

**Sonderdruck**

Uebersicht  
von der Bibliothek der  
Zeitschrift für  
**TROPENMEDIZIN UND PARASITOLOGIE**

Band 5

Januar 1954

Heft 1

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

**Künstliche Infektion von Läusen mit *Borrelia duttoni***

Von H. Mooser und F. Weyer

### Problemstellung

Bei der Einteilung der menschlichen Rückfallfieber-Spirochaeten hat man bisher an der grundsätzlichen Unterscheidung zwischen der durch Läuse (*Pediculus*) übertragenen *Borrelia (Spirochaeta) recurrentis* (= *obermeieri*), 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 Läuse-spirochaeten als den Endpunkt einer in Etappen verlaufenen Entwicklung an, die von Spirochaeten kleiner Säuger ihren Ausgang genommen hat und bei welcher der Mensch erst spät als wichtiger Mitspieler auf der Szene erschien, während er bei den Zeckenrückfallfiebern bis heute ein zufälliger und entbehrlicher Warmblüterwirt geblieben ist. Nach den französischen Autoren gibt es nur ein Läuserückfallfieber, „la fièvre recurrenente 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 Läuse-spirochaeten 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. microti* an-

genommen (vgl. S. 42). Sofiev und Leitman (1946) setzten an Patienten mit Läuse-rückfallfieber *O. papillipes* und *O. tartarovskyi* 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 empfindliche 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 (*Pedicinus eurygaster*) berichten 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 splenektomierte Ratten noch virulente Spirochaeten nachweisbar. Einheitlich negativ waren ausgedehnte Versuche von Baltazard und Mitarb. (1947, 1948, 1950 a) mit der gleichen Erregerart. Ebenso mißlangene Versuche der Infektion von Läusen mit *B. uzbekistanica* (= *sogdianum*), die wahrscheinlich mit *B. persica* identisch ist, welche Leonova (1945) und Sofiev und Leitman unternahmen. 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. microti* (4—19 Tage), *B. merionesi* (2—14 Tage), *B. hermsi* (10 Tage), *B. turicatae* (2—7 Tage) und *B. gallinarum* (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, während bei mikroskopischer Untersuchung der Läuse ein Nachweis der Spirochaeten mißlang.

Baltazard und Mitarb. (1950 b) arbeiteten sodann mit einem Stamm von *B. crocidurae* 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 nennenswerter 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. crocidurae*, 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 Laus 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 zerriebenen Läusen inokulierten 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 Kleiderlaus 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 Kleiderlaus 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 Stammcharaktere findet sich bei Geigy (1951) und Geigy und Burgdorfer (1951). Wir arbeiteten mit den Stämmen Ifakara, Itete und Mkasu 5. Geigy und Burgdorfer fanden, daß der letztere schwer auf der Maus anging, bei der dritten Passage nicht mehr im 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 35 Versuchsserien angesetzt, wobei die einzelnen Serien 25 bis 50, ausnahmsweise bis zu 70 Läuse umfaßten.

Bei den verschiedenen Inokulationsmethoden ergaben sich in Abhängigkeit vom Füllungszustand 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 Beimpfung 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, bemühten wir uns, einen Stamm in kontinuierlichen Passagen ausschließlich auf Läusen 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-

chaetenmengen handelte. Dieses Ergebnis hat uns im Hinblick auf die zahlreichen in der Literatur mitgeteilten negativen mikroskopischen Befunde überrascht. Die Laus schien 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

Vers.-Nr.	Versuchsdauer	Infektionsmodus	Material	Zahl d. inf. Läuse	davon untersucht	davon positiv %	Bemerkungen
3092	25. 9. bis 13. 10. 52	r.	Blut v. Maus	35	32	12 (37,5)	Zahl der Spirochaeten nimmt laufend zu.
3099	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

Vers.-Nr.	Versuchsdauer	Infektionsmodus	Material	Zahl d. inf. Läuse	davon untersucht	davon positiv %	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. 8 Läusen a. 3270	27	26	4 (15,4)	Impfsuspension 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 angesetzt (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-Laui-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 kranke 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 weiterentwickelten.

#### 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 bequemen Verarbeitung vor dem Verimpfen 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 Impfmateriale direkt ins Coelom gedrückt wird. Derartig geschädigte Läuse sind aber an der vom Hämoglobindurchtritt 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	Infek-tions-modus <sup>1</sup>	Material	Zahl d. inf. Läuse	davon untersucht	davon positiv %	Bemerkungen
3102	4. 10. bis 22. 10. 52	r.	Blut v. Maus	35	34	12 (35,3)	Die ersten positiven L. nach 3 Tagen.
3141	3. 11. bis 12. 11. 52		Blutsaugen an d. Maus	25	19	4 (21,1)	Läuse saugen nur wenig Blut.
3090	24. 9. bis 10. 10. 52	ic.	Blut v. Maus	35	31	30 (96,8)	Übertragung auf Mäuse am 10. 10. +. Läusepassage r. 3101.
3101	4. 10. bis 15. 10. 52	r.	Coelomfl. v. 3 L. 3090	28	25	5 (20,0)	Läusepassage ic. 3110.
3110	15. 10. bis 30. 10. 52	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3101	35	33	25 (75,8)	Eiter u. F <sub>1</sub> — Gen. —. Läusepassage r. 3125.
3125	28. 10. bis 11. 11. 52	r.	Coelomfl. v. 5 L. 3110	30	19	6 (31,6)	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	16 (84,2)	Läusepassage ic. 3160.
3160	24. 11. bis 5. 12. 52	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3150	25	22	21 (95,5)	Läusepassage ic. 3166.
3166	5. 12. bis 15. 12. 52	ic.	Coelomfl. v. 6 L. 3160	30	17	15 (88,2)	Starke Sterblichkeit. Läusepassage r. 3178. Übertragung auf Mäuse +.
3178	15. 12. bis 23. 12. 52	r.	Coelomfl. v. 8 L. 3166	30	11	1 (9,1)	Läusepassage ic. 3190. Übertragung auf Mäuse +.
3190	23. 12. bis 5. 1. 53	ic.	Coelomfl. v. 16 L. 3178	30	14	11 (78,6)	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	10	9 (90,0)	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. Ifakara +.
3207	13. 1. bis 23. 1. 53	ic.	Coelomfl. v. 11 L. 3195	30	13	10 (76,9)	30 tote oder kranke L. Läusepassage ic. 3121., r. 3120.
3220	23. 1. bis 3. 2. 53	r.	Coelomfl. v. 7 L. 3207	30	15	3 (20,0)	Am 3. 2. 53 12 L. f. Totalzerreibg. auf 2 Mäuse —.
3221	23. 1. bis 31. 1. 53	ic.	Coelomfl. v. 7 L. 3207	20	8	7 (87,2)	11 tote oder kranke L. Läusepassage ic. 3237.

<sup>1</sup> r. = rectal; ic. = intracoelomal.Tab. 3. Haltung von *Borrelia duttoni*, St. Itete, auf Kleiderläusen (Fortsetzung)

Vers.-Nr.	Passage-dauer	Infek-tions-modus <sup>1</sup>	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 (81,5)	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 ♀♀ u. 25 ♂♂. Sterblichkeit d. ♂♂. Läusepassage ic. 3277. Übertrag. a. Mäuse 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 a. Mäuse am 7. 3. 53 u. 10. 3. 53 +, auf Mäuse, am 20. 10. 52 geimpft m. St. Itete —, m. St. Ifakara +, 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.

<sup>1</sup> 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 sogen 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 Ifakara (3137) enthielten von 13 Läusen, die an der Maus gesogen hatten, später deren 6 Spirochaeten 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) sogen 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 Ifakara.

In 3 weiteren Versuchen mit denselben Stämmen (Tab. 1, Nr. 3275, Tab. 3, Nr. 3301 und 3316) waren die Läuse saugfreudiger. Entsprechend war auch die Zahl der positiven Läuse wesentlich höher. Bei Stamm Ifakara enthielten 22 der 46 untersuchten Läuse Spirochaeten. Der früheste Spirochaetennachweis 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 Hämolymphe bei einigen Läusen von großen Spirochaetengen 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 Blutmahlzeit enthielt eine von 3 untersuchten Läusen Spirochaeten in der Hämolymphe. 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-Laush-Passagen

Sobald die Lebens- und Vermehrungsfähigkeit der Spirochaeten im Läusecoelom feststand, haben wir versucht, den Stamm in kontinuierlichen Passagen ausschließlich auf der Laus zu halten. Als Impfmateriale benutzten wir dabei jeweils mit Bouillon verdünnte Hämolymphe, deren Spirochaetengehalt stets geprüft wurde. Das den Läusen entnommene Impfmateriale 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 zwischengeschaltet (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

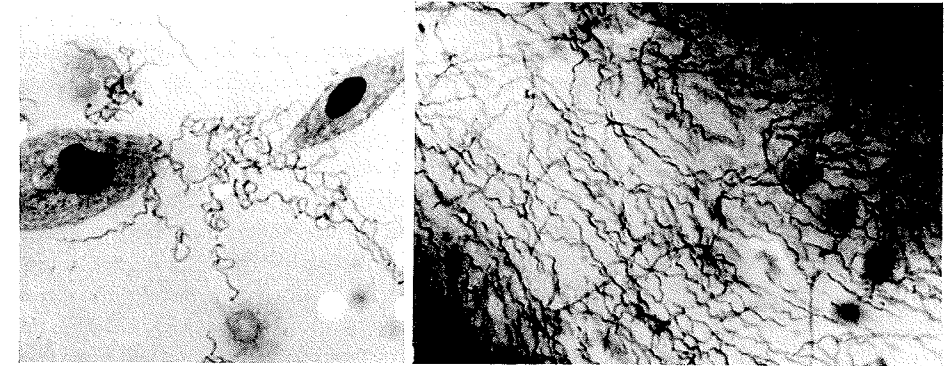


Abb. 1

Abb. 2

Abb. 1. *B. duttoni*, St. Itete, aus der Hämolymphe der Laus nach intracoelomaler Inokulation mit Mäuseblut. Versuchs-Nr. 3090, 3. Tag nach der Inokulation. Spirochaeten zwischen sichelförmigen 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 Hämolymphe. Intracoelomale Inokulation der Laus mit Mäuseblut. Versuchs-Nr. 3090, 10. Tag nach der Inokulation. Massenvermehrung der Spirochaeten.

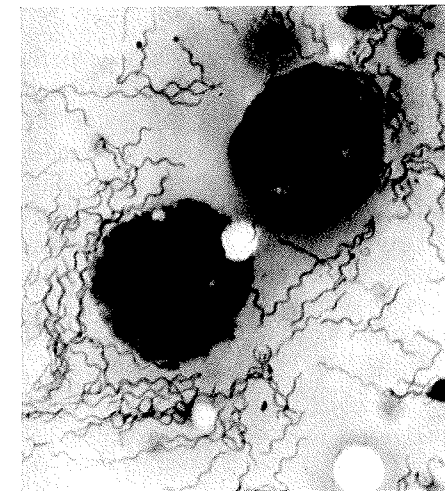


Abb. 3

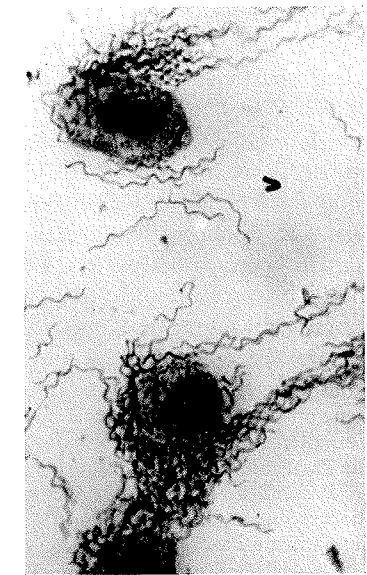


Abb. 4

Abb. 3. *B. duttoni*, St. Itete, aus der Hämolymphe 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 Hämolymphe 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 Anhäufungen 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 *O. moubata* 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 gelangen. Ein analoges Verhalten sahen wir öfters auch bei Läusen nach intracoelomaler Inokulation mit Organaufschwemmungen 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 gaben unsere Versuche keinen Anhalt. Diese oft beschriebenen Körnchen, die auch wir gesehen haben, ließen sich zwanglos mit einem körnigen Zerfall in Degeneration befindlicher Erreger erklären. In den Passageserien 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 Spirochaetennachweis 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

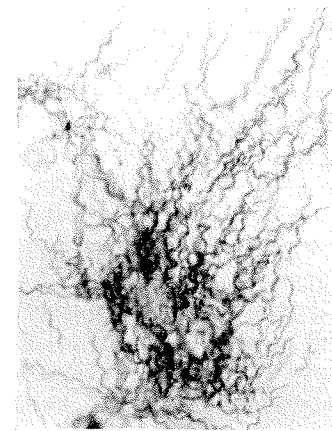


Abb. 5

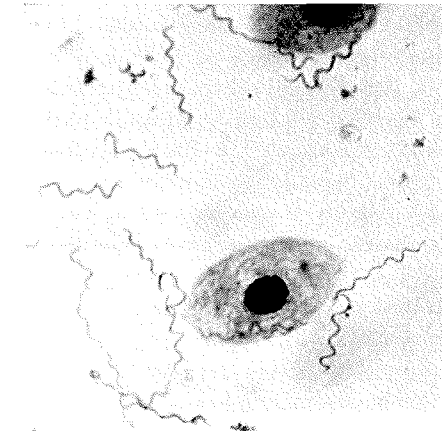


Abb. 6

Abb. 5. *B. duttoni*, St. Ifakara, aus der Hämolymphe der Laus nach rectaler Inokulation mit Mäuseblut. Versuchs-Nr. 3092, 18. Tag nach der Inokulation. Spirochaetenknäuel. Abb. 6. *B. duttoni*, St. Ifakara, 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 Wirtsspezifität der Kleiderlaus weiter zu untersuchen, haben wir die Spirochaeten auch auf Schweineläuse (*Haematopinus suis*) übertragen. Nach intracoelomaler Inokulation fanden wir unter 13 Läusen bis zum 3. Tag, als der Versuch aus äußeren Gründen abgebrochen werden mußte, nur bei einer der Läuse vereinzelte unbewegliche, sich mit Giemsa lösung schwach färbende Spirochaeten, die sich im Stadium des Zerfalls befanden. Nach rectaler Inokulation zeigten bis zum 6. Tag 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 Hämolymphe auf Mäuse geprüft. Solche Infektionen fanden statt z. B. am 7. (3263), 8. (3178 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) vorgenommen<sup>1</sup>. 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 intracoelomal und rectal geimpft (3120 und 3121). Unter den rectal inokulierten Tieren hatten sich nach 3 Tagen bei 3 von 4 Läusen 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 Zerreibung 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 Hämolymphe 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 Hämolymphe der Laus, noch bei denen aus dem Mäuseblut gesehen.

Der Versuch der rectalen Infektion von Läusen wurde wiederholt mit Spirochaeten, die schon längere Zeit durch intracoelomale Passagen gegangen waren (Tab. 3, 3305). Unter 28 geprüften Läusen 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 eingebüßt. Dieser Eindruck wurde allerdings abgeschwächt durch einen Versuch der natürlichen Infektion von Läusen (3316). In diesem Fall hatten die Spirochaeten nach monatelangem 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 Läusen enthielten 12 in der Hämolymphe Spirochaeten, während bei Übertragung des Mäuseblutes ins Coelom (3325) Spirochaeten in 17 von 19 Läusen 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

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

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 Ifakara 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. Ifakara vom 20. 10. 52 datierte<sup>1</sup>. In beiden Versuchen ging die Infektion bei den Mäusen des Stammes Itete nicht an, d. h. die Tiere waren immun, während die Ifakara-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 Läusen der 14., 15. und 16. Passage infiziert worden waren, wurden Zecken (*Ornithodoros moubata*) zum Saugen angesetzt. Die 4 Zecken des ersten Versuches wurden nach 40 resp. 41 Tagen verarbeitet. In der Hämolymphe ließen sich mikroskopisch keine Spirochaeten nachweisen. Durch Übertragung der emulgierten 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 moubata* 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 Coxalflüssigkeit 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. Sergeant (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 Anstechen 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 intracoelomalen Inokulation vergleichbar ist. Die Vermehrung der Spirochaeten im Wanzencoelom hielt sich in bescheidenen Grenzen. In Weiterführung dieser Versuche arbeiteten Kleine 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 vom 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

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



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.

Morisita (1938) arbeitete mit einer *Liponyssus*-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. rudis* 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 Wirtszecken. Die Spirochaeten von *O. talaje* konnten sich lediglich in *O. rudis* 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 Versuchsserien 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 Ansiedlung 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 werten die Änderung jedoch nicht als Mutation, sondern sehen 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 Darmlumen 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 Darmlumen treten anfangs vereinzelt, später in verstärkter Zahl Involutionen 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 6½ 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

die Speicheldrüse noch die Ovarien werden befallen. Eine Übertragung kann deswegen lediglich bei einer Verletzung der Laus vermittle 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 intracoelomale Inokulation mit spirochaetenhaltigem Mäuseblut.
- Die Spirochaeten konnten sich in den Läusen ohne weiteres halten und vermehren. Nach rectaler Inokulation trat die Besiedlung des Coeloms nicht mit solcher Regelmäßigkeit ein, wie nach intracoelomaler Inokulation, bei der praktisch alle Läuse positiv wurden.
- Die Vermehrung der Spirochaeten war besonders nach intracoelomaler 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 Beimpfung 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 intracoelomale 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 Läusepassagen unverändert.

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

#### Summary

- Pediculus vestimenti* was infected with three strains of *B. duttoni* either by feeding on mice or by rectal or intracoelomic inoculation with the blood of mice.
- Whereas intracoelomic inoculation was followed in each instance by an abundant multiplication of the spirochetes in the hemolymph, the celoma was not regularly invaded by those spirochetes which had entered the lice through feeding or by rectal inoculation.
- After intracoelomic inoculation spirochetal growth was so vigorous that already within a few days the celomic 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 celoma. 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 intracoelomic 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, 1948. — Baltazard, M., M. Bahmanyar, A. Habibi, Ch. Mofidi u. B.

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 Bikié (Congo français). - Ann. Hyg. Méd. Colon. 17, 81—86, 1914. — Boiron, H.: Transmission par le pou de *Spirochaeta duttoni* var. *crocidurae*. - 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 *Ornithodores 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 Infektionsverlaufes 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. — Feng, 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'Jg. 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. Schiffs- u. Tropenhyg. 38, 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. Parasitic 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 musaraigne 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: Étude comparative de quelques virus récurrents, pathogènes pour l'homme. - Arch. Inst. Past. Tunis 16, 123—206, 1927 b. — Nicolle, Ch., L. Blaizot 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 chien (*Rhipicephalus sanguineus*). - C. r. Acad. Sci. Fr. 197, 717—718, 1933. — Sofiev, 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 Parasitic Dis. 15, 81—84, 1946.

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