases was counted. This number decreased to less than 200 within the next 10 years. Despite an improved diagnostic technique, an effective therapy and sufficient knowledge of the ecology of the disease, especially of the reservoirs and the distribution of the vectors, the disease incidence then surprisingly and significantly increased from year to year [14-16, 35, 36, 87]. Between 1970 and 1975, a total of 3601 cases were registered with a yearly incidence of 380, 432, 523, 668, 754 and 844 cases, respectively. In 1977 the number of cases climbed to 892, the highest number of cases ever recorded [15].

Of 2,757 cases reported between 1970 and 1974 it was possible to analyze 1,522 (55%) cases clinically and epidemiologically [36]. Accordingly, 58% of the patients mentioned that they had been bitten by ticks. The patients were exposed to 456 dogs. 43% of these dogs were infested by ticks and only 19% were believed to be free of ticks. The average mortality reached 6.8%, in black people 13.9%, in white people 5.8%, in males 8.2%, in females 4.5%, in patients over 30 years 13.9% and in patients of less than 30 years of age 5.4%. Normally, only those cases ended in death which were not recognized or were diagnosed too late [55]. Recovery is possible, if treatment (with antibiotics) starts not later than on the 6th day after the onset of the disease. The correct and efficient diagnosis is a life-saving problem. Therefore, the typical symptoms, clinical features, and the diagnostic and therapeutical possibilities should be emphasized continuously. One out of 4 patients will die, if diagnosis or treatment are wrong. For a quick diagnosis and prompt confirmation, an identification by immunofluorescence of the rickettsial agent in skin biopsies has been recommended [117].

Although the disease occurs throughout the USA, more than 90% of the yearly reported cases are from areas east of the Mississippi river. Most of the patients came from the five states of the Atlantic coast: Maryland, Virginia, North and South Carolina and Georgia. The disease does not occur in Vermont, Maine, Hawaii and Alaska. More than 2/3 of the patients were children under 15 years of age.

There are evident reasons for this unexpected development which is caused by more frequent and more intensive contact of the population with infected ticks through an increase in working in forestry and the use of forest for hunting, tourism, including spending the night in the open, residential shifting from cities to suburbs, increased keeping of dogs and finally the changing of farmland into forest, thus giving origin to new biotops of ticks [15, 16]. Ticks are active from early spring through fall. Prerequisite for this development is the fact that Rocky Mountain spotted fever is also a zoonosis, for which numerous and yet completely known warm-blooded reservoirs exist [15]. Moreover, because of transovarial infection ticks have an important function in maintaining *R. rickettsii* [17]. Therefore, measures of control and prevention must first of all be based on an educational program for the public, beginning in the schools with information about the disease and the importance of ticks as vectors [16]. The role of dogs in the epidemiology of the disease is not yet fully understood. Probably they are, like man, only accidental hosts of rickettsiae. They may obtain their greatest significance as blood-donors and carriers of infected ticks. Even cats may play a certain role [15]. Dogs and cats can bring ticks into homes and human surroundings.

In Mississippi, 46% of 116 dog sera represented complement fixing antibodies against spotted fever antigens. *R. rickettsii* was found only in one of 129 *D. imacinator variabilis*, but quite unexpectedly 165 (19.9%) of 884 *Rhipicephalus sanguineus*, taken from these dogs, harboured an agent related to but distinct

from *R. rickettsii* [18a, 88]. It is interesting that dogs can easily be infected experimentally with Rocky Mountain spotted fever and that the pathogenesis in dogs is similar to that in man [42]. The rickettsemia lasted 10–14 days. Some infections ended fatally. With respect to prophylaxis of man it is of importance that a transmission of rickettsiae by tick saliva normally does not occur earlier than 4–6 [55] or even 10 h after tick attachment [15].

Mite-borne typhus

The mite-borne typhus (chigger-borne rickettsiosis, Tsutsugamushi fever, scrub typhus), distributed in East Asia and in the Pacific region, poses no special actual problems. The ecology of the disease in South East Asia was the object of intensive research work [101]. After the World War II, new and large territories of distribution of the disease were discovered in the Soviet Far East, on the Pacific coast and on the adjacent islands. In some regions, the distribution coincides with that of Asian tick-borne typhus fever. The study of the ecology of mite-borne typhus, especially of the natural reservoirs and the great number of mites of the family *Trombiculidae*, which can act as vectors, represents a great part of the special scientific literature in the USSR during the last years [45, 95, 96].

Numerous strains of the agent *R. tsutsugamushi* from different geographical regions have been isolated and examined. Most of them cause a mild course of illness in man. In recent years, attacks of scrub typhus or isolations of the agent (mainly from rodents and mites from different habitats) were reported, for instance from Vietnam [47], Thailand [103], West Pakistan [89], Taiwan [27], the Pescadores Islands [26], Kurilian Islands [95], the eastern coast of Kamchatka [120] and Sachalin [91]. In the Pescadores Islands, military personnel from Taiwan had the highest incidence of infection with *R. tsutsugamushi* in 1976 [56a]. In some places in Malaysia, the disease has a mild character and often is unnoticed. In an oil plantation in Malaysia, for instance, 400 workers became ill annually with a disease identified as scrub typhus by serological survey [11].

The physiologic properties of certain strains of *R. tsutsugamushi*, especially their virulence, are still under investigation [25, 43, 77]. Chickens have proved useful for collecting vector mites, since the agent of scrub typhus can survive sometime in chickens [44]. The ingestion of rickettsiae by feeding mites, their development in the life stages of mites and the transovarial passage to the next generation has been the aim of several experimental investigations [102, 106]. Transovarial transmission was demonstrated in different species of *Leptotrombidium*. In Malaysia, *L. fletcheri* and *L. arenicola* play a role as vectors. In laboratory colonies of both species transovarial transmission of the rickettsiae could be shown [72, 73]. In connection with investigations on scrub typhus the technique of microimmunofluorescence has also proved to be very useful [76].

Q-fever

Q-fever will be mentioned only briefly here. In this disease, the zoonosis character is much more pronounced than in the other rickettsioses. Its distribution is world-wide [100] and it is primarily a disease of domestic animals, mainly of cows, sheep and goats. Therefore, Q-fever is chiefly distributed in areas with dairy and cattle-breeding industry. In some countries, Q-fever is at present the most frequent and most important rickettsiosis with respect to domestic animals. This is the case, for instance, in the USSR, Czechoslovakia and South Africa [46, 86]. Accordingly, more attention has been directed to the role of ticks in the biological cycle of the agent and as vectors of the causative agent to domestic animals, particularly in Germany and Switzerland [10]. In South Germany, *Coxiella burnetii* was found in the hard tick *Dermacentor marginatus* [48–51]. Evidently, natural foci of Q-fever exist in these places where the ticks in great numbers are parasitizing sheep. A review of the Q-fever situation in Germany from 1947 till 1973 (number of human cases and the most important epidemics) has been compiled [50]. New reports of cases of Q-fever come, for instance, from East Slovakia [65], Italy [78], Iran [80], Kenya [105] and South Africa [86].

Coxiella burnetii or antibodies to it are repeatedly found, for instance in Tyrol (Austria), Switzerland, Yugoslavia and Italy [40, 92]. The host range of this agent seems to be inexhaustible. Under such conditions and considering the unusual resistance of the agent, which is capable of surviving under humid and dry conditions and of remaining infectious for months, it is still puzzling why the disease does not appear more frequently in man.

The ultimate goal of longtime studies is to develop an effective and well-tolerable vaccine for protecting especially endangered persons, such as shepherds, veterinarians and workers in dairies and slaughter-houses or for the vaccination of cattle. These investigations are still in progress. Some successful results have already been reported [3, 23, 81–83].

Conclusions

During the last years, a number of new and interesting facts have been discovered in the field of rickettsioses. They underline the fact that even here, new and promising areas of research can be explored. As far as public health is concerned, the present situation is not alarming because of the low incidence of human cases. Epidemic (louse-borne) typhus and Rocky Mountain spotted fever are still the most dangerous rickettsioses for man. Epidemic typhus is restricted to relatively small foci of more local significance. The incidence of Rocky Mountain spotted fever in USA increased significantly during the last years.

Knowledge and better understanding of this disease complex should not be neglected by physicians and the young generation of scientists because the present situation could change unexpectedly.

- 1 Bázliková M., Brezina R.: Some biological properties of rickettsiae isolated in the Armenian SSR [Abstract]. *Folia microbiol. (Praha)* 21, 500 (1977).
- 2 Bázliková M., Kaaserer B., Brezina R., Kováčová E., Kaaserer G.: Isolierungen von Rickettsien der Spotted-Fever-Gruppe (SF-Gruppe) aus *Dermacentor-marginatus*-Zecken aus Tirol. Österreich. Immunität u. Infektion 4, 167 (1977).
- 3 Biberstein E. L., Riemann H. P., Franti C. E., Behymer D. E., Rippanner R., Bushnell R., Crenshaw G.: Vaccination of dairy cattle against Q-fever (*Coxiella burnetii*): results of field trials. *Amer. J. veter. Res.* 38, 189-193 (1977).
- 4 Borjanović S., Lazaravić P., Vuksić Lj., Zdravković A., Pečić J., Bošković R., Parezanović B., Grujić S.: Programm der Tilgung des Fleckfiebers in Serbien. Vortrag auf der Tagung deutschsprachiger Tropenmedizinischer Gesellschaften in Lindau, 24.-26. 3. 1977.
- 5 Bošković R., Pečić J., Vuković B., Borjanović S.: Restantkörper gegen *Rickettsia prowazekii* bei einer Aussiedlergruppe aus ehemaligen endemischen Gebieten (Kurzfassung). *Tropenmed. Parasit.* 28, 282-283 (1977).
- 6 Bozeman F. M., Elisberg B. L., Humphries J. W., Runcik K., Palmer D. B. jr.: Serologic evidence of *Rickettsia canadensis* infection of man. *J. infect. Dis.* 121, 367-371 (1970).
- 7 Bozemann F. M., Mastello St. A., Williams M. S., Elisberg B. L.: Epidemic typhus rickettsiae isolated from flying squirrels. *Nature (Lond.)* 255, 545-547 (1975).
- 8 Bozeman F. M., Williams M. S., Stocks N. I., Chadwick D. P., Elisberg B. L., Sonenshine D. E., Lauer D. M.: Ecologic studies on epidemic typhus infection in the Eastern Flying Squirrel (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 507-508 (1977).
- 9 Brezina R., Murray E. S., Tarizzo M. L., Bögel K.: Rickettsiae and rickettsial diseases. *Bull. Wild Hlth Org.* 49, 433-442 (1973).
- 10 Brossard M., Aeschlimann A.: Preliminary study of *Coxiella burnetii* in Switzerland (isolation of a strain. Transmission by *Ixodes ricinus*). 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 305-315 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 11 Brown G. W., Robinson D. M., Huxsoll D. L.: Scrub typhus: a common cause of illness in indigenous populations. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.* 70, 444-448 (1976).
- 12 Brown G. W., Dohany A. L., Shirai A., Gan E., Huxsoll D. L.: Murine typhus in a Malaysian village. *Southeast Asian J. trop. Med. Publ. Hlth* 8, 99-103 (1977).
- 13 Burgdorfer W.: Observations on *Rickettsia canadensis*, a recently described member of the typhus group rickettsiae. *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol. (Praha)* 12, 26-31 (1968).
- 14 Burgdorfer W.: A review of Rocky Mountain spotted fever (tick-borne typhus), its agent, and its tick vectors in the United States. *J. med. Ent.* 12, 269-278 (1975).
- 15 Burgdorfer W.: Tick-borne diseases in the United States: Rocky Mountain spotted fever and Colorado tick fever. A review. *Acta trop. (Basel)* 34, 103-126 (1977).
- 16 Burgdorfer W., Adkins Th. R. jr., Priestler L. E.: Rocky Mountain spotted fever (tick-borne typhus) in South Carolina: an educational program and tick/rickettsial survey in 1973 and 1974. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 24, 866-872 (1975).
- 17 Burgdorfer W., Brinton L. P.: Mechanisms of transovarial infection of spotted fever rickettsiae in ticks. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 226, 61-72 (1975).
- 17a Burgdorfer W., Brinton L. P., Krinsky W. L., Philip R. N.: *Rickettsia rhipicephali*, a new spotted fever group rickettsia from the brown dog tick, *Rhipicephalus sanguineus* (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 503-504 (1977).
- 18 Burgdorfer W., Ormsbee R. A., Hoogstraal H.: Ticks as vectors of *Rickettsia prowazekii* - a controversial issue. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 21, 989-998 (1972).
- 18a Burgdorfer W., Sexton D. J., Gerloff R. K., Anacker R. L., Philip R. N., Thomas L. A.: *Rhipicephalus sanguineus*: Vector of a new spotted fever group rickettsia in the United States. *Infect. Immun.* 12, 205-210 (1975).
- 19 Buzdugan I.: Some aspects concerning the Brill-Zinsser (B.Z.) disease appearance (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 507 (1977).
- 20 Camicas J.-L.: Conceptions actuelles sur l'épidémiologie de la fièvre boutonneuse dans la région éthiopienne et la sous-région européenne méditerranéenne. *Cah. O.R.S.T.O.M.*, Ent. sér. méd. et Parasitol. 13, 229-232 (1975).
- 21 Campbell R. W., Domrow R.: Rickettsioses in Australia: Ecology of *Rickettsia tsutsugamushi* and *Rickettsia australis* (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 508 (1977).
- 22 Cannata G., Salvo A., Caruso R., Restivo O.: Su un caso di febbre eruttiva del Mediterraneo. *G. Mal. infett. parasit.* 28, 592-593 (1976).
- 23 Craca E., Dumitrescu-Constantinescu S., Botez D., Ioanid L.: Q-fever soluble vaccine effects in *Coxiella burnetii* sensitized humans (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 509 (1977).
- 24 Dolgov N. F., Dutova G. M.: Search of *Rickettsia prowazekii* extrahuman reservoir. *Proc. XIII. Int. Congr. Entomol.* 3, 149-150 (1972) (Publishing House "Nauka", Leningrad Branch, Leningrad 1972).
- 25 Elisberg B. L., Needy C. F., Bozeman F. M.: Antigenic interrelationships among prototype strains of *Rickettsia tsutsugamushi* (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 502-503 (1977).
- 26 Fang R. C. Y., Lin W. P., Chao P. S., Kuo N. T., Chen C. M.: Clinical observations of scrub typhus on Penghu (The Pescadore Islands). *Trop. geogr. Med.* 27, 143-150 (1975).
- 27 Gale J. L., Irving G. S., Wang H. C., Lien J. C., Chen W. F., Cross J. H.: Scrub typhus in eastern Taiwan, 1970. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 23, 679-684 (1974).
- 28 Gaon J. A.: The role of Brill-Zinsser's disease as a source of new cases of typhus fever (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 507 (1977).
- 29 Georgieva G., Serbezov V., Alexandrov E.: Investigation of some ixodic ticks for infestation with rickettsiae by means of immunofluorescent hemocytic test. 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa". Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 317-322 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 30 Gilot B.: Recherches des rickettsies hébergées par les tiques (Acariens; *Ixodoidea*) du sud-est de la France. Premier bilan. Contexte écologique de rencontre avec l'homme. *Bull. Soc. Path. exot.* 68, 529-538 (1975).
- 31 Goldwasser R. A., Steinman Y., Klingberg W., Swartz T. A., Klingberg M. A.: The isolation of strains of rickettsiae of the spotted fever group by immunofluorescence methods. *Scand. J. infect. Dis.* 6, 53-62 (1974).
- 32 Gratz N. G.: The current status of louse infections throughout the world. The control of lice and louseborne diseases. *PAHO Sci. Publ.* No. 263, Washington D.C., 1973, p. 23-31.
- 33 Grokhovskaya I. M.: Types of the relationships of bloodsucking ticks with pathogenic rickettsiae (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 509 (1977).
- 34 Gutman A., Schreiber H., Taragan R.: An outbreak of tick typhus in the coastal plain of Israel. 13 cases from the Sharon area. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.* 67, 112-121 (1973).
- 35 Hattwick M. A. W.: Epidemiologic features of Rocky Mountain spotted fever in the United States (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 506 (1977).
- 36 Hattwick M. A. W., O'Brien R. J., Hanson B. F.: Rocky Mountain spotted fever: epidemiology of an increasing problem. *Ann. intern. Med.* 84, 732-739 (1976).
- 37 Hughes L. E., Clifford C. M., Gresbrink R., Thomas L. A., Keirans J. E.: Isolation of a spotted fever group rickettsia from the Pacific Coast tick, *Ixodes pacificus*, in Oregon. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 25, 513-516 (1976).
- 38 Ignatovich V. F., Grokhovskaya I. M.: Relationships between *Ixodoidea* ticks and *Rickettsia canadensis*. *Med. Parasitol. (Mosk.)* 45, 313-317 (1976).
- 39 Ito S., Vinson J. W., McGuire T. J. jr.: Murine typhus rickettsiae in the oriental rat flea. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 266, 35-60 (1975).

- 40 Kaaserer B., Kaaserer G., Sixl W., Stünzner D.: Q-Fieber-Untersuchungen in Tirol. 2. Int. Arbeitsskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25. 28. 2. 1976, p. 331-334 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 41 Kazar J.: Immunity in rickettsial infections (Abstract). Folia microbiol. (Praha) 21, 504 (1977).
- 42 Keenan K. P., Buhles W. C. jr., Huxsoll D. L., Williams R. G., Hildebrandt P. K., Campbell J. M., Stephenson E. H.: Pathogenesis of infection with *Rickettsia rickettsii* in the dog: a disease model for Rocky Mountain spotted fever. J. infect. Dis. 135, 911-917 (1977).
- 43 Kitaoka M.: Plurality of scrub typhus in Japan (Abstract). Folia microbiol. (Praha) 21, 50 (1977).
- 44 Kitaoka M., Asanuma K., Otsuji J.: Experiments on chickens placed on ground endemic of classical scrub typhus in Akita Prefecture, Japan. J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol. (Praha) 20, 195-200 (1976).
- 45 Kulagin S. M., Tarasevich I. V., Kudryasova N. I., Plotnikova L. F.: The investigation of scrub typhus in USSR. J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol. (Praha) 12, 257-264 (1968).
- 46 Kurz J., Sixl W., Stünzner D., Zumpt A., Schutte A., van Tonder M.: Serologische Untersuchungen von Haustieren in Südafrika (und die Frage der Importe aus Europa). 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 335-339 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 47 Le Gac P.: Le scrub-typhus au Vietnam. Rev. Path. comp. 6, 283-292 (1969).
- 48 Liebisch A.: Die Rolle einheimischer Zecken (*Ixodidae*) in der Epidemiologie des Q-Fiebers in Deutschland. Dtsch. tierärztl. Wschr. 83, 274-276 (1976).
- 49 Liebisch A.: Die Isolierung von *Coxiella burnetii* aus *Dermacentor marginatus* (*Ixodidae*) in Naturherden des Q-Fiebers in Süddeutschland (Kurzfassung). Tropenmed. Parasit. 28, 28 (1977).
- 50 Liebisch A.: Das Q-Fieber als Naturherdinfektion in Süddeutschland. Bundesgesundheitsblatt 20, 185-191 (1977).
- 51 Liebisch A., Rahmann M. S.: Zum Vorkommen und zur vektoriiellen Bedeutung der Zecke *Dermacentor marginatus* (Sulzer, 1776) und *Dermacentor reticulatus* (Fabricius, 1794) in Deutschland. Tropenmed. Parasit. 27, 393-404 (1976).
- 51a McDade J. E., Wisseman C. L. jr.: Studies of proposed extrahuman reservoirs (ticks, including species of Hyalomma and Boophilus) of epidemic typhus (caused by *Rickettsia prowazeki*) in PAHO Scient. Publ. No. 263, Washington, D.C., 1973, p. 113-117.
- 52 Mittermayer T.: Possible provocative moments of Brill-Zinsser's disease (Abstract). Folia microbiol. (Praha) 21, 507 (1977).
- 53 Mittermayer T.: Morbus Brill-Zinsser in der Ost-Slowakei. Infection 5, 76-81 (1977).
- 54 Mohr W.: Spätrezidive bei Wolhynischem Fieber (Kurzfassung). Tropenmed. Parasit. 28, 28 (1977).
- 55 Murray E. S.: Rocky Mountain spotted fever: a life-saving diagnostic problem. Clin. Med. 9-13 (1976).
- 56 Murray E. S., Torrey S. B.: Virulence of *Rickettsia prowazeki* for head lice. Ann. N.Y. Acad. Sci. 266, 25-34 (1975).
- 56a Olson J. G., Bourgeois A. L.: *Rickettsia tsutsugamushi* infection and scrub typhus among Chinese military personnel in the Pescadores Islands. Amer. J. Epidem. 106, 172-175 (1977).
- 57 Ormsbee R., Burgdorfer W., Peacock M., Hildebrandt P.: Experimental infections of *Rickettsia prowazeki* among domestic livestock and ticks. Amer. J. trop. Med. Hyg. 20, 117-124 (1971).
- 58 Ormsbee R. A., Peacock M. G.: Antigenic structure of rickettsiae of the typhus and spotted fever groups (Abstract). Folia microbiol. (Praha) 21, 502 (1977).
- 59 Ormsbee R., Peacock M., Philip R., Casper E., Plorde J., Gabre-Kidan T., Wright L.: Serological diagnosis of epidemic typhus fever. Amer. J. Epidem. 105, 261-271 (1977).
- 60 Pečić J., Bošković R., Borjanović S., Kecmanović M.: Brill-Zinsser'sche Krankheit in Serbien von 1964 bis 1975 (Kurzfassung). Tropenmed. Parasit. 28, 283 (1977).
- 61 Pečić J., Borjanović S.: Bedeutung des Fundes komplementbindender Antikörper in
- R. *prowazeki* bei Haustieren in endemischen Gebieten des Flecktyphus in Serbien. 2. Int. Arbeitsskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 341-343 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 62 Philip C. B.: A review of growing evidence that domestic animals may be involved in cycles of rickettsial zoonoses. Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. 206, 343-353 (1968).
- 63 Philip R. N., Casper E. A., Ormsbee R. A., Peacock M. G.: Microimmunofluorescence test for the serological study of Rocky Mountain spotted fever and typhus. J. clin. Microbiol. 3, 51-61 (1976).
- 64 Philip R. N., Casper E. A., McCormack J. N., Sexton D. J., Thomas L. A., Anaacker R. L., Burgdorfer W., Vick St.: A comparison of serologic methods for diagnosis of Rocky Mountain spotted fever. Amer. J. Epidem. 105, 56-67 (1977).
- 65 Pospíšil R., Baloghová D., Řeháček J.: Q-Fieber in der Ostslowakei (CSSR). 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 345-349 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 66 Proc. Int. Symp. on the Control of Lice and Louse-borne Diseases, Washington, D.C., 4-6. 12. 1972. Pan Amer. Hlth Org., Reg. Off. of the WHO, Washington, D.C., Scientific Publ. No. 263, 311 p. (1973).
- 67 Řeháček J.: Some aspects of ecology of rickettsiae (Abstract). Folia microbiol. (Praha) 21, 507 (1977).
- 68 Řeháček J., Župančičová M., Áč P., Brežina R., Úrvölgyi J., Kováčová E., Tarasevič I. V., Jablonskaja V. A., Pospíšil R., Baloghová D.: Rickettsioses studies. 2. Natural foci of rickettsioses in east Slovakia. Bull. Wild Hlth Org. 53, 31-38 (1976).
- 69 Řeháček J., Kováčová E., Kováč P.: Rickettsiae belonging to the spotted fever group from ticks in the Tribeč mountains. Folia parasit. 23, 69-73 (1976).
- 70 Řeháček J., Liebisch A., Úrvölgyi J., Kováčová E.: Rickettsiae of the spotted fever isolated in South Germany. Zbl. Bakt. Hyg. I. Abt. Orig. A 239, 275-281 (1977).
- 70a Řeháček J., Vošta J., Tarasevič I. V., Brežina R., Jablonskaja V. A., Plotnikova L. F., Fetisova N. F., Hanák P.: Rickettsioses studies. 3. Natural foci of rickettsioses in south Bohemia. Bull. Wild Hlth Org. 55, 454-461 (1977).
- 71 Reiss-Gutfreund R.: The isolation of *Rickettsia prowazeki* and *mooseri* from unusual sources. Amer. J. trop. Med. Hyg. 15, 943-949 (1966).
- 72 Roberts L. W., Gan E., Rapmund G., Chan C. T., Ramasamy S. M., Walker J. S.: Identification of *Rickettsia tsutsugamushi* in the life stages of *Leptotrombidium fletcheri* with isolation and immunofluorescence techniques. Ann. N.Y. Acad. Sci. 266, 73-79 (1975).
- 73 Roberts L. W., Robinson D. M.: Efficiency of transovarial transmission of *Rickettsia tsutsugamushi* in *Leptotrombidium arenicola* (*Acar: Trombiculidae*). J. med. Ent. 13, 493-496 (1977).
- 74 Robertson R. G., Wisseman Ch. L. jr., Traub R.: Tickborne rickettsiae of the spotted fever group in West Pakistan. I. Isolation of strains from ticks in different habitats. Amer. J. Epidem. 92, 382-394 (1970).
- 75 Robertson R. G., Wisseman Ch. L. jr.: Tick-borne rickettsiae of the spotted fever group in West Pakistan. II. Serological classification of isolates from West Pakistan and Thailand: evidence for two new species. Amer. J. Epidem. 97, 55-64 (1973).
- 76 Robinson D. M., Brown G., Gan E., Huxsoll D. L.: Adaptation of a microimmunofluorescence test to the study of human *Rickettsia tsutsugamushi* antibody. Amer. J. trop. Med. Hyg. 25, 900-905 (1976).
- 77 Robinson D. M., Chan T. C., Huxsoll D. L.: Clinical response of silvered leaf monkeys (*Presbytis cristatus*) to infection with strains of *Rickettsia tsutsugamushi* virulent and avirulent for mice. J. infect. Dis. 134, 193-197 (1976).
- 78 Rosa F. de, Stagni G., Baldelli F.: Q-fever in Central Italy (1965-1974). 2. Int. Arbeitsskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 351-357 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).

- 79 Rosenthal T., Michaeli D.: Murine typhus and spotted fever in Israel in the seventies. *Infection* 5, 82-84 (1977).
- 80 Saadatezadeh H.: Epidemiological studies on Q-fever in Iran (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 506 (1977).
- 81 Sádecký E.: Immunoprophylaxis of cattle against Q-fever under natural conditions. 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25-28. 2. 1976, p. 353-358 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 82 Sádecký E.: Vaccination of cattle and sheep against Q-fever (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 510 (1977).
- 83 Sádecký E., Brezina R., Kazár J., Schramek Š., Úrvölgyi J.: Immunization against Q-fever of naturally infected dairy cows. *Acta virol.* 19, 486-488 (1975).
- 84 Sarycheva N. I.: The possible circulation of *Rickettsia prowazekii* among animals (according to the data of serological studies). *Zh. Mikrobiol. (Mosk.)* 10, 125-129 (1976).
- 85 Sarycheva N. I., Chirov P. A.: Experimental infection of domestic animals with *R. prowazekii* and *R. canadensis*. *Zh. Mikrobiol. (Mosk.)* 9, 101-104 (1976).
- 86 Schutte A. P., Kurz J., Barnard B. J. H., Roux D. J.: Q-fever in cattle and sheep in Southern Africa. A preliminary report. *Onderstepoort J. vet. Res.* 43, 129-132 (1976).
- 87 Sexton D. J., Burgdorfer W.: Clinical and epidemiologic features of Rocky Mountain spotted fever in Mississippi, 1933-1973. *South. med. Ass.* 68, 1529-1535 (1975).
- 88 Sexton D. J., Burgdorfer W., Thomas L., Norment B. R.: Rocky Mountain spotted fever in Mississippi: survey for spotted fever antibodies in dogs and for spotted fever group rickettsiae in dog ticks. *Amer. J. Epidemiol.* 103, 192-197 (1976).
- 89 Shirai A., Wiseman Ch. L., jr.: Serologic classification of scrub typhus isolates from Pakistan. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 24, 145-153 (1975).
- 90 Sholdt L. L., Seibert D. J., Holloway M. L., Cole M. M., Weidhaas D. E.: Resistance of human body lice to malathion in Ethiopia. *Trans. roy. Soc. trop. Med. Hyg.* 70, 532-533 (1976).
- 91 Shubin F. N., Kononova D. G., Somov G. P.: Characteristics of strains *Rickettsia tsutsugamushi* isolated in the Far East USSR (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 500 (1977).
- 92 Sixl W., Stünzner D., Kaaserer G., Withalm H., Sixl-Voigt B., Beller M., Troger H., Köck M.: Serologische Untersuchungen auf Rickettsien bei Kleinsäugetern. 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25.-28. 2. 1976, p. 359-360 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 93 Slonka G. F., McKinley T. W., McCroan J. E., Sinclair S. P., Schultz M. G., Hicks F., Hill N.: Epidemiology of an outbreak of head lice in Georgia. *Amer. J. trop. Med. Hyg.* 25, 739-743 (1976).
- 94 Slonka G. F., Fleissner M. L., Berlin J., Puleo J., Harrod E. K., Schultz M. G.: An epidemic of *Pediculus capitis*. *J. Parasit.* 63, 377-383 (1977).
- 95 Somov G. P., Shubin F. N., Gopachenko I. M., Kononova D. G.: *Tsutsugamushi* fever at the Kurile Islands. *Zh. Mikrobiol. (Mosk.)* 2, 69-73 (1976).
- 96 Somov G. P., Shubin F. N., Gopachenko I. M.: A major result of studying *Tsutsugamushi* fever in the Soviet Far East (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 508 (1977).
- 97 Tarasevich I. V.: Epidemiology of rickettsial diseases (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 505 (1977).
- 98 Tarasevich I. V., Plotnikova L. F., Fetisova N. F., Makarova V. A., Jablonskaja V. A., Řeháček J., Župančičová M., Kováčová E., Úrvölgyi J., Brezina R., Zakarjan A. V., Kocinjan M. E. Rickettsioses studies. 1. Natural foci of rickettsioses in the Armenian Soviet Socialist Republic. *Bull. Wild Hlth Org.* 53, 25-30 (1976).
- 99 Tarasevich I., Yablonskaja V., Makarova V., Fetisova N., Panfilova S., Plotnikova L.: The ecology of spotted fever group of rickettsioses in European part of USSR. 2. Int. Arbeitskolloquium über "Naturherde von Infektionskrankheiten in Zentraleuropa", Graz, 25-28. 2. 1976, p. 297-298 (ed. W. Sixl and H. Troger, Graz).
- 100 Thiel N.: Das Q-Fieber und seine geographische Verbreitung mit besonderer Berücksichtigung der Länder Ost- und Südeuropas. Osteuropastud. d. Hochschule d. Landes Hessen Reihe I. Giessener Abh. z. Agrar- u. Wirtschaftsforsch. d. Europ. Ostens. 65, 165 p. (1974).
- 101 Traub R., Wiseman Ch. L., jr.: The ecology of chigger-borne rickettsiosis (scrub typhus). *J. med. Ent.* 11, 237-303 (1974).
- 102 Traub R., Wiseman Ch. L., jr., Jones M. R., O'Keefe J. J.: The acquisition of *Rickettsia tsutsugamushi* by chiggers (Trombiculid mites) during the feeding process. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 266, 91-114 (1975).
- 103 Trishnananda M., Vasuvat C., Harinasuta C.: Scrub typhus in Thailand (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 506 (1977).
- 104 Úrvölgyi J., Brezina R.: *Rickettsia slovaca*: A new member of spotted fever rickettsiae (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 503 (1977).
- 105 Vaneek E., Thimm B.: Q-fever in Kenya. Serological investigations in man and domestic animals. *E. Afr. med. J.* 53, 678-687 (1976).
- 106 Walker J. S., Chan C. T., Manikumar C.: Attempts to infect and demonstrate transovarial transmission of *R. tsutsugamushi* in three species of Leptotrombidium mites. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 266, 80-90 (1975).
- 107 Weiss E.: Biological properties of rickettsiae (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 499 (1977).
- 108 Weyer F.: Die experimentelle Infektion der Filizlaus *Phihirus pubis* L. mit *Rickettsia prowazekii* und *R. quitiana*. *Z. Tropenmed. Parasit.* 3, 302-309 (1952).
- 109 Weyer F.: Die gegenwärtige Bedeutung der Rickettsiosen. *Med. Klin.* 70, 249-254 (1975).
- 110 Weyer F.: Fleckfieber und Tourismus. *Bundesgesundheitsblatt* 19, 313-321 (1976).
- 111 Weyer F.: Krankheitsüberträger und ihre Bekämpfung am Beispiel der Rickettsiosen. *Z. ang. Ent.* 82, 9-16 (1976).
- 112 Weyer F., Reiss-Gutfreund R. J.: Verhalten von *Rickettsia montana* und *R. canadensis* in Kleiderläusen. *Acta trop. (Basel)* 30, 177-192 (1973).
- 113 WHO: Louse-borne typhus in 1975. *Wkly epidem. Rec.* 51, 173-176 (1976).
- 114 WHO: Louse-borne typhus. *Wkly epidem. Rec.* 52, 81-82 (1977).
- 115 WHO: Louse-borne typhus in 1976. *Wkly epidem. Rec.* 52, 221-223 (1977).
- 116 WHO: Louse-borne typhus. *Wkly epidem. Rec.* 52, 266 (1977).
- 117 Woodward T. E., Pedersen C. E., jr., Oster C. N., Bagley L. R., Romberger J., Snyder M. J.: Prompt confirmation of Rocky Mountain spotted fever: identification of rickettsiae in skin tissues. *J. infect. Dis.* 134, 297-301 (1976).
- 118 Yablonskaya V. A.: Identification of rickettsiae isolated from small mammals in the endemic areas in Slovakia (Abstract). *Folia microbiol. (Praha)* 21, 503 (1977).
- 119 Yablonskaya V. A., Zhmaeva Z. M., Panfilova S., Kotelina A. F.: Concerning the existence of the natural focus of tick-borne rickettsiosis in Northern Asia in the Tula region. *Zh. Mikrobiol. (Mosk.)* 11, 142-143 (1976).
- 120 Zak M. R.: Sporadic cases of *Tsutsugamushi* fever on Kamchatka. *Zh. Mikrobiol. (Mosk.)* 2, 24-27 (1976).

Aus dem Hygiene-Institut der Universität Zürich und dem Bernhard-Vorcht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg

Künstliche Infektion von Läusen mit *Borrelia duttoni*

Von H. Mooser und F. Weyer

Found Spirochaetes
v. grad. in head louse

Problemstellung

Bei der Einteilung der menschlichen Rückfallfieber-Spirochaeten hat man bisher an der grundsätzlichen Unterscheidung zwischen der durch Läuse (*Pediculus*) übertragenen *Borrelia Spirochaeta recurrentis* (= *obumbrata*), dem Erreger des europäischen Rückfallfiebers, und den zahlreichen durch Zecken der Gattung *Ornithodoros* übertragenen Spirochaeten festgehalten, welche die Erreger der auf tropisches und subtropisches Gebiet beschränkten Rückfallfieber sind. Die Differenzierung der letzteren basiert auf ihrer Pathogenität für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen, vor allem aber auf ihren Beziehungen zu ganz bestimmten Zeckenwirten, von denen sie teilweise den Namen erhalten haben. Wieweit die in diesem Zusammenhang in der letzten Zeit aufgestellten zahlreichen neuen Spirochaetenarten zu Recht bestehen oder mit bereits bekannten Arten identisch sind, ist noch nicht geklärt. Eine Sonderstellung nimmt der Erreger des afrikanischen Rückfallfiebers, *B. duttoni*, ein, dessen wichtigster Überträger *Ornithodoros moubata* ist, der sich aber offenbar auch in einigen anderen *Ornithodoros*-arten entwickeln oder wenigstens eine Zeitlang lebend halten kann.

Die Beziehungen der Läuse zu den Zeckenspirochaeten sind wiederholt Gegenstand von Diskussionen und Untersuchungen gewesen, weil ein phylogenetischer Zusammenhang zwischen beiden Gruppen sehr naheliegend ist. Nicolle und Anderson (1927 a) sahen die Läusepirochaeten als den Endpunkt einer in Etappen verlaufenen Entwicklung an, die von Spirochaeten kleiner Säger ihren Ausgang genommen hat und bei welcher der Mensch erst spät als wichtiger Mitspieler auf der Szene erschien, während er bei den Zeckenrückfallfebern bis heute ein zufälliger und entbehrlicher Warmblütler geblieben ist. Nach den französischen Autoren gibt es nur ein Läuserückfallfieber, „la fièvre recurrente mondiale“, dessen Erreger die schon genannte *B. recurrentis* ist.

Die Unterscheidung der Spirochaeten auf der Basis ihrer Überträger ist nur dann wirklich berechtigt, wenn es sich um spezifische, obligate Überträger handelt. Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, die Entwicklungsfähigkeit der Spirochaeten in anderen als ihren natürlichen Arthropodenwirten zu prüfen. Brumpt (1949) faßt das Ergebnis dieser Versuche dahin zusammen, daß sich Zeckenspirochaeten nur ausnahmsweise und für kurze Zeit in Läusen lebend halten können, ebenso wie umgekehrt Läusepirochaeten in Zecken. Craig und Faust (1943) lehnen die Infektiosität der Zeckenspirochaeten für Läuse überhaupt ab. Diese Feststellung kann heute jedoch nicht mehr als allgemein gültige Regel aufrechterhalten werden.

Über die Infektion von Zecken mit *B. recurrentis* sind nur wenige Versuche mit negativem oder unklarem Ergebnis bekannt. So versuchten Baltazard, Bahmanyar und Mofidi (1947) vergeblich, *Ornithodoros moubata*, *O. erraticus*, *O. lahorensis*, *O. turicata* und *O. parkeri* an jungen Kaninchen mit *B. recurrentis* zu infizieren. Später soll ihnen dies gelungen sein (Baltazard, Mofidi, Bahmanyar und Seydian 1947). Bei dieser Gelegenheit habe die *B. recurrentis* nach kurzer Passage im Kaninchen die gleichen Eigenschaften wie *B. mitteri* an-

genommen (vgl. S. 42). Sofiev und Leitman (1946) setzten an Patienten mit Läuserückfallfieber *O. papillipes* und *O. tartarowskyi* zum Saugen an. Die Spirochaeten überlebten in beiden Arten und vermehrten sich wahrscheinlich auch. Sie waren durch Überimpfung von zerriebenen Zecken auf Warmblüter noch nach 134 Tagen nachweisbar. Die Zecken konnten die Spirochaeten jedoch nicht durch den Stich, und zwar beim Saugen an Mäusen, Meerschweinchen und Menschen übertragen.

In größerer Zahl sind Versuche der Infektion von Läusen mit Zeckenspirochaeten unternommen worden, um damit die Hypothese von der phylogenetischen Ableitung der *B. recurrentis* aus Zeckenspirochaeten zu unterbauen. Die Versuche wurden methodisch meist so durchgeführt, daß Läuse an spirochaetenhaltigen Blutspendern (Mensch, Affe, Kaninchen, Maus) ein- oder mehrmals zum Saugen angesetzt und bestimmte Zeit danach, direkt, in den meisten Fällen aber durch Übertragung zerriebener Läuse in empfängliche Versuchstiere auf Spirochaeten geprüft wurden. Dabei ergaben sich einerseits auffällige Unterschiede zwischen den Versuchen der einzelnen Autoren mit der gleichen Erregerart, andererseits unterschiedliches Verhalten bei Versuchen mit verschiedenen Spirochaetenarten.

Am ungeeignetsten für eine Entwicklung in der Laus scheint *B. persica* zu sein. Über größtenteils negative Versuche zur natürlichen Infektion von Kleider-, Kopf- und Affenläusen (*Pediculus humanus*) berichtet Adler und Ashbel (1942). Als Versuchstiere dienten Affen. Die von den Läusen beim Saugen aufgenommenen Spirochaeten gingen innerhalb einer Stunde bis spätestens 6 Tagen, in den meisten Versuchen innerhalb von 2 Tagen zugrunde. Nur bei einem von 4 Stämmen waren 10 Tage nach dem Saugen durch Übertragung von zerriebenen Läusen auf splenektomisierte Ratten noch virulente Spirochaeten nachweisbar. Einheitslich negativ waren ausgedehnte Versuche von Baltazard und Mitarb. (1947, 1948, 1950 a) mit der gleichen Erregerart. Ebenso mißlangenen Versuche der Infektion von Läusen mit *B. azbekistanica* (= *sogdiana*), die wahrscheinlich mit *B. persica* identisch ist, welche Leonova (1945) und Sofiev und Leitman unternahm. Die Läuse wurden teils an menschlichen Patienten zum Saugen angesetzt, teils nach der Methode von Weigl mit Zitratblut vom Meerschweinchen rectal inokuliert (Leonova). Die Spirochaeten gingen wenige Stunden nach der Inokulation der Läuse ein. Adler und Ashbel haben als erste Läuse intracoelomal mit *B. persica* inokuliert. Die 4 dabei benutzten Stämme verhielten sich unterschiedlich. Im günstigsten Fall überlebten die Spirochaeten im Coelom 7 Tage. Das war bei einem Stamm der Fall, der auch nach Übertragung durch Saugen bis zu 10 Tagen in der Laus lebensfähig blieb. In keinem Versuch konnten die Autoren eine Vermehrung der Spirochaeten in der Laus beobachten. Hingegen gelang den französischen Autoren (Baltazard und Mitarb. 1947, 1950 a, b) relativ leicht die Infektion von *Pediculus* mit mehreren Spirochaetenarten durch Füttern der Läuse an neugeborenen Kaninchen: *B. parkeri* (positive Übertragungsversuche 9—14 Tage nach dem Saugen), *B. mitteri* (4—19 Tage), *B. merionesi* (2—14 Tage), *B. hermsi* (10 Tage), *B. turicatae* (2—7 Tage) und *B. gullinarrum* (2—9 Tage).

Nicolle und Anderson (1926, 1927 b) hatten bereits früher nachgewiesen, daß *B. hispanica*, die durch *O. erraticus* übertragen wird, mit Läusen, die an kranken Affen Blut gesogen hatten, nach 8—10 Tagen auf gesunde Affen übertragen werden konnte. Diese Beobachtungen wurden später von Boiron, Koerber und Carronnier (1948) bestätigt, die gleichzeitig Läuse und Zecken (*O. erraticus*) an kranken Affen fütterten. Die Zecken infizierten sich und übertrugen die Spirochaeten ohne weiteres durch den Stich auf gesunde Affen. Die Läuse wurden bis zu 5 Tagen hintereinander an kranken Affen, anschließend jeweils am Menschen gefüttert. Vom 4. bis 23. Tage nach der infektiösen Blutmahlzeit wurde täglich eine Anzahl Läuse mikroskopisch untersucht, anschließend zerrieben und in Mäuse, z. T. in Affen gespritzt. Mit 4 Ausnahmen ging die Infektion bei allen Versuchstieren an. Mikroskopisch ließen sich die Spirochaeten in den Läusen erst vom 10. Tage ab feststellen. Ihre Zahl nahm laufend zu und erreichte am 19. und 20. Tag das Maximum. Diese Beobachtungen zeigen, daß sich die Spirochaeten in der Laus vermehren können. Bei den von Baltazard und Mitarb. (1950 a) angestellten Übertragungs-

versuchen mit *B. hispanica* waren nur 4 von 11 Experimenten erfolgreich. Die Übertragung gelang mit Zerreibungen von Läusen 7—19 Tage nach dem Saugen. Die Übertragungspischer Untersuchung der Läuse ein Nachweis der Spirochaeten mißlang.

Balazard und Mitarb. (1950 b) arbeiteten sodann mit einem Stamm von *B. crocidarum* aus Dakar und 9 Stämmen von *B. microti* aus dem Iran. Sie ließen Läuse an Patienten saugen, die für therapeutische Zwecke mit den Spirochaeten infiziert worden waren, um den natürlichen Verhältnissen möglichst weitgehend gerecht zu werden. Zur Kontrolle fütterten sie gleichzeitig den spezifischen Überträger, *O. erraticus*, an denselben menschlichen Blutspendern. Auf Grund der Versuchsergebnisse kamen die Autoren zu dem Schluß, daß sich die Läuse praktisch ebenso leicht und ebenso häufig infizierten wie die Zecken und daß kein neuemwertiger Unterschied zwischen der Infektion von Läusen mit *B. microti* und *B. recurrentis* bestehe. Die Zecken-spirochaeten wurden nach der Läusepassage mit Erfolg wieder auf den Menschen übertragen.

Mit *B. crocidarum*, die ursprünglich aus Spitzmäusen in Dakar isoliert worden war und heute als Variante oder sogar als Synonym von *B. duttoni* angesehen wird (vgl. Boiron 1949), hatten bereits Nicolle und Anderson (1927 b) experimentiert. Sie konnten die Spirochaete allerdings nicht auf die Läuse übertragen, während Mathis (1928) und Boiron (1949) bei entsprechenden Versuchen positive Ergebnisse hatten. Mathis fütterte Läuse 4 Tage hintereinander am Affen. 8—10 Tage später wurden 25 überlebende Tiere in 3 Portionen auf einen Affen gespritzt, dessen Infektion inapparent verlief. Boiron infizierte die Läuse an Affen und neugeborenen Mäusen und konnte die Spirochaeten 6—14 Tage nach dem Saugen experimentell wieder auf Affen und Mäuse übertragen. Ein direkter Nachweis von Spirochaeten in der Laus war erst 11—12 Tage nach dem Saugen möglich. An den mit zerniebenden Läusen infizierten Mäusen infizierten sich wieder Zecken (*O. erraticus*). Die ursprünglichen Eigenschaften des Stammes hatten sich also durch die Läusepassage nicht geändert.

Von besonderem Interesse waren für uns die Versuche der Infektion von Läusen mit *B. duttoni*. Blanchard (1914) hatte schon früher vergeblich versucht, *B. duttoni* im Kongo aus Läusen unter natürlichen Bedingungen zu isolieren. Auch die Experimente, die Nicolle, Blaizot und Conseil (1913) und später Nicolle und Anderson (1927 b) unternahmen, um die Spirochaeten auf Läuse zu übertragen, verliefen negativ. Erfolgreich waren dagegen später Heisch und Garnham (1948), die Kleiderläuse an infizierten Affen saugen ließen und 2—17 Tage danach die Spirochaeten in einem Teil der Läuse entweder direkt oder über eine Inokulation von Mäusen und Affen nachweisen konnten. In einem Fall ging der Stamm viermal hintereinander über die Laus mit Zwischenschaltung des Affen als Warmblüterwirt. Nur in verhältnismäßig wenig Läusen fanden sich allerdings Spirochaeten. Auf die Pathogenität der Spirochaeten für Affen und Mäuse hatte die Läusepassage keinen Einfluß. Heisch (1949) konnte später in Kenya in einem Rückfallfiebergebiet aus Läusen, die von 7 verschiedenen Patienten stammten, in 4 Fällen *B. duttoni* isolieren und schloß daraus auf die Möglichkeit, daß die Kleiderläuse unter bestimmten Bedingungen auch als Überträger des afrikanischen Rückfallfiebers in epidemischer Form fungieren kann.

Es schien uns auf Grund dieser teils ungenauen, teils widersprechenden Ergebnisse von Interesse, die Eignung der Kleiderläuse als möglichen Wirt für *B. duttoni* nochmals experimentell zu prüfen. Die künstliche Inokulation der Laus bot hierfür eine einfache und noch wenig angewandte Methode. Über unsere bisherigen Beobachtungen soll im folgenden berichtet werden.

Material und Methoden

Wir benutzten für unsere Versuche 3 Stämme von *B. duttoni*, die uns Herr Prof. Geigy vom Schweizerischen Tropeninstitut in Basel freundlicherweise zur Verfügung gestellt hatte. Die Stämme wurden aus Zecken (*O. moubata*) isoliert, die in Eingeborenenhütten

mit Rückfallfieberfällen in verschiedenen Gegenden Tanganyikas gesammelt worden waren. Sie unterschieden sich teilweise in bezug auf den Verlauf der experimentellen Infektion in der weißen Maus sowie in ihren immunologischen Eigenschaften. Eine Beschreibung der Stammdaten findet sich bei Geigy (1951) und Geigy und Burgdorfer (1951). Wir arbeiteten mit den Stämmen Itakara, Itete und Mkasu 5. Geigy und Burgdorfer fanden, daß der letztere schwer auf der Maus anging, bei der dritten Passage nicht mehr in peripheren Blut auftrat und sich dann nur bei Verimpfung von Gehirn und Leber nachweisen ließ. Da sich in unseren orientierenden Versuchen diese 3 Stämme in der Laus ziemlich gleichartig verhielten, haben wir uns bei den weiteren Experimenten hauptsächlich auf den Stamm Itete beschränkt.

Wir erhielten die Stämme in Zecken (*O. moubata*), die an infizierten Mäusen gesogen hatten. Die Zecken wurden emulgiert und subkutan auf Mäuse gespritzt. Sobald das Blut der Mäuse genügend Spirochaeten zeigte, entnahmen wir einen Blutstropfen, verdünnten ihn zur Verhinderung der Gerinnung im Verhältnis von etwa 1:5 mit Bouillon und spritzten das Gemisch auf Kleiderläuse. Die Läuse wurden teils rectal, teils intracoelomal inokuliert und anschließend in der üblichen Weise 1 Stunde täglich am Menschen gefüttert. In der Zwischenzeit standen sie im Brutschrank bei 31°. Die erste Fütterung am Menschen fand ungefähr 2 Stunden nach der Inokulation statt. Für die intracoelomale Infektion benutzten wir Weibchen, die von der Vagina aus inokuliert wurden. Wir haben auch Läuse auf natürlichem Wege durch Füttern mit spirochaetenhaltigem Mäuseblut infiziert. Insgesamt haben wir rund 85 Versuchsreihen angesetzt, wobei die einzelnen Serien 25 bis 50, ausnahmsweise bis zu 70 Läuse umfaßten.

Bei den verschiedenen Inokulationsmethoden ergaben sich in Abhängigkeit vom Füllungs-zustand des Magens und der Sauglust der Läuse deutliche Unterschiede in der aufgenommenen Flüssigkeitsmenge und damit natürlich auch in der verabfolgten Spirochaetenzahl. Durch Wägung von je 30 Tieren errechneten wir, daß eine Laus beim normalen Saugakt am Menschen durchschnittlich 1,27 bis 1,51 mg aufnahm, beim Saugen an der Maus 0,51 bis 1,23 mg. Durch rectale Inokulation wurden dagegen nur 0,71 mg, durch intracoelomale Beimischung 0,6 mg des verdünnten Blutes bzw. der verdünnten Hämolymphe übertragen.

Die Läuse wurden an Hand von nach Giemsa gefärbten Ausstrichen der Coelomflüssigkeit (Hämolymphe) fortlaufend auf den Spirochaetengehalt kontrolliert. Die Coelomflüssigkeit kann in größerer Menge nach Entfernen des Kopfes oder in kleinsten Tröpfchen durch Beinamputation entnommen werden. Die letztere Methode hat den Vorteil, daß die Läuse am Leben bleiben und man sich vor der Verarbeitung über ihre Infektiosität informieren kann. Zum Zwecke der Virulenzprüfung wurden Mäuse mit der Coelomflüssigkeit inokuliert. Sobald feststand, daß sich die Spirochaeten in der Laus vermehren können, benühten wir uns, einen Stamm in kontinuierlichen Passagen ausschließlichs auf Läuse zu halten. Den Einfluß der Läusepassage auf die Spirochaeten prüften wir später durch Fütterung von Zecken an Mäusen, die ihrerseits mit der Hämolymphe positiver Läuse inokuliert worden waren.

Ergebnisse der künstlichen Inokulation

Als wichtigstes Ergebnis konstatierten wir zunächst, daß in allen Versuchen sowohl nach rectaler wie intracoelomaler Inokulation eine Vermehrung der Spirochaeten in der Laus stattfand. Der mikroskopische Nachweis der Spirochaeten in der Hämolymphe stieß auf keinerlei Schwierigkeiten, da es sich auf späteren Stadien oft um riesige Spiro-

chaotemengen handelte. Dieses Ergebnis hat uns im Hinblick auf die zahlreichen in der Literatur mitgeteilten negativen mikroskopischen Befunde überrascht. Die Läuse schienen uns deswegen ein durchaus geeigneter Wirt für *B. duttoni* zu sein. Die wichtigsten Versuchsdaten für den Stamm Ifakara sind in Tab. 1 zusammengestellt, die Versuche mit Stamm Mkasu 5 in Tab. 2, mit Stamm Itete in Tab. 3.

Tab. 1. Infektion von Kleiderläusen mit *Borrelia duttoni*, St. Ifakara

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer	Infektionsmethode	Material	Zahl d. inf. Läuse	Zahl davon infiziert	% infiziert davon	Bemerkungen
3062	25.9. bis 13.10.52	r.	Blut v. Maus	35	32	12 (37.5)	Zahl der Spirochaeten nimmt laufend zu.
3069	3.10. bis 17.10.52	r.	Blut v. Maus	30	28	7 (25.0)	
3123	24.10. bis 6.11.52	ic.	Blut v. Maus	35	29	27 (93.1)	Erhöhte Sterblichkeit nach 11 Tagen.
3137	1.11. bis 8.11.52	Blutsaug. a. d. Maus	Blut v. Maus	15	13	6 (46.1)	Läuse nehmen nur wenig Blut an der Maus auf, am besten saugen Larven.
3275	25.2. bis 6.3.53	Blutsaug. a. d. Maus	Blut v. Maus	46	46	22 (47.8)	Läuse saugen z. Teil gut.

Tab. 2. Infektion von Kleiderläusen mit *Borrelia duttoni*, St. Mkasu 5

Versuchs-Nr.	Versuchsdauer	Infektionsmethode	Material	Zahl d. inf. Läuse	Zahl davon infiziert	% infiziert davon	Bemerkungen
3269	23.2. bis 5.3.53	r.	Blut v. Maus	36	32	4 (12.5)	Schwache Infektion der Maus.
3270	23.2. bis 4.3.53	ic.	Blut v. Maus	34	32	24 (75.0)	Zahl der Spirochaeten nimmt laufend zu, Läusepassage r. 3291. Übertrag auf Mäuse am 4.3.53 +.
3291	4.3. bis 13.3.53	r.	Coelomfl. v. S. Läuse a. 3270	27	26	4 (15.4)	Impf Suspension enthält reichlich Spirochaeten.

r. = rectal, ic. = intracoelomal

Deutliche quantitative Unterschiede ergaben sich zwischen den Resultaten der rectalen und intracoelomalen Inokulation. Die Versuchsserien mit Stamm Ifakara liefen bei rectaler Infektion 14 resp. 18 Tage, bei intracoelomaler 13 Tage. Der Prozentsatz der positiven Läuse betrug nach rectaler Inokulation 25—37.5, nach intracoelomaler 93.1. Mit Stamm Mkasu 5 wurden nur 3 Versuche angestellt (Tab. 2). Während bei rectaler Infektion 12.5% der Läuse positiv wurden, erreichte die Zahl der spirochaetenhaltigen Tiere nach intracoelomaler Infektion 75%. Im zeitlichen Ablauf ergaben sich gegenüber den beiden anderen Stämmen keine Unterschiede. Auch bei Verwendung von stark posi-

tiver Hämolymphe für die rectale Inokulation (Versuchsnr. 3291) hatten nicht mehr als 15.4% der Läuse Spirochaeten in der Coelomflüssigkeit. Die Versuchsserien mit Stamm Itete erstreckten sich mit Einschluß der Laus-zu-Laus-Passagen bei rectaler Infektion auf 7—18 Tage, im Durchschnitt auf 9.8 Tage, bei intracoelomaler Infektion auf 7—22, im Durchschnitt auf 17.1 Tage. Berücksichtigt ist hierbei der Stand vom 29. 4. 53 (Tab. 3, Versuchsnr. 3336). Beim Stamm Itete schwankte der Prozentsatz der positiven Läuse nach rectaler Inokulation zwischen 3.6 und 35.3, nach intracoelomaler zwischen 71.4 und 100. Bei intracoelomaler Inokulation fanden sich also stets viel mehr positive Läuse als bei rectaler. Das gilt für alle 3 Stämme.

Der Grund liegt zweifellos darin, daß es auch unter günstigsten Verhältnissen nur einen kleinen Teil der in den Magen gelangten Spirochaeten glückt, das Darmepithel zu passieren und die Hämolymphe, ihren eigentlichen Lebensraum im Zwischenwirt, zu erreichen. Wahrscheinlich sterben die meisten Spirochaeten im Darm, ab oder sie werden mit den Faeces ausgeschieden. Kommen sie aber bei künstlicher Infektion unmittelbar ins Coelom, so sind sie offenbar gesichert, und es steht ihrer Vermehrung nichts im Wege. Vereinzelt negative Resultate der Versuche mit intracoelomaler Inokulation sprechen nicht gegen diese Ansicht. Sie können durch krankhafte oder verletzte, jedenfalls für die Spirochaetenentwicklung ungeeignete Tiere bedingt sein. Einige Läuse mögen untersucht worden sein, bevor die Vermehrung der Spirochaeten begonnen hatte. Wir dürfen jedenfalls aus unseren Beobachtungen unbedenklich folgern, daß sich die Spirochaeten in allen gesunden und lege artis intracoelomal inokulierten Läusen ungestört vermehren und weiterentwickeln.

Beurteilung der rectalen Infektion

Die rectale Infektion kommt u. E. den natürlichen Verhältnissen sehr nahe. Bei strenger Kritik wird man vielleicht die künstliche Inokulation beanstanden mit dem Hinweis, daß die Spirochaeten hierbei unter so hohem Druck in die Laus gebracht werden, daß sie u. U. gleich ins Coelom kommen. Wir sind jedoch mit der Methode der rectalen Inokulation seit vielen Jahren vertraut und benutzen sie u. a. mit bestem Erfolg zur Haltung von Rickettsienstämmen. Für die Rickettsien ist es belanglos, ob sie per os oder via rectum in den Magen und zu ihren Wirtszellen gelangen. Wenn man mit entsprechend zubereiteten Suspensionen arbeitet, können die Läuse allerdings auf rectalem Wege wesentlich mehr Rickettsien resp. Spirochaeten aufnehmen als jemals beim Saugen. Adler und Ashbel z. B. arbeiteten mit konzentrierten, von Blutkörperchen befreiten Spirochaetenaufschwemmungen. Verwendet man als Impfmateriale frisches Blut, wie wir es getan haben, dann scheidet diese Möglichkeit aus. Da wir das Blut wegen der bequemer Verarbeitung vor dem Vermischen mit Bouillon verdünnt haben, erhielten die Läuse bei rectaler Inokulation weniger Blut und damit auch weniger Spirochaeten als beim natürlichen Saugakt (vgl. S. 31).

In Ausnahmefällen kann es wohl vorkommen, daß bei Verwendung von zu alten Läusen oder bei nicht sachgemäßer Inokulationstechnik das Darmlumen während der rectalen Inokulation verletzt und ein Teil des Impfmateriales direkt ins Coelom gedrückt wird. Derartig geschädigte Läuse sind aber an der von Hämoglobin durchdringt herrührenden rötlichen Verfärbung spätestens nach 48 Stunden zu erkennen. Solche Läuse wurden nicht berücksichtigt. Zur weiteren Entkräftung einer möglichen Kritik an der künstlichen Infektion haben wir auch den natürlichen Infektionsweg geprüft.

Tab. 3. Haltung von *Borrelia duttoni*. St. Itete, auf Kleiderläusen

Vers.-Nr.	Passage-dauer	Infraktionsmodus	Material	Zahl d. inf. Läuse	davon positiv	Bemerkungen
3102	4. 10. bis 22. 10. 52.	r.	Blut v. Maus	35	34 (97.1)	Die ersten positiven L. nach 3 Tagen.
3141	3. 11. bis 12. 11. 52.	Blutsaugen an d. Maus		25	19 (76.0)	Läuse saugen nur wenig Blut.
3090	24. 9. bis 10. 10. 52.	ic.	Blut v. Maus	35	31 (88.6)	Übertragung auf Mäuse am 10. 10. Läusepassage r. 3101.
3101	4. 10. bis 15. 10. 52.	r.	Coelomfl. v. 3 L. 3090	28	5 (17.9)	Läusepassage ic. 3110.
3110	15. 10. bis 30. 10. 52.	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3101	35	33 (94.3)	Eiter u. F. — Gen. — Läusepassage r. 3125.
3125	28. 10. bis 11. 11. 52.	r.	Coelomfl. v. 5 L. 3110	30	19 (63.3)	Läusepassage ic. 3150 und Übertragung r. u. ic. auf <i>Haematopinus suis</i> .
3150	11. 11. bis 24. 11. 52.	ic.	Coelomfl. v. 10 L. 3125	30	19 (63.3)	Läusepassage ic. 3160.
3160	24. 11. bis 5. 12. 52.	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3150	25	22 (88.0)	Läusepassage ic. 3166.
3166	5. 12. bis 15. 12. 52.	ic.	Coelomfl. v. 6 L. 3160	30	17 (56.7)	Starke Sterblichkeit. Läusepassage r. 3178. Übertragung auf Mäuse +.
3178	15. 12. bis 23. 12. 52.	r.	Coelomfl. v. 8 L. 3166	30	11 (36.7)	Läusepassage ic. 3190. Übertragung auf Mäuse +.
3190	23. 12. bis 5. 1. 53.	ic.	Coelomfl. v. 16 L. 3178	30	14 (46.7)	14 tote oder kranke L. Die ersten positiven nach 6 Tagen. Läusepassage ic. 3195. Übertragung auf Mäuse +.
3195	5. 1. bis 13. 1. 53.	ic.	Coelomfl. v. 11 L. 3190	40	9 (22.5)	29 tote oder kranke L. Läusepassage ic. 3207. Übertragung auf Maus am 20. 10. 52. Geimpft m. St. Itete — auf Maus. am 24. 11. 52. Geimpft m. St. Itakara +.
3207	13. 1. bis 23. 1. 53.	ic.	Coelomfl. v. 11 L. 3195	30	10 (33.3)	30 tote oder kranke L. Läusepassage ic. 3121. r. 3120.
3220	23. 1. bis 3. 2. 53.	r.	Coelomfl. v. 7 L. 3207	30	3 (10.0)	Am 3. 2. 53 12 L. f. Totalzerreg. auf 2 Mäuse —.
3221	23. 1. bis 31. 1. 53.	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3207	20	7 (35.0)	11 tote oder kranke L. Läusepassage ic. 3237.

r. = rectal; ic. = intracoelomal.

Tab. 3. Haltung von *Borrelia duttoni*. St. Itete, auf Kleiderläusen (Fortsetzung)

Vers.-Nr.	Passage-dauer	Infraktionsmodus	Material	Zahl d. inf. Läuse	davon untersucht	davon positiv	Bemerkungen
3237	31. 1. bis 9. 2. 53	ic.	Coelomfl. v. 9 L. 3221	36	16	13 (81.3)	In den ersten Tagen 28 Tote. Läusepassage ic. 3247.
3247	9. 2. bis 19. 2. 53	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3237	29	25	25	Beginnende Schädigung am 8. Tag. Läusepassage ic. 3263. Übertragung auf Mäuse am 19. 2. 53 +. auf Zecken am 27. 2. 53 +.
3263	19. 2. bis 26. 2. 53	ic.	Coelomfl. v. 9 L. 3247	38	7	5 (71.4)	Infiziert 13 L. u. 25 Zecken. Sterblichkeit d. Läusepassage ic. 3277. Übertragung auf Mäuse am 26. 2. 53 +. auf Zecken am 2. 3. 53 +.
3277	26. 2. bis 10. 3. 53	ic.	Coelomfl. v. 6 L. 3263	34	14	14	Läusepassage r. 3303. Übertragung auf Mäuse am 7. 3. 53 u. 10. 3. 53 +. auf Mäuse, am 20. 10. 52 geimpft m. St. Itete —, m. St. Itakara +. auf Zecken am 11. 3. 53 +.
3305	10. 3. bis 17. 3. 53	r.	Coelomfl. v. 6 L. 3277	28	28	1 (3.6)	Positive Läuse am 3. Tag nach der Infektion.
3271	24. 2. bis 6. 3. 53	r.	Blut v. Maus 3247	32	32	5 (15.6)	Schwache Infektion d. Maus.
3301	6. 3. bis 12. 3. 53	Blutsaugen an d. Maus (3277)		50	41	31 (75.6)	Läuse saugen gut.
3316	14. 3. bis 24. 3. 53	Blutsaugen an d. Maus (3277)		54	51	12 (30.8)	Läuse saugen gut.
3325	18. 3. bis 7. 4. 53	ic.	Blut v. Maus 3277	28	19	17 (89.5)	Läusepassage ic. 3336.
3336	7. 4. bis 29. 4. 53	ic.	Coelomfl. v. 2 L. 3325	30	19	19	Läusepassage ic. 3373.
3373	29. 4. bis 21. 5. 53	ic.	Coelomfl. v. 5 L. 3336	25	10	10	Nach einer weiteren Passage Haltung in der Laus abgebrochen.

r. = rectal; ic. = intracoelomal.

Zu diesem Zweck haben wir hungrige Läuse an positiven Mäusen angesetzt (Tab. 1, Nr. 3137 und 3275, Tab. 3, Nr. 3141, 3301 und 3316). Die Läuse saugen zwar an der Maus z. T. nur wenig Blut, doch konnten wir in allen Versuchen bei einer Anzahl der angesetzten Exemplare feststellen, daß sie frisches Blut aufgenommen hatten. Bei dem ersten Versuch mit Stamm Itakara (3137) enthielten von 13 Läusen, die an der Maus gesogen hatten, später deren 6 Sprossacten in der Hämolymphe. Wir begannen mit der Kontrolle der Läuse am 3. Tag nach dem Saugen. Die beiden zu dieser Zeit untersuchten

Tiere waren bereits positiv (vgl. Abb. 6). Am 7. Tag wurden die restlichen 5 Läuse verarbeitet; bei 2 Tieren ließen sich Spirochaeten nachweisen. Unter den positiven Läusen befand sich eine Larve des 3. Stadiums. Im ersten Versuch mit Stamm Itete (Tab. 3, Nr. 3141) saßen die Läuse besonders schlecht. Von 19 Exemplaren waren hinterher nur 4 positiv, eine Laus allerdings schon nach 3 Tagen. Die Menge der Spirochaeten war in diesem Versuch, der ebenfalls nach 8 Tagen abgebrochen wurde, durchweg geringer als in dem ersten Versuch mit Stamm Itakara.

In 3 weiteren Versuchen mit denselben Stämmen (Tab. 1, Nr. 3275, Tab. 3, Nr. 3301 und 3316) waren die Läuse sangtreudiger. Entsprechend war auch die Zahl der positiven Läuse wesentlich höher. Bei Stamm Itakara erkrankten 22 der 46 untersuchten Läuse Spirochaeten. Der früheste Spirochaetenachweis gelang nach 2 Tagen. Eine starke Zunahme der Spirochaeten war vom 7. Tage ab deutlich. Bei Abbruch des Versuchs am 9. Tage zeigte sich die Hämolymphie bei einigen Läusen von großen Spirochaetenmengen überschwemmt, nicht anders als nach einer künstlichen intracoelomalen Infektion. In einem der beiden Versuche mit Stamm Itete überschritt der Hundertsatz der positiven Läuse 75, d. h. bei über 75% der Tiere passierte ein Teil der mit dem Blut aufgenommenen Spirochaeten die Darmwand, drang ins Coelom, um sich dort ungestört zu vermehren (Tab. 3, Nr. 3301). Bereits 24 Stunden nach der Blutmahizeit enthielt eine von 3 untersuchten Läusen Spirochaeten in der Hämolymphie. Die Vermehrung war sehr stürmisch. Nach 5 Tagen fanden sich bei einigen Läusen schon große Mengen von Spirochaeten in der Coelomflüssigkeit. 31 von 41 untersuchten Tieren waren positiv. Der zweite Versuch (3316) brachte nur 30,8% positiver Läuse. Daß wir bei natürlicher Übertragung teilweise mehr positive Läuse fanden als bei rectaler, erklärt sich leicht daraus, daß die Läuse beim Saugen mit den größeren Blutmengen auch mehr Spirochaeten aufnahmen als bei der künstlichen Inokulation (vgl. S. 31). Diese Beobachtungen an Läusen, die unter ausgesprochen ungünstigen Bedingungen, d. h. beim Saugen an einem ungeeigneten Wirt und bei nur einmaliger Aufnahme von teilweise sehr geringen Blutmengen einen hohen positiven Prozentsatz aufwiesen, bekräftigen unsere Annahme, daß die rectale Infektion unter entsprechenden Voraussetzungen ebenso sichere Schlüsse erlaubt wie die natürliche.

Haltung des Stammes in Laus-zu-Laas-Passagen

Sobald die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Spirochaeten im Läusecoelom festgestellt, haben wir versucht, den Stamm in kontinuierlichen Passagen ausschließlich auf der Laus zu halten. Als Implantatmaterial benutzten wir dabei jeweils mit Bouillon verdünnte Hämolymphie, deren Spirochaetengehalt stets geprüft wurde. Das den Läusen entnommene Implantatmaterial enthielt wesentlich mehr Erreger als das für den Start der Versuche benutzte Mäuseblut.

Der Verlauf der Stammhaltung in der Laus ist aus Tab. 3 zu ersehen (Tab. 3, Versuchsnummer 3090 ff.). Der Stamm ist bis jetzt, d. h. vom 24. 9. 52 bis 24. 4. 53 in 21 nur einmal unterbrochenen Passagen in der Laus gehalten worden. Meist wurden die Spirochaeten mit der Coelomflüssigkeit wiederum intracoelomal verimpft. Nur wenige rectale Passagen sind zwischengehalten (Tab. 2, Nr. 3125, 3178, 3305). Die einzelnen Passagen dauerten im Minimum 7, im Maximum 22, im Durchschnitt 17,1 Tage. Sie hätten ohne weiteres ausgedehnt werden können. Wir warteten jedoch nicht bis zu ihrem natürlichen Ende, da



Abb. 1

Abb. 1. *B. duttoni*, St. Itete, aus der Hämolymphie der Laus nach intracoelomaler Inokulation mit Mäuseblut, Versuchs-Nr. 3090, 3. Tag nach der Inokulation. Spirochaeten zwischen stielartigen Blutzellen. Färbung in dieser und den folgenden Abbildungen nach Giemsa, Vergrößerung 1200mal. Abb. 2. *B. duttoni*, Stamm Itete, in einem durch Beinamputation gewonnenen Tröpfchen der Hämolymphie. Intracoelomale Inokulation der Laus mit Mäuseblut, Versuchs-Nr. 3090, 10. Tag nach der Inokulation. Massenvermehrung der Spirochaeten.

Abb. 2

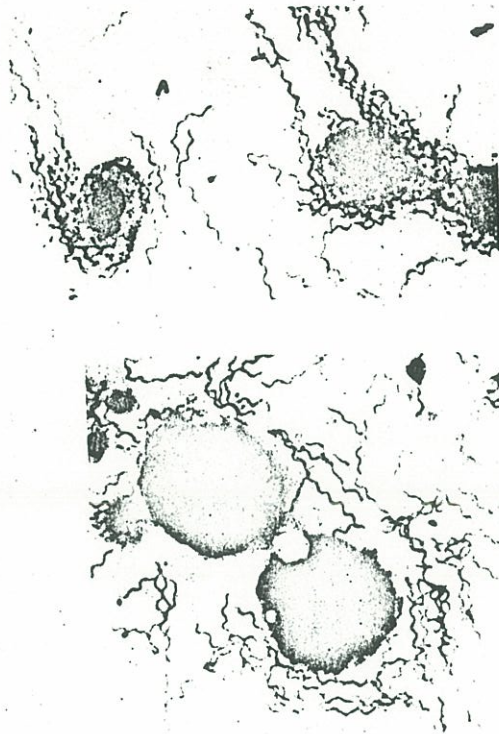


Abb. 3

Abb. 4

Abb. 3. *B. duttoni*, St. Itete, aus der Hämolymphie der Laus nach intracoelomaler Inokulation mit Mäuseblut, Versuchs-Nr. 3090, 9. Tag nach der Inokulation. Zahlreiche Spirochaeten zwischen den Blutzellen. Abb. 4. *B. duttoni*, St. Itete, aus der Hämolymphie der Laus nach rectaler Inokulation mit Coelomflüssigkeit. 5. Passage, Versuchs-Nr. 3125, 9. Tag nach der Inokulation. Spirochaetenansammlungen an Blutkörperchen.

uns daran lag, den Stamm möglichst oft durch die Laus gehen zu lassen. Wesentliche Reaktionsunterschiede waren in den einzelnen Passagen nicht zu erkennen. Der Prozentsatz der positiven Läuse blieb die ganze Zeit annähernd gleich. Er änderte sich auch nicht merklich in Abhängigkeit von der Zahl der Läuse, aus welchen jeweils die Impfsuspension bereitet wurde.

Das Verhalten der Spirochaeten in der Laus

Die mikroskopische Kontrolle der Hämolymphe setzte frühestens 20 Stunden nach der Inokulation ein. Zu diesem Zeitpunkt waren bei den intracoelomal inokulierten Läusen regelmäßig Spirochaeten nachzuweisen. Natürlich kann es sich dabei um die mit dem Impfmateriale eingeführten Spirochaeten gehandelt haben. Doch war der Spirochaetengehalt gelegentlich an diesen und den folgenden Tagen schon recht hoch (Abb. 1), und auch Teilungsformen waren festzustellen. Die Spirochaetenzahl nahm dann stetig zu. Selbst kleinste, durch Beinamputation gewonnene Tröpfchen der Hämolymphe enthielten massenhaft Spirochaeten (Abb. 2). Auf späteren Stadien (vom 5. bis 8. Tage ab) fanden sich nicht selten Anhaufungen von Spirochaeten in Form kleinerer oder größerer Knäuel (Abb. 4 und 5). Bemerkenswert war ferner eine Tendenz zur Anlagerung an Blutzellen, die als Mittelpunkt besonderer Spirochaetenkonzentrationen imponierten (Abb. 3 und 4). Büschel von *B. duttoni* aus dem Ovar von *C. manabata* hat übrigens bereits R. Koch (1905) abgebildet. Auch Burgdorfer beschreibt die Knäuelbildung in der Hämolymphe der Zecke. Die Knäuel lösen sich bei *Ornithodoros* nach einiger Zeit wieder in Einzelspirochaeten auf.

Ob die Läuse durch die Spirochaeten geschädigt werden, konnten wir nicht mit Sicherheit beurteilen. Die rectal infizierten Exemplare verhielten sich völlig normal, ebenso wie diejenigen, welche an der Maus gesogen hatten. Bei den intracoelomal beimpften Läusen machte sich gelegentlich ungefähr nach einer Woche eine Störung bemerkbar. Manche hatten ein aufgetriebenes Abdomen, wahrscheinlich im Zusammenhang mit der behinderten Eiablage, und gingen bald ein. Diese Schädigung ist jedoch nicht auf die Spirochaeteninfektion zurückzuführen, sondern durch die intracoelomale Inokulation bedingt, bei welcher Fremdstoffe ins Coelom gelangten. Ein analoges Verhalten sahen wir öfters auch bei Läusen nach intracoelomaler Inokulation mit Organismen aus schwammigen normaler Läuse. Zahlreiche Läuse zeigten trotz einer massiven Spirochaeteninfektion keine Störung und keine Verkürzung ihrer Lebensdauer.

Bei der kontinuierlichen Haltung des Stammes in der Laus verstärkte sich aus ungeklärten Gründen von der 9. Passage ab die Empfindlichkeit der Läuse, von denen viele vorzeitig eingingen. Das Verhalten der Spirochaeten änderte sich dabei allerdings nicht. Wir waren jedoch gezwungen, die Passageintervalle zu verkürzen, um nicht Gefahr zu laufen, den Stamm zu verlieren. Von der 17. Passage aus übertrugen wir den Stamm mit Hämolymphe subkutan auf Mäuse und inokulierten die 18. Läusepassage mit Mäuseblut. Danach war die erwähnte Störung behoben, und die nächsten Passageintervalle konnten leicht bis zu 22 Tagen verlängert werden.

Von einem Entwicklungszyklus der Spirochaeten in der Laus haben wir nichts bemerkt. Für das Vorkommen unsichtbarer oder körnchenförmiger Stadien geben unsere Versuche keinen Anhalt. Diese oft beschriebenen Körndchen, die auch wir gesehen haben, ließen sich zwanglos mit einem körnigen Zerfall in Degeneration befindlicher Erreger erklären. In den Passagenreihen konnte man, wie schon bemerkt, bereits 24 Stunden nach der intracoelomalen Inokulation reichlich Spirochaeten in der Hämolymphe finden. Hin-

gegen erfolgte nach rectaler Inokulation der Spirochaetenmischweise einmal erst am 2. Tage, während die Untersuchung am 1. Tage negativ ausfiel, in einem anderen Fall am 3. Tage, bei negativem Befund am 1. und 2. Tage. Allerdings wurden jeweils nur wenige Läuse so früh untersucht. Auch bei natürlicher Infektion durch Saugen an der Maus waren zuweilen bereits nach 24 Stunden Spirochaeten im Coelom nachzuweisen, nach 3 Tagen fanden sich manchmal schon größere Spirochaetenmengen (Abb. 6). Aus unseren Versuchen müssen wir schließen, daß die Vermehrung der Spirochaeten unmittelbar nach Erreichen der Hämolymphe einsetzt, bei intracoelomaler Infektion sofort, bei rectaler nach



Abb. 5

Abb. 6

Abb. 5. *B. duttoni*, St. Iakara, aus der Hämolymphe der Laus nach rectaler Inokulation mit Mäuseblut, Versuchs-Nr. 3092, 18. Tag nach der Inokulation. Spirochaetenknäuel, Abb. 6. *B. duttoni*, St. Iakara, aus der Hämolymphe der Laus nach natürlicher Infektion durch Saugen an der Maus, Versuchs-Nr. 3137, 3. Tag nach der Infektion.

dem Durchtritt durch die Magenwand. Eine so lange Latenz, wie sie andere Autoren beschrieben haben, war in unseren Versuchen auch bei Infektion durch den Saugakt nie zu beobachten.

Die Spirochaeten beschränkten sich auf die Hämolymphe. Auf Schnittpräparaten durch das ganze Abdomen waren in den Organen keine Spirochaeten festzustellen. Dieselben hatten in der Laus außer der bereits erwähnten Tendenz zur Anlagerung an Blutzellen keine Beziehungen zu den Geweben. Die intracoelomale Infektion, bei der es zu einer enormen Spirochaetenvermehrung kommen kann (vgl. Abb. 2—4), bot auch Gelegenheit, die Frage des Überganges von Spirochaeten auf die nächste Generation nochmals experimentell zu prüfen. Wir untersuchten zahlreiche Eier von stark positiven Weibchen, teils direkt, teils durch Übertragung auf die Maus und ins Coelom der Laus. Alle diese Versuche verliefen eindeutig negativ. Ein Befall der Eier durch die Spirochaeten fand also nicht statt.

Um die Virusspezifität der Kiederläuse weiter zu untersuchen, haben wir die Spirochaeten auch auf Schweineläuse (*Haematopinus suis*) übertragen. Nach intracoelomaler Inokulation fanden wir unter 13 Läusen bis zum 3. Tage, als der Versuch aus äußeren Gründen abgebrochen wurde, nur bei einer der Läuse vermehrte unbewegliche, sich mit Glycerinlösung schwach färbende Spirochaeten, die sich im Stadium des Zerfalls befanden. Nach rectaler Inokulation zeigten bis zum 6. Tage 3 von 16 Läusen wenige Spirochaeten in der Hämolymphe.

Teilungsstadien haben wir nicht gesehen, die Virulenz dieser Spirochaeten wurde nicht geprüft. Der Unterschied zwischen der Kleider- und Schweinelaus in bezug auf die Empfänglichkeit für die Spirochaeten war jedenfalls sehr deutlich.

Die Pathogenität der in der Kleiderlaus gewachsenen Spirochaeten haben wir aus verschiedenen Passagen und zu verschiedenen Zeiten durch subkutane Übertragung von Hämölymphe auf Mäuse geprüft. Solche Infektionen fanden statt z. B. am 7. (3263), 5. (3175 und 3195), 9. (3277), 10. (3166 und 3247), 12. (3277), 13. (3190) und 16. Tage (3090) nach der Inokulation. Die Spirochaeten stammten aus der 1., 7., 8., 9., 10., 15., 17. und 21. Läusepassage. Im letzteren Fall war der Stamm 233 Tage praktisch kontinuierlich in der Laus gehalten worden. Mit Stamm Mkasu 5 aus dem Läusecoelom wurde ein Übertragungsversuch am 11. Tag (3270) vorgenommen¹. Die Übertragung gelang in allen Fällen. Die Spirochaeten hatten sich in der Maus bis zum 4. oder spätestens 5. Tag so stark vermehrt, daß sie leicht im Dunkelfeld oder dicken Tropfen nachzuweisen waren. Nur ein Versuch in der 12. Passage verlief negativ. In dieser Passage hatten wir gleichzeitig je eine Serie Läuse intracoeleml und rectal geimpft (3120 und 3121). Unter den rectal inokulierten Tieren hatten sich nach 3 Tagen bei 3 von 4 Läuseen vereinzelte Spirochaeten in der Coelomflüssigkeit gefunden. Alle späteren Untersuchungen waren negativ. Am 11. Tag wurden die überlebenden 12 Läuse zerrieben und in toto auf Mäuse gespritzt. In der Zerrichtung waren mikroskopisch keine Spirochaeten zu finden. Die Mäuse blieben negativ.

Die Spirochaeten waren in der Maus häufig schon am 3. Tag nach der subkutanen Inokulation im dicken Tropfen oder Dunkelfeld nachweisbar. Ihre größte Dichte erreichten sie am 4. oder 5. Tage. In der Hämölymphe der Laus erschienen sie relativ klein und starr mit dichten Primärwindungen, im Mäuseblut waren sie größer, hatten nur wenige undeutliche Primärwindungen und zeigten bei der Beobachtung im Dunkelfeld die Neigung zum Verkrümmen und zur Bildung von Sekundärwindungen. In dieser Form fanden sich die Spirochaeten auch im nach Giemsa gefärbten dicken Tropfen. Eine einwandfreie Doppelkonturierung haben wir weder bei den Spirochaeten aus der Hämölymphe der Laus, noch bei denen aus dem Mäuseblut gesehen.

Der Versuch der rectalen Infektion von Läuseen wurde wiederholt mit Spirochaeten, die schon längere Zeit durch intracoelemlale Passagen gegangen waren (Tab. 3, 3305). Unter 28 geprüften Läuseen fand sich nur eine positive. Es schien uns, als hätten die Spirochaeten durch die ständige direkte Übertragung von Coelom zu Coelom die Fähigkeit zum Durchwandern der Darmwand erloschen. Dieser Eindruck wurde allerdings abgeschwächt durch einen Versuch der natürlichen Infektion von Läuseen (3316). In diesem Fall hatten die Spirochaeten nach monatelangen Wachstum im Coelom der Laus wieder die Maus passiert. Die Maus war stark positiv. Im Gesichtsfeld des dicken Tropfens wurden über 15 Spirochaeten gezählt. Die Läuse hatten gut gesogen. Von 51 untersuchten Läuseen enthielten 12 in der Hämölymphe Spirochaeten, während bei Übertragung des Mäuseblutes ins Coelom (3325) Spirochaeten in 17 von 19 Läuseen nachgewiesen wurden.

Bei 2 Gelegenheiten wurden Spirochaeten (Stamm Itete) aus dem Läusecoelom auf Mäuse gespritzt, die 3—5 Monate früher bereits eine Infektion mit Spirochaeten durchgemacht hatten, welche ausschließlich in Mäusen gehalten waren. Die Spirochaeten

wurden von der 10. Passage aus auf je eine Maus übertragen, die am 20. 10. 52 mit dem Stamm Itete resp. am 24. 11. 52 mit Stamm Itakara infiziert worden war (Tab. 3, 3195). Die zweite Übertragung erfolgte am 14. 3. 52 von der 18. Passage aus auf 2 Mäuse, deren Infektion mit den Stämmen Itete resp. Itakara vom 20. 10. 52 datierte¹. In beiden Versuchen ging die Infektion bei den Mäusen des Stammes Itete nicht an, d. h. die Tiere waren immunn, während die Itakara-Mäuse am 4. Tag eine sehr kräftige Infektion zeigten. Daraus ist zu schließen, daß sich die antigene Struktur des Stammes Itete durch die langdauernde Läusepassage nicht geändert hat.

Wir versuchten schließlich, den Stamm wieder auf Zecken zu übertragen. An Mäusen, die mit Läuseen der 14., 15. und 16. Passage infiziert worden waren, wurden Zecken (*Ornithodoros monticola*) zum Saugen angesetzt. Die 4 Zecken des ersten Versuches wurden nach 40 resp. 41 Tagen verarbeitet. In der Hämölymphe ließen sich mikroskopisch keine Spirochaeten nachweisen. Durch Übertragung der empulgierten Zecken auf Mäuse erwiesen sich 2 Exemplare als positiv, 2 als negativ. Die Zecken des zweiten Versuches wurden zu je 2 nach 52 Tagen, 8 Zecken des 3. Versuches nach 29 Tagen in toto auf Mäuse gespritzt. Alle Mäuse wurden positiv. Der Stamm schien durch die lange Läusepassage seine Fähigkeit zur Entwicklung in der Zecke nicht eingebüßt zu haben. An Mäusen, die von der 21. Passage aus infiziert worden waren, wurden 5 weitere *Ornithodoros monticola* durch Saugakt infiziert. Der Versuch, die Spirochaeten 34 Tage später durch den Stich der Zecken auf Mäuse zu übertragen, mißlang, obwohl die Zecken sehr gut sogen und reichlich Coxallissigkeit abgaben. Die Überimpfung der zerriebenen Zecken auf Mäuse zeigte jedoch, daß die Zecken infiziert waren. In späteren Versuchen gelang auch die Übertragung durch den Stich, ein Zeichen, daß sich der Stamm auch in dieser Beziehung nicht geändert hatte.

Auswertung und Diskussion der Ergebnisse

Bei allen bisherigen Untersuchungen über die spezifischen Beziehungen zwischen den Spirochaeten und ihren Überträgern zeigte sich *B. recurrentis* wesentlich stärker spezialisiert als die Zeckenspirochaeten. Sergent (1933) fand z. B. *B. hispanica* in *Rhipicephalus sanguineus*, die vom Hund abgesammelt waren. Nymphen der gleichen Art, die als Larven an einem kranken Meerschweinchen gesogen hatten, übertrugen die Spirochaeten durch den Stich auf gesunde Meerschweinchen. Rosenholz (1927) untersuchte bei Spezifitätsprüfungen die Rolle von Bettwanzen als Spirochaetenwirte. Er infizierte die Wanzen durch Füttern an kranken Mäusen mit *B. recurrentis* und *B. duttoni*. Virulente Spirochaeten ließen sich in beiden Fällen bis zu 2 Monaten nach der Blutmahlzeit in den Wanzen nachweisen. Ein kleiner Teil der Spirochaeten drang nach dem Saugen durch die Darmwand ins Coelom. *B. recurrentis* blieb länger im Magen als *B. duttoni*. Der Übergang der Spirochaeten ins Coelom wurde durch Anstehen des Magens kurz nach der Blutaufnahme erleichtert. In diesem Fall ließen sich die Spirochaeten noch 5 Monate nach der Infektion der Wanzen auf Mäuse übertragen. Hierbei handelte es sich um eine Methode, die mit unserer intracoelemlalen Inokulation vergleichbar ist. Die Vermehrung der Spirochaeten im Wanzencoelom hielt sich in bescheidenen Grenzen. In Weiterführung dieser Versuche arbeiteten Kline und Krause (1934) mit frisch geschlüpften Larven von Bettwanzen in der Annahme, daß die zarthäutige Darmwand der Larven den Durchtritt der Spirochaeten erleichtern würde. Hierin sahen sie sich nicht getäuscht. In zahlreichen Übertragungsversuchen, die sich auf die Zeit von 28. bis 81. Tag nach dem Saugen erstreckten, erwiesen sich die Wanzen als infektiös. Von 300 Wanzen waren 4 % positiv, wenn in jeder verimpften Gruppe mit positivem Ergebnis nur eine Wanze als infiziert angesehen wurde, 150 Imagines, die

¹ Geigy hatte festgestellt, daß die beiden Stämme keine reziproke Immunität hinterlassen. Einzelheiten finden sich bei Geigy (1951) und Geigy und Burgdorfer (1951).

¹ Es wurde nicht näher geprüft, ob der Stamm nach der Läusepassage die von Geigy (1951) beschriebenen Eigenschaften beibehalten hatte.

auf gleiche Weise inokuliert wurden, enthielten dagegen nach 6 Tagen keine Spirochaeten mehr. Der Widerspruch dieser Beobachtungen zu den Experimenten von Rosenholz ist noch nicht geklärt.

Morrisita (1935) arbeitete mit einer *Lipomyssus*-art, die er an kranken Mäusen saugen ließ. Er konnte *B. duttoni* mit zerriebenen Protonymphen bis zu 7. mit erwachsenen Milben bis zu 5 Tagen nach dem Saugen auf gesunde Mäuse übertragen. Die Spirochaeten blieben also einige Tage in den Milben lebend. Die Versuche gaben jedoch keine Auskunft darüber, ob sie sich auch vermehrt hatten.

Davis (1952) prüfte kürzlich die Spezifität verschiedener Spirochaeten, deren Zeckenwirte in Verbreitung und Lebensweise jeweils weitgehende Übereinstimmung zeigten. Er ließ in drei verschiedenen Versuchsserien *Ornithodoros turicata* und *O. talaje*, *O. rufus* und *O. talaje* sowie *O. erraticus* und *O. normandi* an Mäusen saugen, die teils mit der homologen, teils mit der heterologen *Borrelia*-Art infiziert waren. Eine Übertragung der Spirochaeten durch den Stich gelang später nur mit den spezifischen Wirtszicken. Die Spirochaeten von *O. talaje* konnten sich lediglich in *O. rufus* bis zu 79 Tagen lebend halten. Diese Versuchsergebnisse unterstreichen die starke Spezifität der Zeckenspirochaeten.

Beschränken wir uns auf die Versuche früherer Autoren zur Infektion von Kleiderläusen mit Zeckenspirochaeten, insbesondere mit *B. duttoni*, so haben wir die wichtigsten Beobachtungen bereits in der Einleitung erwähnt. Die Ergebnisse wechselten bei den einzelnen Arten. Auch zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen verschiedenen Stämmen derselben Art. Unsere Versuche bezüglich der Empfänglichkeit von *Pediculus* für *B. duttoni* stimmen grundsätzlich mit denen von Heisch und Garnham überein, die in Nairobi Kleiderläuse mit *B. duttoni* infizierten. Die Läuse wurden von diesen Autoren für 2—4 Tage an infizierten Affen, anschließend am Menschen gefüttert. In 7 Versuchsreihen wurden insgesamt 81 Läuse mikroskopisch geprüft. 11 davon enthielten Spirochaeten. 4 von 16 Versuchen zur Übertragung der Spirochaeten mit zerriebenen Läusen auf Affen und Mäuse waren negativ, alle übrigen positiv. Erfolgreiche Übertragungen wurden 1 bis 18 Tage nach der infektiösen Blutmahlzeit vorgenommen. Die Infektion der Läuse gelang also in zahlreichen Fällen, und die Spirochaeten hatten sich nicht nur gewisse Zeit virulent gehalten, sondern offenbar auch vermehrt.

In unseren eigenen Versuchen bereitete die Anstellung der *B. duttoni* in der Laus gar keine Schwierigkeit. Die Infektion der Läuse gelang sowohl auf natürlichem Wege durch den Saugakt, selbst unter ungünstigen Bedingungen, als auch nach künstlicher rectaler und intracoelomaler Infektion. Die Vermehrung der Spirochaeten steht außer Zweifel. Besonders nach intracoelomaler Inokulation kam es zu einem schnellen und intensiven Spirochaetenwachstum, wobei praktisch alle inokulierten Läuse positiv wurden.

Die sich auf Monate erstreckende kontinuierliche Haltung des Stammes in der Laus hatte keinen erkennbaren Einfluß auf die Eigenschaften der Spirochaeten. Weder änderte sich die antigene Struktur noch die Infektiosität für Mäuse und Zecken. Lediglich die Tatsache, daß die Zecken die Spirochaeten nicht auf natürlichem Wege durch den Saugakt übertragen konnten, könnte mit der Läusepassage in Zusammenhang gebracht werden. Diese Stabilität steht im Gegensatz zu der von Baltazard, Mofidi, Bahmanyar und Seydian (1947) beobachteten Änderung einiger Stämme von *B. recurrentis*. Durch kurzdauernde Haltung in neugeborenen Kaninchen nahmen die Stämme die Eigenschaften der *B. microti* bzw. *B. duttoni* an. Die Verfasser werteten die Änderung jedoch nicht als Mutation, sondern sahen darin nur eine Rückkehr der Spirochaeten zu ihren ursprünglichen Eigenschaften.

Von Heisch und Garnham wird auch die Frage der Spirochaetenentwicklung in der Laus angeschnitten. Die Verfasser glauben, auf einen Entwicklungszyklus schließen zu können. Während in einer Versuchsserie Übertragungen von Spirochaeten mit je 30 zerriebenen Läusen am 2., 5. und 7. Tage positiv ausfielen, verliefen die Versuche mit dem gleichen Impfmateriale am 3., 4. und 6. Tag negativ. Das positive Ergebnis am 2. Tag nach der Blutmahlzeit wird von den Autoren auf die Persistenz der beim Saugen aufgenommenen Spirochaeten zurückgeführt. Ein direkter Nachweis der Spirochaeten in der Laus war ihnen erst nach 15 Tagen möglich. Für die Zwischenzeit nehmen sie ein „invisible stage“ an.

Das Problem der Spirochaetenentwicklung ist seit langem umstritten. Am besten begründet ist wohl die Anschauung von Boné (1938, 1939 u. a.), daß zum mindesten in der Zecke nur eine einfache Vermehrung der Spirochaeten stattfindet, aber keine Entwicklung über ein unsichtbares Stadium oder ein Körnchenstadium mit Auftreten von metazyklischen Formen. Diese Auffassung ist durch die Beobachtungen von Burgdorfer an *O. moubata* neuerdings überzeugend belegt worden. Danach lassen sich die mit dem Blut aufgenommenen Spirochaeten im Darm lumen der Zecke 16 Tage lang in ständig abnehmender Zahl nachweisen. Wenige Stunden nach dem Saugen lokalisieren sich die Erreger bereits an der Darmwand, befallen die Epithelzellen und bohren sich durch die Darmschicht, um frühestens nach 24 Stunden in der Coelomflüssigkeit zu erscheinen, wo dann erst eine kräftige Vermehrung und ein Organbefall einsetzen. Im Darm lumen treten anfangs vereinzelt, später in verstärkter Zahl Involutioformen auf. Hierbei handelt es sich um entwicklungsunfähige oder bereits abgestorbene Spirochaeten, die mit normalen Entwicklungsstadien nichts zu tun haben.

Auch in der Laus dürfte der Vorgang nicht anders ablaufen. Spätestens einen Tag nach dem Saugen sind bei einer Temperatur von 28 bis 30° die Spirochaeten, von denen ein großer Teil zugrunde geht, aus dem Magen verschwunden. Genauere Untersuchungen über den Einfluß der Temperatur auf das Verhalten der Spirochaeten in der Laus haben u. a. Feng und Chung (1936) angestellt. In unseren Versuchen haben wir bei 31° C schon 24 Stunden nach der rectalen Infektion die Spirochaeten in der Hämolymphe der Laus finden können. Hier blieben sie die ganze Zeit über direkt nachweisbar. Dasselbe gilt für die intracoelomale übertragene Spirochaeten. Mit Zerreibungen von Läusen, in denen wir keine Spirochaeten sehen konnten, ließen sich keine Mäuse infizieren. Es ist unwahrscheinlich, daß sich die Spirochaeten in der Laus wesentlich anders verhalten sollen als in der Zecke, um so mehr, als man die beiden Wirte bis zu einem gewissen Grade ohne Schädigung der Spirochaeten austauschen kann.

Unterschiede zwischen der Laus und der Zecke ergeben sich aber hinsichtlich der Übertragung der Spirochaeten auf einen neuen Wirt. Diese Verhältnisse sind bei der Zecke u. a. durch Boné (1938, 1939), ferner durch Burgdorfer und Geigy (1949), Burgdorfer (1951) und Geigy (1951, 1953) genauer beschrieben worden. Die Spirochaeten können von der Zecke mit Speichel und Coelomflüssigkeit übertragen werden. Sie werden über die Eier auch auf die folgende Generation weitergegeben. Man hat die Spirochaeten in der gleichen Zecke bis zu 6 1/2 Jahren nachgewiesen, und durch den Übergang auf das Ei können sich die Spirochaeten mindestens bis zur 3. Generation in den Zecken halten (zit. nach Manson-Bahr 1950). Das alles spricht für eine vorzügliche Anpassung der Spirochaeten an den Zeckenwirt. Dagegen sind die Übertragungsmöglichkeiten durch die Laus viel beschränkter. Die Spirochaeten sind offenbar nur an die Hämolymphe gebunden. Einen Zell- oder Organparasitismus haben wir nicht gesehen. Weder

Seydian: Fièvres récurrentes humaines. Leur transmissibilité par le pou. - Bull. Soc. Path. exot. 43, 309-317, 1950 a. — Baltazard, M., Ch. Mofidi, M. Bahmanyar, B. Seydian u. A. Habibi: Sur la transmissibilité des spirochètes récurrentes par le pou. - Bull. Soc. Path. exot. 43, 176-186, 1950 b. — Blanchard, M.: Epidémie de fièvre récurrente à Brikie (Congo français). - Ann. Hyg. Méd. Colon. 17, 81-86, 1914. — Boiron, H.: Transmission par le pou de *Spirochaeta duttoni* var. *crociolarum*. - Bull. Soc. Path. exot. 42, 91-93, 1949. — Boiron, H., R. Koerber u. B. Carronnier: A propos d'un cas de récurrente hispano-africaine importé à Dakar. Transmission de *Spirochaeta hispanica* par l'ornithodore et par le pou. - Bull. Soc. Path. exot. 41, 81-89, 1948. — Boné, G.: Mode de transmission du Spirochète de Dutton par les Ornithodoros moubata. - C. r. Soc. Biol. 129, 901-903, 1938. — Boné, G.: L'infection des Ornithodoros moubata par le Spirochète de Dutton. - C. r. Soc. Biol. 129, 903-905, 1938. — Boné, G.: Contribution à l'étude de la transmission de la fièvre récurrente tropicale (premier mémoire). - Ann. Soc. belge Méd. Trop. 19, 279-332, 1939. — Brumpt, E.: Précis de Parasitologie. 6. Ed. Paris: Masson & Cie, 1949. — Burgdorfer, W.: Analyse des Infektionsverläufe bei Ornithodoros moubata (Murray) und der natürlichen Übertragung von Spirochaeta duttoni. - Acta trop. 8, 194-262, 1951. — Craig, C. F. u. E. C. Faust: Clinical Parasitology. 4. Ed. London: Henry Kimpton 1943. — Davis, G. E.: The relapsing fevers: Tick-spirochete specificity studies. - Exp. Parasitol. 1, 406-410, 1952. — F eng, L. C. u. H. L. Chung: Studies on the development of Spirochaeta duttoni in Ornithodoros moubata. - Chinese Med. J. 50, 1185 bis 1190, 1936. — Geigy, R.: Transmission de Spirochaeta duttoni par Ornithodoros moubata et évolution de diverses souches de cet agent pathogène dans la souris blanche. Atti del III. Congr. Intern. d'ig. e Med. Medit. Palermo 14-16. 5. 1951, 1-9. — Die genitale Übertragung der Rückfallfieber-Spirochaete durch die Zecke Ornithodoros moubata. Rev. Suisse de Zool. 60, 438 bis 439, 7. 1953. — Geigy, R. u. W. Burgdorfer: Versuche zur Übertragung von Spirochaeta duttoni durch Ornithodoros moubata. - Rev. Suisse Zool. 46, 334, 1949. — Geigy, R. u. W. Burgdorfer: Unterschiedliches Verhalten verschiedener Stämme von Spirochaeta duttoni in der weissen Maus. Acta trop. 8, 151-154, 1951. — Heisch, R. B.: The human louse in transmission of T. duttoni in nature. - Brit. Med. J. Nr. 4591, 17, 1949. — Heisch, R. B. u. P. C. Garnham: The transmission of Spirochaeta duttoni Novy u. Knapp by Pediculus humanus corporis de Geer. - Parasitology 38, 247-252, 1948. — Kleine, F. K. u. M. Krause: Die Rolle der Wanze bei der Verbreitung des Rückfallfiebers. - Arch. Schiff- u. Tropenhyg. 98, 486-487, 1934. — Koch, R.: Vorläufige Mitteilungen über die Ergebnisse einer Forschungsreise nach Ostafrika. - Dtsch. med. Wschr. Nr. 47, 1-15, 1905. — Leonova, N. A.: On the possibility of transmission by lice of the spirochaetes of tick-borne relapsing fever, Sp. uzbekistanica (= Sp. sogdianum). - Med. Parasit. a. Parasit. Dis., Moskau 14, 79-92, 1945. — Manson-Bahr, Ph. H.: Manson's Tropical Diseases. 12. Ed. London: Cassell & Co., 1950. — Mathis, C.: Transmission expérimentale au singe du spirochète de la mousaigne par le pou. - Bull. Soc. Path. exot. 21, 173-177, 1928. — Morisita, T.: Transmission experiments on relapsing fever with tropical rat-mite, Liponyssus sp. - Jap. J. exp. Med. 16, 551-558, 1938. — Nicolle, Ch. u. Ch. Anderson: Fièvre récurrente transmise à la fois par Ornithodores et par poux. - Etude expérimentale de la récurrente espagnole. - Arch. Inst. Past. Tunis 15, 197-228, 1926. — Nicolle, Ch. u. Ch. Anderson: Fièvre récurrente transmise par ornithodores et par poux. - C. r. Acad. Sci. 182, 1450-1451, 1926. — Nicolle, Ch. u. Ch. Anderson: Sur l'origine des fièvres récurrentes humaines. - Bull. Inst. Past. 25, 657-665, 1927 a. — Nicolle, Ch. u. Ch. Anderson: Etude comparative de quelques virus récurrents, pathogènes pour l'homme. - Arch. Inst. Past. Tunis 16, 123-206, 1927 b. — Nicolle, Ch., L. Blairot u. E. Conseil: Etiologie de la fièvre récurrente, son mode de transmission par les poux. - Ann. Inst. Past. 27, 204-225, 1913. — Rosenholz, H. P.: Die Rolle der Wanzen in der Epidemiologie des Rückfallfiebers. - Zbl. Bakt. I. Orig. 102, 179-213, 1927. — Sergeant, A.: Un nouvel agent de transmission naturelle de la récurrente hispano-africaine: la tique du dicien (Rhipicephalus sanguineus). - C. r. Acad. Sci. Fr. 197, 717-718, 1933. — Sofieva, M. S. u. M. Z. Leitmann: "On the possibility of transmission of spirochaetes of louse-borne relapsing fever by ticks and of spirochaetes of tick-borne relapsing fever by lice." - Med. Parasit. and Parasit. Dis. 15, 81-84, 1946.

Abdrück der Vorleser: Prof. Dr. H. Mooser, Hygiene-Institut der Universität Zürich, Prof. Dr. F. Weyer, Hamburg 4, Tropeninstitut.

die Speicheldrüse noch die Ovarien werden befallen. Eine Übertragung kann deswegen lediglich bei einer Verletzung der Laus vermittels der austretenden Hämolymphe erfolgen.

Zusammenfassung

- 3 Stämme von afrikanischem Rückfallfieber (*B. duttoni*) wurden auf Kleiderläuse übertragen. Die Infektion der Läuse erfolgte teils durch Fütterung an kranken Mäusen, teils künstlich durch rectale oder intracelomale Inokulation mit spirochaetenhaltigem Mäuseblut.
- Die Spirochaeten konnten sich in den Läuseen ohne weiteres halten und vermehren. Nach rectaler Inokulation trat die Besiedlung des Coeloms nicht mit solcher Regelmäßigkeit ein, wie nach intracelomaler Inokulation, bei der praktisch alle Läuse positiv wurden.
- Die Vermehrung der Spirochaeten war besonders nach intracelomaler Infektion so intensiv, daß die Hämolymphe schon nach wenigen Tagen von Spirochaeten überschwemmt war. Der Nachweis der Spirochaeten wurde durch mikroskopische Untersuchung von gefärbten Ausstrichen der Hämolymphe geführt, außerdem durch Dunkelfeldbeobachtung.
- Die Spirochaeten fanden sich in der Hämolymphe auch nach rectaler Bepflanzung teilweise schon nach 24 Stunden. Spirochaeten wurden nur in der Hämolymphe, also weder in irgendwelchen Organen, noch in den Eiern gefunden. Unsere Beobachtungen sprechen gegen einen Entwicklungszyklus der Spirochaeten in der Laus.
- Der Spirochaetenbefall hatte für die Laus keine erkennbare Schädigung zur Folge. Ein Stamm von *B. duttoni* wurde während 8 Monaten durch intracelomale und rectale Passagen in der Laus gehalten. Diese nur in der Laus gehaltenen Spirochaeten ließen sich zu verschiedenen Zeiten mit Hämolymphe auf die Maus und durch Blutsaugen an der Maus wieder auf Zecken (*Ornithodoros moubata*) übertragen. Die Pathogenität für die Maus und die antigenen Eigenschaften des Stammes blieben nach der langen Serie von Lauspässagen unverändert.

Fraulein Magdalene Kerner danken wir herzlich für ihre Hilfe bei der Durchführung der Versuche.

Summary

- Pediculus vestimentis was infected with three strains of *B. duttoni* either by feeding on mice or by rectal or intracelomic inoculation with the blood of mice.
- Whereas intracelomic inoculation was followed in each instance by an abundant multiplication of the spirochetes in the hemolymph, the coeloma was not regularly invaded by those spirochetes which had entered the lice through feeding or by rectal inoculation.
- After intracelomic inoculation spirochetal growth was so vigorous that already within a few days the coelomic fluid was teeming with spirochetes.
- In some of the rectally inoculated lice spirochetes were found already 24 hours later in the hemolymph where their progressive accumulation could be followed day by day by the examination of the tiny drop of fluid which protrudes from the stump of an amputated leg. There was no indication of a special cycle of development which goes through a granular phase, irrespective of the way by which the spirochetes had entered the coeloma. No spirochetes could be found in the organs of the lice nor in the ova. Their presence was restricted to the hemolymph.

The infection had no deleterious effect on the lice. One of the three strains was kept going by exclusive louse to louse transfers during eight months mostly by intracelomic inoculation. Aseptically obtained hemolymph was used for the transfers. When put back into mice after the twenty-first louse transfer the strain behaved still like the original strain with respect to its immunologic properties as well as its infectivity for *O. moubata*.

Schrifttum

Adler, S. u. R. Ashbel: The behavior of Spirochaeta persica in Pediculus humanus. - Ann. Trop. Med. Parasit. 36, 83-96, 1942. — Baltazard, M., Th. Mofidi, M. Bahmanyar u. B. Seydian: Modifications dans le comportement de souches de Spirochaeta recurrentis par les rongeurs. - C. r. Séances de l'Acad. Sci. 225 (1), 82-83, 1947. — Baltazard, M., M. Bahmanyar u. C. Mofidi: Fièvres récurrentes transmises à la fois par ornithodores et par poux. - Ann. Inst. Past. 73, 1066-1071, 1947. — Baltazard, M., Ch. Mofidi u. M. Bahmanyar: Essai de reclassement de certaines spirochètes récurrentes. - Bull. Soc. Path. exot. 41, 399 bis 405, 1945. — Baltazard, M., M. Bahmanyar, A. Habibi, Ch. Mofidi u. B.

2 Tropenmed Parasitol
15:131-38; 1964

10.3

Die meisten Arthropoden können aber kleine Läsionen, wie sie beim Durchstechen des Integuments mit einer Kanüle entstehen, ohne weiteres übertragen. Besonders widerstandsfähig sind Kleiderläuse, die daher auch aus diesem Grunde zu einem bevorzugten Objekt beim Studium der Rickettsien nach rektaler und intracoelomaler Übertragung geworden sind.

Ein Ziel der künstlichen Übertragung von Rickettsien auf Arthropoden ist es, das Verhalten dieser Krankheitserreger in ihren spezifischen und in fremden Wirten und die Reaktionen der Arthropodenwirte vergleichend zu untersuchen und gleichzeitig ihre Bedeutung für die Krankheitsübertragung zu prüfen. Man hoffte, dabei auch Einblicke in die verwandtschaftlichen Beziehungen zwischen bestimmten Rickettsienarten zu gewinnen. Die künstliche Inokulation bietet gegenüber der natürlichen den Vorteil, daß man nicht darauf angewiesen ist, die Arthropoden an infizierten Wirten bzw. Versuchstieren saugen zu lassen, bei welchen der Rickettsiengehalt des Blutes häufig zweifelhaft ist. Bei der künstlichen Übertragung kann man mit konzentrierten Erregermengen operieren, man kann vor allem auch mehrere Arten unter gleichen Bedingungen auf verschiedene Wirte übertragen. Benutzt wurden für derartige Versuche neben Läusen in erster Linie Lederzecken, Flöhe, Bett- und Raubwanzen.

Objekte, Versuche und Ergebnisse. Ich übergehe hier die Experimente zur Übertragung von Rickettsien auf nichtparasitische Arthropoden durch bloßen Kontakt, die z. B. mit *Coxiella burnetii* bei Stubenfliegen vorgenommen wurden (Philip 1948). Erwähnen möchte ich aber Versuche, Rickettsien in die Hämolymphe von Käferlarven (*Bombus morio* L. und *Tenebrio molitor* L.) zu übertragen (Ciaccio 1948, Weyer 1950 a, 1954). In Mehlkäferlarven wurden alle Rickettsienarten mit Ausnahme von *R. quintana* und *R. tsutsugamushi* zur Anstedlung und Vermehrung gebracht. Die Vermehrung vollzog sich intrazellulär in Blut- und teilweise in Fettzellen. Lebende Rickettsien ließen sich in den Larven bis zu 3 Wochen nach der Inokulation nachweisen.

Von größerem biologischen Interesse sind Versuche zur künstlichen Übertragung von Rickettsien auf ektoparasitische blutsaugende Arthropoden. Neben der Kleiderlaus ist die Lederzecke *Ornithodoros moubata* Murr. ein häufiges Versuchstier gewesen (Weyer 1948, 1954, 1960, 1961 b, 1962 a). Bei dieser Zecke ist eine Inokulation durch den Anaplorus zwar technisch durchführbar, aber man kann die Erreger wegen des Fehlens einer Verbindung zwischen Mittel- und Enddarm nicht in den Magensack übertragen. Ich habe es daher vorgezogen, die Rickettsien durch die Intersegmentalhaut zwischen Coxa und Femur eines Beines in die Hämolymphe zu injizieren. *O. moubata* erwies sich in diesen Versuchen als geeigneter Wirt für folgende Rickettsienarten: *R. mooseri*, *R. prowazekii*, *R. rickettsii*, *R. conorii*, *R. sibirica*, *R. akari*, *R. australis*, *C. burnetii* und den Erreger der Maculatum Disease. *R. quintana* und *R. tsutsugamushi* machen eine Ausnahme. *R. tsutsugamushi* konnte in den Zecken nur bis zu 25 Tagen nachgewiesen werden, *R. quintana* bis zu 4 Tagen.

Die Rickettsien vermehrten sich lebhaft in den Zecken und wurden später in Ausstrichen des Magenepithels, der Speicheldrüsen und teilweise in der Coxalflüssigkeit gefunden. Bemerkenswert war die lange Lebensdauer der Rickettsien in Zecken. Sie betrug für *R. prowazekii*, *R. mooseri* und *C. burnetii* mehrere Jahre, für *R. rickettsii*,

Aus dem Bernhard-Nocht-Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten, Hamburg
(Direktor: Prof. Dr. med. Dr. phil. H. Vogel)
Abteilung für Entomologie (Abt.-Dir.: Prof. Dr. F. Weyer)

Experimentelle Übertragung von Rickettsien auf Arthropoden*

Von F. Weyer

Die parasitische Lebensweise von blut- oder lymphesaugenden Arthropoden bildet die Grundlage für ihre Rolle als Krankheitsüberträger. So können Zecken, Milben, Flöhe und Läuse während des Saugens an einem Warmblüter menschenpathogene Rickettsien mit der Nahrung aufnehmen bzw. bei wiederholter Nahrungsaufnahme übertragen. Es war ein für die Rickettsienforschung fruchtbarer Gedanke, erwiesene und verdächtige Überträger durch Fütterung an Versuchstieren experimentell zu inkulieren und darüber hinaus die natürliche Übertragung beim Blutsaugen durch eine künstliche zu ersetzen.

Künstliche Übertragung

Technik und Ziele. Die künstliche Übertragung hat zuerst Weigl (1920) zur Infektion von Kleiderläusen mit *Rickettsia prowazekii* benutzt. Die weite Analoöffnung und die bequeme Zugänglichkeit des Rektums bei der Laus ermöglichen die Einführung einer relativ breiten Kanüle, durch welche Rickettsien in den Magen appliziert werden können. Diese Methode ist inzwischen in Anpassung an die Objekte und Fragestellungen variiert worden, aber im Prinzip gleichgeblieben.

Nachdem sich das Verfahren bei der Übertragung von *R. prowazekii* auf die Kleiderlaus so bewährt hatte, daß man es jahrelang in großem Umfang bei der Herstellung von Impfstoff benutzt hat, lag es nahe, auf demselben Weg nicht nur andere Rickettsien auf die Kleiderlaus, sondern auch verschiedene Rickettsien auf andere Arthropoden zu übertragen. Das ist mit Rücksicht auf den Bau des Darmkanals und die Beschaffenheit des Darmepithels allerdings nur beschränkt möglich. Da sich aber Rickettsien nicht nur im Magenepithel halten und vermehren, sondern nach Durchwandern der Darmwand in die Leibeshöhle eindringen und andere Organe befallen können, hat man auch versucht, die Rickettsien unmittelbar in die Leibeshöhle zu übertragen. um ihr weiteres Schicksal zu verfolgen. Dabei ist zu berücksichtigen, daß Arthropoden keine echte Leibeshöhle, sondern nur ein Mixocoel ohne geschlossene Epithelauskleidung besitzen. Man kann also eine rektale und eine intracoelomale Inokulation bzw. Übertragung unterscheiden.

Während bei einer richtig ausgeführten rektalen Inokulation keine Verletzungen entstehen, ist bei einer intracoelomalen Inokulation eine Wundsetzung unvermeidlich.

* Referat auf dem VII. Internationalen Kongreß für Tropenmedizin und Malaria in Rio de Janeiro vom 1. bis 11. 9. 1963 (Sektion IV, Subsektion 5).

R. conorii und *R. akari* wenigstens einige Monate, für den Erreger der Maculatum Disease 217 Tage. In Nymphen der F₁-Generation konnten *R. mooseri* 237 Tage, *R. prowazekii* 263 Tage nach der künstlichen Infektion der Mutterzecken nachgewiesen werden.

Die künstliche Inokulation von Flöhen ist schwierig und hat keine besonderen Ergebnisse gebracht (Weyer 1949). Sie ist zwar als rektale Inokulation versucht worden, im Endeffekt aber gleichzeitig eine intracoelomale Inokulation gewesen. Dabei konnten in Mäuseflöhen (*Leptopsylla segnis* Schönh.) lebende *R. prowazekii* und *C. burnetii* nur 8–13 Tage nach der Inokulation gefunden werden. Keine Schwierigkeit bereitet dagegen die künstliche Inokulation von Bett- und Raubwanzen. *C. burnetii* wurde intracoelomal mit positivem Ergebnis auf Raubwanzen (*Tritatoma infestans* Klug und *Rhodnius prolixus* Stål) übertragen, *R. prowazekii* und *R. mooseri* auf Bettwanzen (*Cimex lectularius* L.) (Naud und Zumpt 1940, 1941). *R. mooseri* war bis zu 20, *R. prowazekii* bis zu 26 Tagen lebend in den Wanzen nachweisbar. Nach rektaler Inokulation konnten in den Bettwanzen lebende *R. prowazekii*, *R. conorii* und *R. rickettsii* bis zu 4 Wochen nach der Inokulation gefunden werden (Weyer 1962 b). Spärliche Mengen von Rickettsien fanden sich nur in der Enddarmampulle, nicht im Magen. Mehrere Parallelversuche mit *R. mooseri* und *R. quintana* verliefen negativ.

Weitaus am häufigsten ist die Kleiderlaus *Pediculus humanus* L. für eine künstliche Übertragung von Rickettsien benutzt worden. Versuche mit anderen Läusen scheitern gewöhnlich daran, daß die inokulierten Läuse nicht ausreichend ernährt werden können. Es konnte jedoch festgestellt werden, daß sich *R. prowazekii* und *R. quintana* im Magen der Kopf- und Filzlaus, *R. quintana* wahrscheinlich auch im Magen der Affenlaus (*Pedicinus albidus* Rudow) vermehren (Weyer 1952, 1955). *R. prowazekii* und *R. mooseri* wachsen außerdem im Magen und in der Hämolymphe der Schweine- laus (*Haematopinus suis* L.).

Die Resultate der Versuche zur künstlichen Übertragung von Rickettsien auf die Kleiderlaus lassen sich kurz zusammenfassen (Weyer 1960, 1961 b): Nach rektaler Inokulation dringen alle menschenpathogenen Rickettsien mit Ausnahme von *R. tsutsugamushi* in die Magenzellen ein. Hier vermehren sie sich. Später werden sie mit den Faeces ausgeschieden. Im Prinzip gleicht also ihr Verhalten dem von *R. prowazekii* oder *R. mooseri*. Unterschiede ergaben sich in der Intensität der Vermehrung, der Pathogenität für die Läuse und der Möglichkeit, die Arten oder Stämme laufend oder nur begrenzte Zeit in der Laus zu kultivieren.

Die meisten Rickettsien-Arten und -Stämme ließen sich unbegrenzt in Laus-Laus-Passagen halten, ohne ihre Eigenschaften erkennbar zu ändern. Bei einem Stamm von Sibirischem Zeckenbissfieber beobachtete Li Bin (1959) nach der 10. Passage eine Zunahme der Pathogenität für Läuse, während die Pathogenität für das Meerschweinchen auch nach 20 Läusepassagen noch unverändert erhalten war. *C. burnetii* konnte von den Magenzellen aus auch andere Organe befallen. Die übrigen Arten blieben fast immer auf den Magen bzw. das Magenepithel beschränkt.

Als einzige menschenpathogene Rickettsienart ließ sich *R. tsutsugamushi* nicht im Magen der Laus zur Ansiedlung und Vermehrung bringen. Das ist offenbar ein art-

spezifisches Merkmal, denn alle untersuchten Stämme, je 1 Stamm aus Neuguinea, Burma und Korea und 3 Stämme aus Japan, zeigten das gleiche Verhalten.

Keine Unterschiede waren nach intracoelomaler Übertragung der Rickettsien auf schließlich *R. tsutsugamushi* leicht in der Laus zur Vermehrung bringen und unbegrenzt züchten. Die Vermehrung vollzog sich vorwiegend intrazellulär, sie war intensiver und die Erregerausbeute war größer als nach rektaler Inokulation. In Blutzellen vermehrten sich die Erreger intrazellulär.

Natürliche Übertragung

Mit natürlicher Übertragung ist hier die Aufnahme von Rickettsien durch den Saugakt von Arthropoden gemeint, wobei die Erreger auf natürlichem Wege in den Magen gelangen. Dieser Vorgang war allerdings dadurch gesteuert, daß in den meisten Fällen Laboratoriumstiere experimentell infiziert worden waren. Soweit solche Versuche durchführbar waren, haben sie die Ergebnisse der künstlichen Übertragung bestätigt und ergänzt. Ich übergehe hier die zahlreichen Versuche, in denen man *C. burnetii* auf eine große Zahl von Schild- und Lederzecken durch Fütterung an infizierten Nagern übertragen hat (Weyer 1953). Hierbei konnte nicht nur die Eignung dieser Zecken als Wirte für die Rickettsien demonstriert werden, sondern es wurden Beobachtungen gesammelt über den Befall bestimmter Organe, die Lebensdauer der Rickettsien in den Zecken, ihre Ausscheidung mit Kot und Speichel und teilweise die Weiterleitung an die folgende Generation. *O. montana* ließ sich durch Fütterung an Mäusen und Meerschweinchen mit *R. prowazekii*, *R. mooseri*, *R. rickettsii*, *R. conorii* und *R. sibirica* infizieren. Die Ergebnisse waren nicht anders als bei künstlicher Übertragung. *R. rickettsii* wurde in den Zecken noch 345 Tage nach dem Saugen gefunden.

Zahlreiche Versuche zur natürlichen Übertragung von *R. mooseri*, *R. prowazekii*, *R. sibirica* und *R. rickettsii* (darunter ein Stamm aus São Paulo) auf Bettwanzen brachten eindeutig negative Ergebnisse (Weyer 1962 b). Dabei wurde eine größere Zahl von Wanzen an infizierten Meerschweinchen und Mäusen während der Rickettsiämie gefüttert. Ebenfalls negativ verliefen Versuche, Bettwanzen mit *R. quintana* an Patienten mit einer kräftigen Rickettsiämie zu infizieren. Dagegen gelang es leicht, *C. burnetii* auf Bettwanzen und auch auf Raubwanzen (*Rhodnius prolixus*) durch Füttern an infizierten Mäusen zu übertragen. Lebende Rickettsien konnten in Organen und Faeces der Wanzen nach 79 bzw. 101 Tagen nachgewiesen werden.

Versuche, bei denen infizierte Ratten und Mäuse als Blutspender benutzt wurden, ergaben, daß sich *R. mooseri* nicht nur im tropischen Rattenfloh (*Xenopsylla cheopis* Roths.), dem wichtigsten Überträger, vermehrt, sondern auch im nordischen Rattenfloh (*Nosopsyllus fasciatus* Bosc.), im Hunde- und Katzenfloh (*Leptopsylla segnis* Schönh.) und im Menschenfloh (*Pulex irritans* L.). *R. prowazekii* ließ sich auf den tropischen Rattenfloh, den Menschen- und Mäusefloh übertragen. (Die entsprechenden Literaturhinweise sind schon an anderer Stelle gegeben [Weyer 1962 a].) Versuche zur natürlichen Übertragung von *C. burnetii* auf verschiedene Nagerflöhe (*Leptopsylla segnis*, *Nosopsyllus fasciatus* und *Xenopsylla cheopis*) hatten dagegen ein negatives Resultat (Weyer 1953).

Verschiedene *Tiatläuse* konnten durch Fütterung an ihren spezifischen Wirten, die vorher experimentell infiziert worden waren, mit den Erregern des murinen und klassischen Fleckfiebers infiziert werden. *R. prowazekii* vermehrte sich in Affenläusen (*Pedicularis longiceps* Piaget und *P. albidus* Rudlow) und Rattenläusen (*Hoplopleura oenomydis* Ferris), *R. mooseri* in Eselläusen (*Haemaphysalis asiatica* L.) und Rattenläusen (*Polyplax spinulosa* Burm., *Hoplopleura oenomydis*) und Mäuseläusen (*H. akanezumii* Sasa). Negativ verliefen die Versuche, auf dem gleichen Wege *R. tsutsugamushi* auf *Hoplopleura* zu übertragen (Kaneko 1959).

Versuche, die Ergebnisse der künstlichen Infektion von *Kleiderläusen* durch eine natürliche zu ergänzen, werden dadurch erschwert, daß *Kleiderläuse* als streng wirtspezifische Ektoparasiten normalerweise zur Ernährung Menschenblut benötigen. In hungriem Zustand saugen sie zwar auch an anderen Warmblütern, sie können das aufgenommene Blut aber gewöhnlich nicht verdauen und gehen bald zugrunde. Jedoch überleben viele Läuse, wenn sie nur einmal an einem Fremdwirt saugen und anschließend am Menschen gefüttert werden. Mit diesem Verfahren ließen sich von Mäusen auf Läuse übertragen *R. prowazekii*, *R. mooseri*, *R. conorii* und *R. akari*; von *Meerschweinchen* *R. rickettsii*, *R. sibirica* und *R. australis*. Außerdem konnten Läuse mit *R. quintana* durch Fütterung an Rhesusaffen, mit *C. burnetii* durch Fütterung an Patienten infiziert werden (Weyer 1954, 1961b). Die infizierten Läuse schieden mit dem Kot lebende Rickettsien aus.

Auswertung der Ergebnisse und Schlußfolgerungen

Die Versuche zur experimentellen Infektion von Arthropoden mit menschenpathogenen Rickettsien haben zunächst eine gewisse praktische Bedeutung. Die Zahl der bekannten wichtigen Überträger von Rickettsiosen hat sich dadurch zwar nicht vermehrt, Bettwanzen können aber als Überträger außer acht gelassen werden. Sie zeigten sich sowohl bei natürlicher wie künstlicher massiver Inokulation für Rickettsien wenig oder gar nicht empfänglich. Das gilt auch für das „neotropische Fleckfieber“ in Brasilien, bei dem wiederholt Bettwanzen als Überträger angegeben worden sind (*De Magalhães* 1952). *Kleiderläuse* lassen sich zwar leicht – mit einer einzigen Blutmahlzeit und oft zu einem hohen Prozentsatz – auf natürlichem Wege durch Füttern an Mäusen infizieren, z. B. mit *R. conorii* und *R. akari*, und lebende Erreger werden auch mit dem Kot ausgeschieden, wir wissen jedoch nicht, ob bei einer entsprechenden Erkrankung des Menschen die Rickettsiämie für eine Infektion der Läuse ausreichen würde.

C. burnetii ließ sich besonders leicht durch Fütterung an infizierten Mäusen nicht nur auf *Kleiderläuse*, sondern auch auf Wanzen übertragen und in diesen Insekten zur Vermehrung bringen. Die Erreger wurden reichlich und für längere Zeit mit dem Kot abgegeben. Bettwanzen und *Kleiderläuse* könnten daher ohne weiteres als Verbreiter und Überträger von Q-Fieber auftreten. Tatsächlich sind Q-Fieber-Erreger schon unter natürlichen Bedingungen aus *Kleiderläusen* (Giroud, Judin u. Jezierski 1951) und Bettwanzen (Daiber 1951) isoliert worden. Flöhe dürften als Q-Fieber-Überträger nicht in Frage kommen.

Zecken (*O. moubata*) und *Kleiderläuse* lassen sich nicht nur zur Kultivierung und kontinuierlichen Haltung von Rickettsien-Stämmen ohne einen Säugerwirt im Labora-

torium, sondern auch zur Konservierung von Rickettsien verwenden. Hierbei ist der künstlichen Inokulation bzw. Übertragung der Vorzug zu geben. Die künstliche Übertragung von Rickettsien auf *Kleiderläuse* erlaube es auch, die Einwirkung von Desinfizienzen und Antibiotica auf Rickettsien *in vitro* zu prüfen. Rickettsien wurden nach entsprechender Vorbehandlung auf Läuse rektal oder intracoclomal übertragen, um festzustellen, ob sie geschädigt oder abgetötet waren (Weyer 1950b, 1951). Da der Läusemagen und die Hämolymphe einen sehr empfindlichen Nährboden für Rickettsien bilden, hat sich die Methode auch zum Nachweis geringer Rickettsienmengen bewährt. *Kleiderläuse* sind z. B. zur Isolierung von *C. burnetii* aus infizierten Organen benutzt worden (Pavilans 1958). Die Gewinnung von größeren Rickettsienmengen aus der Kultur im Läusemagen hat nur noch bei *R. quintana* Bedeutung; sie wurde allerdings auch bei der Herstellung eines Antigenens von *R. sibirica* benutzt (*Li Bin* 1959). Schließlich ließen sich durch Versuche mit künstlicher Übertragung genauere Daten über die Widerstandsfähigkeit von *R. prowazekii*, *R. mooseri* und *R. quintana* im Läusekot gewinnen (Weyer 1961a).

Biologisch interessant ist, daß die Erreger der Spotted-fever-Gruppe in der Laus trotz lebhafter Vermehrung niemals die Kerne befallen und daß sich intrazelluläre Rickettsien in der Hämolymphe der Laus überwiegend extrazellulär vermehren. Der intrazelluläre Parasitismus ist also keine unerläßliche Voraussetzung für das Wachstum dieser Rickettsien. Dadurch verwischen sich die Grenzen zwischen intrazellulären Rickettsien und der extrazellulären *R. quintana*. Die Vermehrung der Rickettsien in Käflarven hängt offenbar damit zusammen, daß die jungen, nährstoffreichen und noch nicht ausdifferenzierten Zellen der Larven den Rickettsien ähnlich günstige Lebensbedingungen bieten wie der Dottersack des Hühnerembryos.

Das im Prinzip einheitliche Verhalten in der Kleiderlaus spricht für einen gemeinsamen phylogenetischen Ursprung aller menschenpathogenen Rickettsien. Die Entwicklungsfähigkeit in Arthropoden ist eine Grundeigenschaft dieser Erreger. Einige Arten sind noch polyvalent und gedeihen in verschiedenen Arthropoden, andere zeigen bereits eine Spezialisierung. Das Wirtsspektrum ist für die meisten Rickettsien unter den Arthropoden größer als unter den Warmblütern.

Die Unterschiede im Verhalten der Rickettsien im Läusemagen bestätigen bis zu einem gewissen Grade die Einteilung der Arten nach anderen Merkmalen, insbesondere den antigenen Eigenschaften. Auf der einen Seite zeigen die Erreger der durch Zecken übertragenen Rickettsien einschließlich *R. akari* gemeinsame Züge, wobei *R. rickettsii* durch die hohe Pathogenität für Läuse und die begrenzte Lebensdauer im Läusemagen etwas abseits steht. Auf der anderen Seite ist die enge Verwandtschaft von *R. mooseri* und *R. prowazekii* besonders deutlich. Diese Erreger gedeihen nicht nur in den Läusen des Menschen, sondern wahrscheinlich auch in allen Tierläusen, außerdem in Flöhen.

Drei Arten fallen aus dem Rahmen: *C. burnetii*, *R. quintana* und *R. tsutsugamushi*. *C. burnetii* entwickelt sich unregelmäßig und diffus in der Laus und befällt außer den Magenzellen auch andere Organe. *R. quintana* ist durch das rein extrazelluläre Wachstum im Läusemagen und die enge Anpassung an den Menschen und seine Läuse eindeutig charakterisiert. *R. tsutsugamushi* ist die einzige Art, die nicht in den Magen-

zellen der Laus parasitieren kann. Sie zeigt unter den intrazellulären Rickettsien die stärkste Spezialisierung. Das wird auch durch Versuche zur transovarialen Übertragung von Rickettsien durch Läuse bestätigt (Weyer 1962c).

Zusammenfassung

Objekte, Technik, Ziele und wichtigste Ergebnisse der Versuche zur experimentellen Übertragung von Rickettsien auf Arthropoden werden beschrieben. Rickettsien lassen sich relativ leicht auf künstlichem Wege, entweder durch rektale oder durch intracoelomale Inokulation, in den Magen oder in die Hämolymphe bestimmter Arthropoden überführen und zur Vermehrung bringen. Eine natürliche Inokulation über den Saugakt gelang durch Fütterung von Arthropoden an infizierte Mäusen und Meerschweinchen. Häufigste Versuchstiere sind Zecken (*Ornithodoros moubata*) und Kleiderläuse gewesen. Durch experimentelle rektale Inokulation von Bettwanzen wurde ermittelt, daß diese Insekten bei der Übertragung von Rickettsien keine Rolle spielen. Stämme von *Rickettsia prowazekii*, *R. mooseri*, *R. rickettsii*, *R. conorii* und *C. burnetii* hielten sich unverändert in den Zecken, teilweise jahrelang. Zecken können daher zur Konservierung von Rickettsien benutzt werden. In der Hämolymphe der Kleiderläuse ließen sich nach künstlicher Übertragung alle menschenpathogenen Rickettsienarten kultivieren. Alle Arten, mit Ausnahme von *R. tsutsugamushi*, vermehrten sich nach rektaler Inokulation auch im Magen, einige Arten außerdem nach natürlicher Übertragung durch Saugen an infizierten Versuchstieren.

Die praktische Bedeutung der gewonnenen Resultate ist gering. Das Verhalten in der Laus erlaubt aber Rückschlüsse auf die Phylogenie und die verwandtschaftlichen Beziehungen der Rickettsienarten. Unterschiede ergaben sich in der Vermehrungsintensität, der kontinuierlichen oder zeitlich begrenzten Vermehrung und der Pathogenität der Arten oder Stämme für Läuse. Biologisch bedeutsam ist die Tatsache, daß sich alle Rickettsien in der Hämolymphe der Laus überwiegend extrazellulär vermehren und die Rickettsien der Spotted fever-Gruppe in der Laus nicht die Kerne befallen. Die künstliche Übertragung ermöglicht die fortlaufende Haltung oder die Konservierung von Rickettsien-Stämmen in der Kleiderlaus. Außerdem lassen sich mit dieser Methode auch kleinste Rickettsienmengen nachweisen. Ferner konnten neue Beobachtungen über die Resistenz von Rickettsien in Läusefäces gesammelt werden.

Summary

The subjects, techniques, and aims as well as the most important results of experimental transmission of rickettsiae to arthropods are discussed. Rickettsiae can be artificially transmitted rather easily to the midgut or the hemolymph of certain arthropods. Natural inoculation has been achieved by feeding blood-sucking arthropods on infected rats, mice or guinea pigs. Ticks (*Ornithodoros*) and body lice have been proved to be the most suitable objects of study. It has been shown that bedbugs play no part in the transmission of rickettsiae. Some strains of *Rickettsia prowazekii*, *R. mooseri*, *R. rickettsii*, *R. conorii*, and *Coxiella burnetii* remained alive in the ticks for years. All rickettsiae pathogenic to man have been cultivated after artificial transmission to the hemolymph of body lice. In the stomach also all species, except *R. tsutsugamushi*, grew after rectal inoculation and some species, too, after natural inoculation by feeding on infected laboratory animals.

The results obtained are of little practical importance. On the other hand, the behaviour of rickettsiae in lice gives some indications of their phylogeny and interrelationship. Significant differences were observed in the intensity of multiplication, in the course of propagation (indefinite or limited) and in the pathogenicity of the species and strains to lice. It is of biological interest that in the hemolymph of lice all rickettsiae propagate mainly extracellularly and that the agents of the spotted fever group do not affect the cell nuclei of their hosts. Artificial inoculation allows continuous maintenance and conservation of certain strains of rickettsiae in the body louse as well as in ticks. In addition, this method permits the demonstration of even small numbers of rickettsiae. Finally, observations on the resistance of rickettsiae in lice feces have been collected.

Literatur

- Ciaccio, G.: Exais d'inoculation de *Rickettsia prowazekii* et *Rickettsia mooseri* chez les insectes, Etude des anticorps spécifiques. Ann. Inst. Pasteur. 75 (1948), 385.
- Daitch, A. B.: The bedbug as a possible reservoir of *Rickettsia burnetii*. Experimental and epidemiological findings. Probl. virol. 5 (1960), 644.
- Giroud, P., J. Judin, A. Jezirski: Le pou peut-il jouer un rôle dans la transmission de la fièvre Q? C.R. Soc. Biol. (Paris) 145 (1951), 569.
- Kaneko, K.: Studies on sucking lice (*Anoplura*) in Japan. Part V. Experimental transmission of *Rickettsia orientalis*, *R. mooseri* and *R. prowazekii* with murine lice. Jap. J. exp. Med. 29 (1959), 289.
- Li Bin: Cultivation of *Dermacentrosorex sibiricus* in lice and the preparation of a corpuscular antigen from lice. J. Microbiol. Epidem. Immunobiol. 30 (1959), 76.
- De Magalhães, O.: Contribuição ao conhecimento das doenças do grupo tifo exantemático. Monogr. Inst. Oswaldo Cruz, no. 6, Rio de Janeiro, 1952.
- Nauck, E. G., F. Zumpt: Versuche zur Übertragung des murinen Fleckfiebers durch die Bettwanze. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 146 (1940), 97.
- Nauck, E. G., F. Zumpt: Versuche zur Übertragung des epidemischen Fleckfiebers durch die Wanzen *Cimex lectularius* L. und *Triatoma rubrofasciata* de Geer. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 147 (1941), 376.
- Pavlovitz, V. M. Rozovics: Culture de *Coxiella burnetii* chez le pou. Isolement de *Coxiella burnetii* des produits pathologiques par l'inoculation aux poux. Rev. canad. Biol. 17 (1958), 503.
- Philp, C. B.: Observations on experimental Q-fever. J. Parasit. 34 (1948), 457.
- Weyl, R.: Untersuchungen und Experimente an Fleckfieberläusen. Die Technik der Rickettsia-Forschung. Brauers Beitr. Klin. Infekt.-Kr. 8 (1929), 353.
- Weyer, F.: Die künstliche Infektion von Zecken mit Rickettsien und anderen Krankheitsregenern. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 132 (1948), 449.
- Weyer, F.: Versuche zur Übertragung von Rickettsien auf Mäuseflöhe. Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 153 (1949), 116.
- Weyer, F.: Die Entwicklung von Rickettsien in den Larven vom Mückkäfer (*Penebrio mollitor* L.). Schweiz. Z. Path. 13 (1950a), 478.
- Weyer, F.: Ober die Wirkung von Tego 108* auf Rickettsien. Z. Tropenmed. Parasit. 1 (1950b), 586.
- Weyer, F.: Ober die in-vitro-Wirkung von Aureomycin, Chloromycetin und Terramycin auf Rickettsien nach Versuchen in der Kleiderlaus. Z. Tropenmed. Parasit. 3 (1951), 215.
- Weyer, F.: Die experimentelle Infektion der Filzlaus *Phthirus pubis* L. mit *Rickettsia prowazekii* und *R. quintana*. Z. Tropenmed. Parasit. 3 (1952), 302.
- Weyer, F.: Die Beziehungen des Q-Fieber-Erregers (*Rickettsia burnetii*) zu Arthropoden. Z. Tropenmed. Parasit. 4 (1953), 344.
- Weyer, F.: Vergleichende Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Rickettsien-Arten in der Kleiderlaus. Acta trop. (Basel) 11 (1954), 193.
- Weyer, F.: Eigenschaften und systematische Stellung von *Rickettsia quintana* mit Bemerkungen zur Systematik und Nomenklatur der Rickettsien. Z. Tropenmed. Parasit. 6 (1955), 2.
- Weyer, F.: Biological relationships between lice (*Anoplura*) and microbial agents. Ann. Rev. Entomol. 5 (1960), 405.
- Weyer, F.: Zur Frage der Widerstandsfähigkeit von Rickettsien im Läusekot gegen physikalische Einflüsse, insbesondere gegen Wärme. Z. Tropenmed. Parasit. 12 (1961a), 78.
- Weyer, F.: Weitere Beobachtungen und Versuche über das Verhalten von Rickettsien in Kleiderläusen. Z. Tropenmed. Parasit. 12 (1961b), 97.
- Weyer, F.: Insekten als Wirte und Überträger von Rickettsien. Verh. XI. Intern. Kongr. Entom. Wien, 11 (1962a), 354.
- Weyer, F.: Beiträge zur Frage der Bedeutung von Bettwanzen als Überträger von Rickettsien. Z. angew. Zool. 49 (1962b), 61.
- Weyer, F.: Experimente zur Frage der transovarialen Übertragung von Rickettsien. Z. Tropenmed. Parasit. 13 (1962c), 409.