Zeitschrift: Acta Tropica

Herausgeber: Schweizerisches Tropeninstitut (Basel)

Band: 16 (1959)

Heft: 3

Artikel: Zum Organotropismus der Spirochaete B. duttoni gegenüber der übertragenden Zecke

Autor: Sarasin, Gedeon

DOI: https://doi.org/10.5169/seals-310813

Nutzungsbedingungen

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

Conditions d'utilisation

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

Terms of use

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

Download PDF: 15.07.2025

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

Schweizerisches Tropeninstitut Basel.

Zum Organotropismus der Spirochaete B. duttoni gegenüber der übertragenden Zecke.

Von Gedeon Sarasin.

Inhaltsverzeichnis.

I. Einleitung und Problemstellung 218

II. Material und Technik 220

1. Beschreibung des Zecken- und Spirochaetenmaterials 220
a) Herkunft 220
b) Züchtung und Versuchseignung der Spirochaeten . . . 221
c) Metereologische und jahreszeitliche Einflüsse 221
2. Versuchsanordnung 222

III. Resultate 225

1. Besiedlungsvorgang 225
a) Lokomotion der Spirochaeten 226
b) Latenzperiode 227
c) Wanderungsgeschwindigkeit der Spirochaeten 228
d) Zunahme der Besiedlung 230
e) Fassungsvermögen der Organe 230
f) Reinfektion infizierter Organe 232
g) Vermehrung der Spirochaeten in der Zecke 233
2. Attraktionsvermögen der verschiedenen Organe 234
a) Maximale Wirkungsdistanz der Organe gegenüber den Borrelien 234
b) Vergleich Coxalorgan-Speicheldrüse, jung und alt 238
3. Diskussion 238

IV. Literaturverzeichnis 240

V. Résumé. Summary 241

I. Einleitung und Problemstellung.

Schon viele Autoren befaßten sich mit dem Problem der Übertragung von *Borrelia duttoni* durch die Zecke *Ornithodorus moubata* und speziell auch mit der Besiedlung einzelner Zeckenorgane mit diesen Erregern. Eine chronologische Zusammenstellung ihrer Arbeiten findet sich bei Burgdorfer (1951). Wegen erheblicher Kontroversen in den Angaben dieser Autoren, die zudem oft nur einzelne Organe untersuchten, ist der ganze Problem-Komplex von diesem Autor nochmals gründlich untersucht worden. Er konnte den Weg, der von *Borrelia duttoni* im Zeckenkörper zurückgelegt wird, im Einzelnen verfolgen, ebenso die Übertragung auf den Warmblüter. Die speziellere Frage der transovariellen Übertragung von einer Zeckengeneration auf die andere ist von Geigy, Wagner und Aeschlimann (1954) [1] untersucht worden. Auf einzelne

[1] Vgl. auch Aeschlimann (1958) und Wagner (1958).

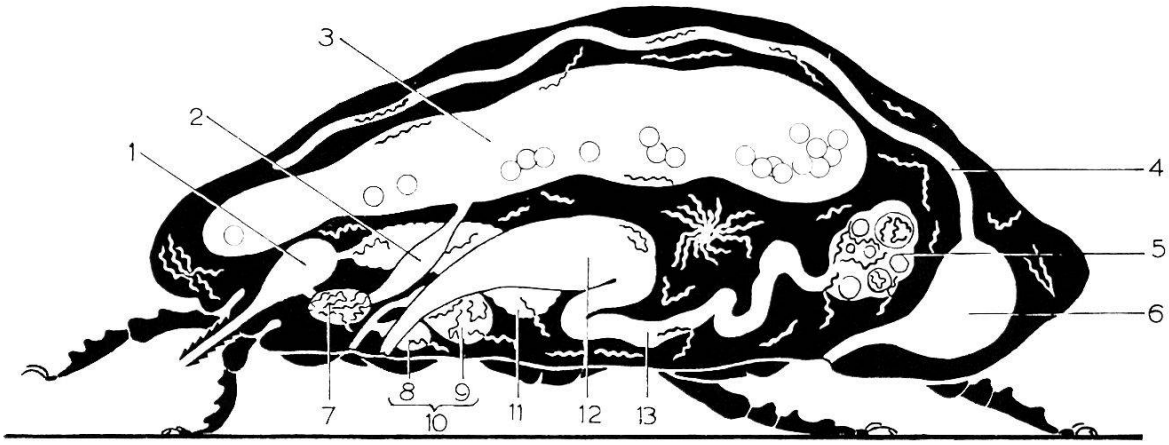

Abb. 1. Schema einer Zecke mit Bezeichnung der infizierten Organe.
1 = Pharynx, 2 = Oesophag, 3 = Mitteldarm, 4 = Malpighisches Gefäß, 5 = Ovar, 6 = Rectalampulle, 7 = Ganglion, 10 = Coxalorgan bestehend aus Filterorgan (9) und Drüse (8), 11 = Speicheldrüse, 12 = Uterus, 13 = Ovidukt. Haemolymphe in schwarz (nach BURGDORFER 1951).

Punkte dieser Arbeiten werde ich später noch zurückkommen. Auch im Warmblüter, wo sich die Spirochaeten hauptsächlich im Blut aufhalten, scheint eine Affinität zu gewissen Organen vorhanden zu sein. Sie werden dort fast immer im Gehirn angetroffen und oft auch in Milz und Leber (siehe z. B. DUBOIS und PEARSON 1939, GEIGY und SARASIN 1958). Für den Situs viscerum von *Ornithodorus moubata* verweise ich auf die Beschreibung von BURGDORFER (1951, S. 198, Abb. 3).

Beim Saugen an einem Rückfallfieber-kranken Menschen infiziert sich die Zecke mit den im Wirtsblut enthaltenen Erregern. Diese gelangen zuerst in den Mitteldarm, wo ein Teil von ihnen zugrunde geht. Die anderen arbeiten sich durch die Wand des Verdauungsorgans hindurch und gelangen so in die Haemolymphe. Diese erfüllt die Zwischenräume zwischen den Eingeweiden der Zecke, die übrigens oft verschwindend klein sind. Manche Organe werden vom stark aufgeblähten Darm sogar direkt berührt. Die Spirochaeten vermehren sich in der Haemolymphe und nehmen dann bald den Weg in die Organe, wo sie am dritten Tag nach der Blutmahlzeit erstmals festgestellt werden.

In BURGDORFERS Arbeit sind es vor allem zwei Punkte über die Besiedlung der Organe mit Borrelien, die hier besonders interessieren. Einmal können gesetzmäßige Unterschiede der Spirochaeten-Besiedlungsdichte in den verschiedenen Organen festgestellt werden. So ist zum Beispiel die Speicheldrüse im allgemeinen weniger stark infiziert als das Ovar. Auch nimmt der Befall der Speicheldrüse im Lauf der postembryonalen Entwicklung der Zecke ab. In ein und demselben Organ kann sich also die Aufnahmefähigkeit gegenüber Spirochaeten verändern.

Wenn sodann, wie es BURGDORFER in seinem «Glaskapillarentest» machte, feinste Glasröhrchen, die ein uninfiziertes Organstückchen enthalten, in die Coxa einer infizierten Zecke eingeführt werden, so dringt die Spirochaeten-haltige Haemolymphe in die Kapillare ein, und die Erreger besiedeln das dargebotene Organ massiv. Daraus kann gefolgert werden, daß die Borrelien von gewissen Organen angezogen werden. Die Intensität der Attraktion kann zwar je nach Organ verschieden sein; sie bewirkt aber auf jeden Fall, daß die in der Umgebung liegenden Spirochaeten zum Eindringen veranlaßt werden. Es liegt nahe, diese als Organotropismus bezeichnete Erscheinung auf stoffliche Grundlagen zurückzuführen.

Ob die Spirochaeten in den Organen so gute Verhältnisse vorfinden, daß

sie sich dort vermehren können, ist noch nicht bekannt. Jedenfalls geschieht die Besiedlung primär durch Anziehung von Spirochaeten aus der Haemolymphe und höchstens sekundär durch Teilung im Gewebe.

Mit BURGDORFERS Methode war es nicht möglich, größere Abstände zwischen den Organen und der Spirochaetenquelle zu wählen und zu prüfen, ob die Zeckengewebe auch auf Distanz wirksam sind. Meine Aufgabe war daher, eine Versuchsanordnung zu finden, die die Abklärung dieses Punktes sowie möglichst viele Aussagen über die Wirkungsweise erlaubte.

Zum Begriff Organotropismus sei hier folgendes erwähnt: Wir verstehen darunter die bei Krankheitserregern häufig beobachtete Erscheinung, daß zyklisch übertragene, pathogene Mikroorganismen eine besondere Affinität zu bestimmten Organen sowohl des Warmblüters als des Arthropodenvektors zeigen. So finden wir, kurz nachdem solche Erreger durch den infizierenden Biß in die Blutbahn injiziert worden sind, Ansammlungen derselben in Leber, Milz, Gehirn oder anderen inneren Organen. Gegengleich bilden sich im Arthropoden-Zwischenwirt Erregerkonzentrationen in Darmteilen, Speicheldrüsen und anderen Organen.

Wenn nun hier zum Studium dieser interessanten Erscheinung Spirochaeten gewählt worden sind, so vor allem auch deshalb, weil sie im Gegensatz zu den mikroskopisch nicht, bzw. kaum sichtbaren Viren und Rickettsien und den so rasch beweglichen Haemoflagellaten ein relativ leicht beobachtbares Objekt (Länge 20—25 μ) darstellen.

Diese Untersuchungen wurden unter der Leitung meines hochgeschätzten Lehrers, Prof. R. GEIGY, am Schweizerischen Tropeninstitut in Basel durchgeführt. Ich möchte ihm an dieser Stelle meinen herzlichen Dank aussprechen für die Anregungen und das meiner Arbeit stets entgegengebrachte große Interesse. Zu besonderem Dank bin ich ihm auch verpflichtet, daß er mir stets Material in unbeschränkter Menge zur Verfügung stellte.

II. Material und Technik.

1. Beschreibung des Zecken- und Spirochaetenmaterials.

a) Herkunft.

Die für diese Arbeit verwendeten Zecken stammen aus einer der Zuchten des Schweizerischen Tropeninstitutes. Sie wurden gehalten nach der Methode, die bei GEIGY und HERBIG (1955, S. 335) und AESCHLIMANN (1958, S. 17) beschrieben ist. Ich benützte die Nachkommen von Individuen, die Prof. GEIGY 1954 in Süd-Tanganyika in Warzenschweinlöchern gesammelt hatte, weil es sich hier mit Sicherheit um Spirochaeten-freie Tiere handelte (vgl. GEIGY und MOOSER 1955, S. 340). Allerdings hätte die versehentliche Verwendung einer infizierten Zecke die Beurteilung nicht beeinträchtigt, indem sich nämlich Zecken-Spirochaeten bei einiger Übung leicht von den direkt aus dem Säuger stammenden Blut-Spirochaeten unterscheiden lassen an ihrer schlanken Gestalt und den engeren Windungen. Zudem zeigen sie die für die Blut-Spirochaeten im Dunkelfeldmikroskop charakteristische Doppelkontur im allgemeinen nicht. Ich werde anläßlich der Beschreibung der Spirochaeten-Bewegung noch einmal auf diese wichtige Feststellung zurückkommen müssen (S. 226).

Obwohl diese Buschzecken in der Natur nicht infiziert sind, sind sie ebenso empfänglich für *Borrelia duttoni* wie die Hüttenzecken. Ihre Gewebe konnten somit unbedenklich für diese Untersuchungen über den Organotropismus ver-

wendet werden. Sofern in den nachfolgend zu schildernden Versuchen nichts anderes bemerkt ist, wurde darauf geachtet, daß es sich bei den Versuchstieren um relativ junge Adultzecken handelte, die weder frisch gefüttert waren noch allzulange gefastet hatten. Der Stamm von *Borrelia duttoni*, mit dem ich meine Versuche machte, wurde auf den 1954 gesammelten Zecken aus Itete in Süd-Tanganyika nach Basel gebracht. Seither wurde er zyklisch gehalten, d. h. alternierend auf Zecken und weißen Mäusen. Es handelt sich dabei um den bei GEIGY und AESCHLIMANN (1937) als P_3 bezeichneten Stamm.

b) Züchtung und Versuchseignung der Spirochaeten.

Zur Übertragung der Spirochaeten auf weiße Mäuse wurden ganze, infizierte Zecken in 3%iger Natrium-Citrat-Lösung zerrieben. Diese Aufschwemmung wurde den Mäusen intraperitoneal verabreicht. Nach vier bis fünf Tagen treten die ersten Spirochaeten im peripheren Blut auf. Wenn man Mäuse mit sehr geringen Dosen Spirochaeten-haltigem Blut inokuliert, kann man die Erreger lange Zeit durch Mäusepassagen halten (siehe z. B. MOOSER 1958), es ist aber nicht möglich, größere Mengen von Erregern zu bekommen. Da mir nun aber speziell an der Züchtung großer Spirochaetenmengen gelegen war, inokulierte ich jeweils sehr hohe Dosen (bis 0,5 ccm infiziertes Blut), und zwar alle zwei statt alle drei Tage. Dadurch kann der Spirochaetenbefall des Blutes enorm verstärkt werden. In diesem Fall zeigen die Mäuse bereits nach 48 Stunden auch äußerlich erkennbare Befallssymptome. Zu diesem Zeitpunkt können nicht selten schon mehr als 50 Spirochaeten pro Blickfeld bei 750facher Vergrößerung (Mikroskop Wild M 10, Objektiv 50, Okular 10, Tubus mit Faktor 1,5) in einer einschichtigen Erythrocytenlage gezählt werden, schon nach 24 Stunden 10 und mehr, so daß also die Inkubationszeit außerordentlich verkürzt ist. Diese künstlich forcierte Vermehrungsfähigkeit hat zwar den Vorteil, daß man mit großen Spirochaeten-Konzentrationen arbeiten kann, was für meine Versuche notwendig war. Auf der anderen Seite zeigt sich jedoch die bemerkenswerte Tatsache, daß solche massiv inokulierte Spirochaeten schon in der dritten Woche nach dem Übergang von der Zecke auf die Maus wohl noch sehr zahlreich sind, aber schon nicht mehr genügend organotrop für unsere *in vitro*-Versuche. Vom 20. bis 25. Tag an verlieren sie zudem noch ihre Vermehrungsfähigkeit im Mäuseblut, so daß eine Überimpfung gar nicht mehr möglich ist. Dieses Phänomen wiederholte sich mit absoluter Regelmäßigkeit.

Um konstante Versuchsbedingungen zu bekommen, durften erstens nur Spirochaeten verwendet werden, die aus den Passagen der zweiten Woche nach dem Übergang von der Zecke auf die Maus gewonnen worden waren, und zweitens mußte darauf geachtet werden, daß im Mäuseblut 10—30 Spirochaeten pro Blickfeld vorhanden waren. Die Zeit zwischen 24 und 30 Stunden nach Beginn einer Passage erwies sich als bester Moment für die Entnahme des Blutes, da die Spirochaeten gerade dann maximalen Organotropismus zeigten.

c) Meteorologische und jahreszeitliche Einflüsse.

Während der Organotropismus der Spirochaeten von kleinen Luftdruckschwankungen der Atmosphäre scheinbar unabhängig war, konnte doch immer wieder beobachtet werden, daß sich die Erreger bei starkem Barometerfall in der Maus enorm stark vermehrten, gleichzeitig aber im Attraktionsversuch, d. h. *in vitro*, nur noch geringe oder gar keine Reaktionsfähigkeit mehr zeigten. Diese Beobachtungen basieren ausschließlich auf Barometerablesungen im Laboratorium.

Außer diesen meteorologisch bedingten können auch saisonmäßige Schwankungen in der Spirochaetenvermehrung festgestellt werden. Während von Oktober bis ungefähr im Mai die Mäuse leicht und regelmäßig infizierbar sind, muß man im Juni bis September ungefähr die doppelten Spirochaetenmengen injizieren, um auch nur einigermaßen brauchbare Infektionen zu erhalten. *In vitro* war dann auch der Organotropismus deutlich geschwächt. Im Sommer 1957 war es mir überhaupt nicht mehr möglich, hinreichende Infektionen für meine Versuche zu erhalten. Es scheint also, daß die Erscheinung des Organotropismus abhängig ist von der Vermehrungsfähigkeit der Spirochaeten; ist dieselbe übersteigert oder empfindlich geschwächt, so verlieren die Spirochaeten auch mehr oder weniger ihre Fähigkeit, auf Zeckenorgane anzusprechen.

Es ergibt sich aus dem Gesagten, daß bei der Bereitstellung von Spirochaeten-Material, das sich für unsere *in vitro*-Versuche eignete, ganz bestimmte Vorsichtsmaßnahmen beobachtet werden mußten. Man hätte an sich auch vorziehen können, die Spirochaeten aus den Zecken zu gewinnen. Es erwies sich aber als unmöglich, dieselben von den Organen zu trennen, da sie wohl nicht nur mechanisch, sondern eben auch physiologisch an dieselben gebunden sind. Zudem schien es, wie aus der Versuchsanordnung noch hervorgehen wird, als günstig und den natürlichen Verhältnissen viel eher entsprechend, die Spirochaeten in Mäusemedium auf Organe ansprechen zu lassen, die sich in einem Zeckenmedium befinden. Dasselbe trifft ja auch im Normalfall zu, wenn die in der Blutmahlzeit enthaltenen Borrelien aus dem Darm in die Haemolymphe und Organe der Zecke übergehen.

Im folgenden Kapitel soll nun das *in vitro*-Dispositiv sowie die Zusammensetzung des darin zur Auswirkung kommenden Zecken- und Mäusemilieus geschildert werden.

2. *Versuchsanordnung.*

Es erübrigt sich, hier auf die zahlreichen, langwierigen Vorversuche einzugehen, die zum Ziel hatten, Zeckenorgane und Spirochaeten auf Spezialobjektträgern oder im hängenden Tropfen zu kultivieren. Alle diese Dispositive erwiesen sich als ungeeignet, weil sie erstens keine klare Trennung des Zecken- und des Mäusemediums erlaubten und weil außerdem nicht einmal eine qualitative, geschweige denn eine quantitative Kontrolle des Organbefalls möglich war. Schließlich gelangte ich zu folgender Versuchsanordnung.

Die auf ihr Attraktionsvermögen auszutestenden Organe wurden in einer mit Coxalflüssigkeit gefüllten Kapillare dargeboten. Diese Flüssigkeit wird von der Zecke kurz vor Beendigung des Saugaktes aus dem Coxalorgan nach außen abgegeben [2]. Soweit deren Zusammensetzung bis jetzt abgeklärt ist, besteht sie in erster Linie aus Wasser, in welchem Mineralsalze, besonders Chloride, gelöst sind und das auch wenige Proteine (zyklische Peptide) enthält. Da ich in diesen Versuchen die Coxalflüssigkeit zudem im Autoklaven sterilisierte, sind die Proteinspuren von vorneherein eliminiert worden. In älteren Arbeiten (z. B. von Kuenssberg 1911) wird ihr eine antikoagulierende Wirkung zugeschrieben. Es scheint mir aber auf Grund eigener Beobachtungen, daß diese vermeintliche Eigenschaft eher auf dem die Eiweißlöslichkeit fördernden Salzgehalt beruhen dürfte. Es galt nun noch zu prüfen, ob die Coxalflüssigkeit an sich attraktiv auf die Spirochaeten wirkt. Dementsprechende Versuche mit Kapillaren, die keine Testorgane, sondern nur sterile Coxalflüssigkeit enthielten, verliefen ausnahmslos negativ. Somit war das geeignete Zeckenmedium ge-

[2] Über die Funktion des Coxalorgans siehe Boné (1943) und Lees (1946).

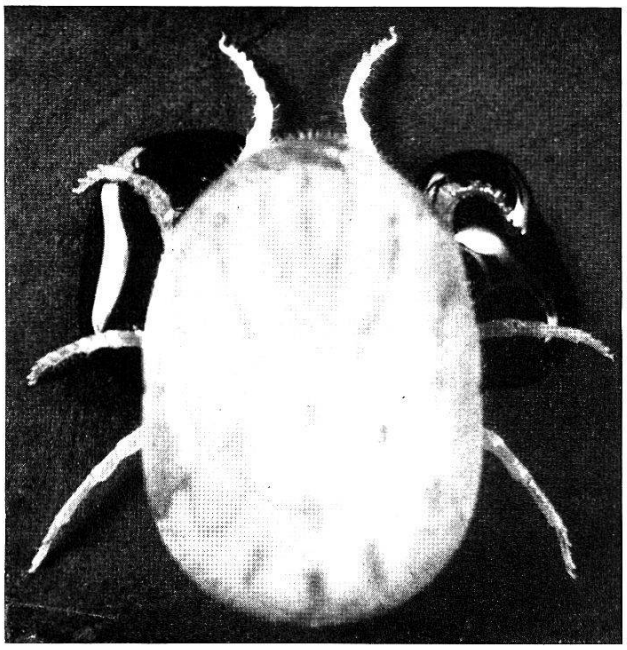

Abb. 2. Zecke, während Abgabe der Coxalflüssigkeit (aus BURGDORFER 1951).

funden. Es muß aber gleich beigefügt werden, daß es sich bei der Coxalflüssigkeit nicht um eine Nährlösung, sondern lediglich um ein Erhaltungsmilieu, eine Art «Zecken-Ringer» handelt, in welcher die Testorgane sowohl als die Spirochaeten während höchstens 48 Stunden am Leben bleiben. Die Haltungsdauer wurde zudem durch den Sauerstoffmangel beeinträchtigt, der sich in der Kapillare bald bemerkbar macht. (In der Zecke sind besonders das Ganglion und die Coxalorgane reich mit Tracheen versorgt.) Als Nährmilieu hätte man viel eher an *Ornithodorus*-Haemolymphe denken können, doch kam diese leider nicht in Betracht, da sie außerhalb des Zeckenkörpers sehr rasch koaguliert.

Die Versuchsdauer war auf die kurze Zeit beschränkt, während welcher die Organe noch ihre volle Aktivität behielten und lag bei den vorliegenden Versuchen zwischen 2 und 30 Stunden.

In Anbetracht dieser relativ kurzen Haltungsdauer innerhalb der Kapillare erübrigte es sich auch, komplizierte Medien für die Spirochaeten außerhalb derselben anzuwenden, wie sie etwa bei CHORINE (1942), CHORINE und CROUGUE (1943) beschrieben sind. Die Borrelien wurden, wie schon erwähnt, nicht in einem Zecken- sondern in einem Säugermilieu der von den Organen ausgehenden Wirkung ausgesetzt. Ich wählte hiefür eine Mischung von Mäuseblut und der bekannten Nährlösung TC 199, die besonders für Gewebekulturen und Viruszüchtung verwendet wird. Die Spirochaeten ließen sich darin tagelang halten. Dies entspricht auch eher den natürlichen Bedingungen in der Zecke, wo die Spirochaeten ebenfalls aus dem Säugermedium, d. h. aus dem mit Säugerblut gefüllten Darm in das Arthropodenmilieu einwandern.

Auf der Abbildung 3 wird in a ein Schema der Versuchsordnung gezeigt. In einen sterilen Glasbehälter wird zuerst TC 199 eingegossen und sofort mit Paraffinöl überschichtet, um die Sterilität zu erhalten. Sodann wird das infizierte Mäuseblut mit der für die Entnahme aus der Maus benützten Injektionsnadel direkt als Bodensatz der TC 199-Lösung zugegeben. Nach wenigen Minuten sammeln sich die Spirochaeten über der Kontaktfläche zwischen Erythrocyten und TC 199. Nun wird eine abgewinkelte Kapillare mit Plastilin so am Rande des Behälters befestigt, daß ihre den Organteil enthaltende waagrechte Strecke genau in die Spirochaetenschicht zu liegen kommt und darin aus-

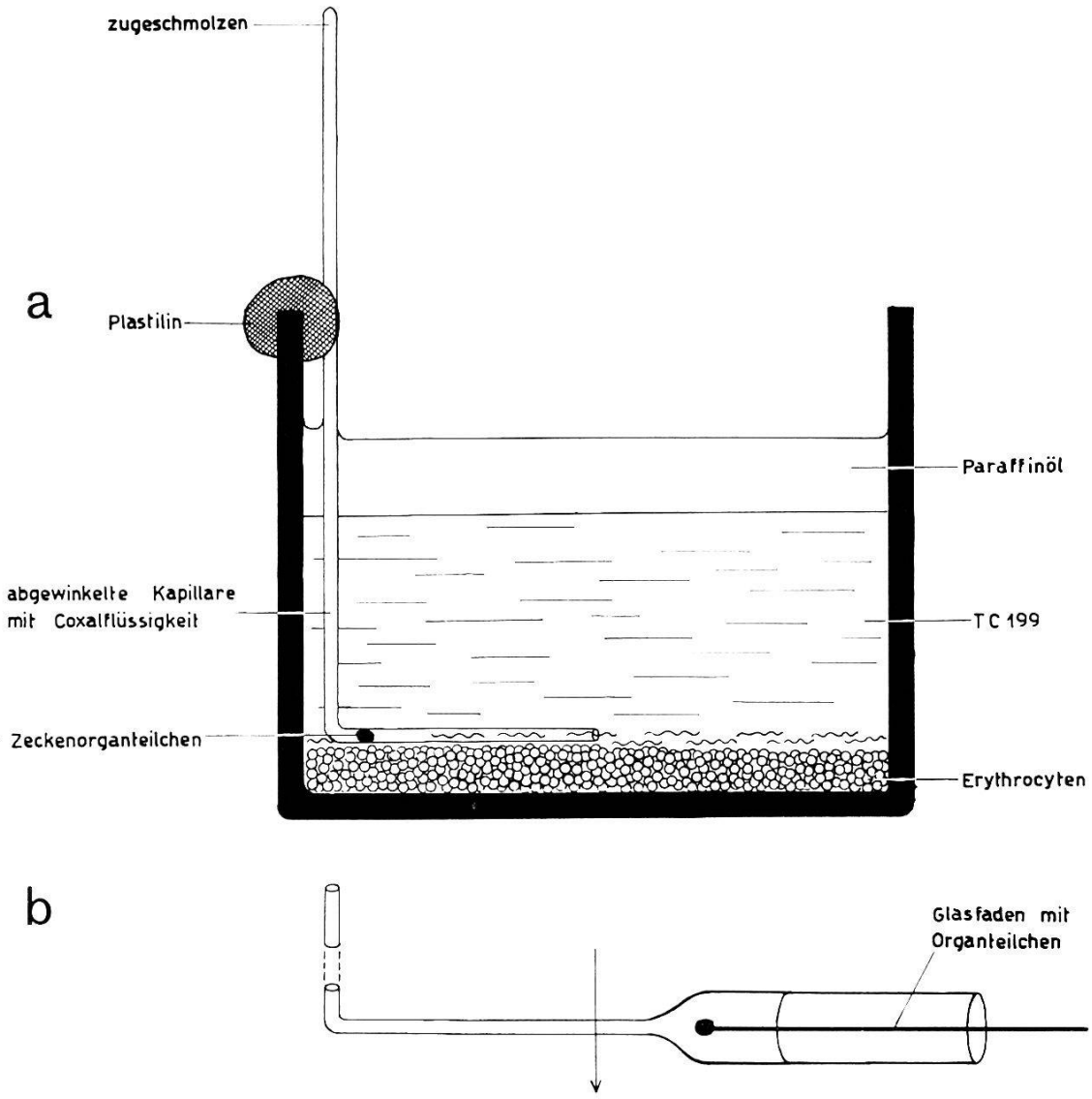

Abb. 3. Schema der Versuchsanordnung (nach GEIGY, R. & SARASIN, G. 1958).

mündet. Die Kapillare bildete ursprünglich die in rechtem Winkel abgebogene Spitze einer Pipette (Abb. 3 b), in welche Coxalflüssigkeit aufgesaugt wurde; durch den Pipettenteil wurde sodann auf einem Glasfaden das auszutestende Organteilchen (Ovar, Ganglion, Speicheldrüse, Coxalorgan) eingeführt und innerhalb des waagrechten Kapillarteils in die gewünschte Position gebracht. Sodann schmolz man das Kapillarenende zu und schnitt die Pipette beim Pfeil ab. Damit erhielt man eine vollständig gefüllte Kapillare mit einem je nach Schnittstelle beliebig wählbaren Abstand zwischen Organ und Mündung. Die waagrechte Lagerung der Kapillare ist deshalb nötig, da ich feststellte, daß sich Spirochaeten in einer Flüssigkeit nicht senkrecht oder schräg nach oben bewegen können, indem sie bei ihrer stoßweisen Schraubenbewegung immer wieder zurücksinken. Durchaus möglich ist ihnen jedoch eine waagrechte Lokomotion über die Erythrocytenschicht in die Kapillare und über die Kapillarwand hinweg.

Wie schon erwähnt, erwiesen sich die Spirochaeten am aktivsten, wenn das infizierte Blut den Mäusen ca. 24 Stunden nach der Überimpfung entnommen wurde. Es muß jedoch hinzugefügt werden, daß auch in diesem Fall ca. 90% der Spirochaeten schon nach wenigen Stunden stark an Aktivität verlieren. Gerade weil nur die restlichen, aktiven Spirochaeten für die Versuche in Frage

kommen, mußte ich auch so stark infizierte Mäuse verwenden. Für die Auswertung der Versuche wurden die Kapillaren dem Gefäß entnommen, die Organteilchen herausgeblasen, kurz in 3%iger Natrium-Citrat-Lösung ausgewaschen zwecks Eliminierung an den Organen haftender Spirochaeten und zu einem Quetschpräparat verarbeitet. In diesem wurden nun unter dem Dunkelfeldmikroskop die eingedrungenen Spirochaeten festgestellt und ausgezählt. In jedem getesteten Organstückchen, die unter sich natürlich nicht immer gleich groß waren, wurde bei der Auszählung jeweils die Zahl der pro 15 Blickfelder vorhandenen Spirochaeten notiert.

Es sei hier noch beigefügt, daß alle Versuche bei 28° C durchgeführt wurden und nicht bei 37° C, da es sich auf Grund vergleichender Versuche zeigte, daß die Spirochaeten *in vitro* bei dieser Temperatur länger aktiv waren.

Um dem Leser einen Begriff über den Umfang der Versuche zu vermitteln, ist jeweils hinter den Überschriften der einzelnen Kapitel angegeben, wieviele Organteilchen in den betreffenden Versuchsserien ausgewertet worden sind. Dagegen haben wir uns bei der Publikation von Versuchsprotokollen auf ein detailliertes und zwei zusammenfassende Beispiele beschränkt (siehe Tabellen 1—3). Die vielen Vor- und Fehlexperimente, welche schließlich zum hier verwendeten Versuchsdispositiv geführt und die sich über annähernd zwei Jahre erstreckt haben, sind dabei nicht mitgezählt.

III. Resultate.

1. Besiedlungsvorgang.

Bei der Anordnung der Versuche ging ich von Anfang an davon aus, daß die Besiedlung durch eine Attraktionswirkung zustande kommt. Daß diese Annahme richtig war, werden die Versuchsergebnisse zeigen, wenn auch nicht ganz ausgeschlossen werden darf, daß die Zeckenorgane wahrscheinlich in gewissen Fällen, die weiter unten zu erwähnen sind, zusätzlich eine Rolle als Nährböden für die Spirochaeten spielen könnten. Dies kann allerdings bei dieser Versuchsanordnung nicht aufgezeigt werden.

Anfänglich war es schwierig, sich eine Vorstellung der Dauer der Versuche zu machen; denn, wie schon erwähnt, waren wohl Angaben vorhanden über die Zeit, die die Spirochaeten brauchen, um *in vivo* aus dem Innern des Darms in die Organe der Zecke zu gelangen. *In vitro* waren jedoch die Verhältnisse so stark verändert, daß es schwierig war, zu entscheiden, ob diese Werte auch hier anwendbar waren oder nicht. Einerseits war im Experiment keine Darmwand vorhanden, so daß die Spirochaeten die Organe direkt erreichen konnten, ohne vorerst das Hindernis der Darmwand durchqueren zu müssen. Auf der anderen Seite aber wurde der Abstand zwischen den Spirochaeten und den zu besiedelnden Organen von Bruchteilen eines Millimeters auf mehrere Millimeter, d. h. auf das Vielfache der natürlichen Distanzen, erhöht. Wegen dieser großen Abstände wurden die Kapillaren der ersten Versuche

erst nach ziemlich langer Zeit zur Kontrolle herausgenommen. Erst allmählich stellte sich heraus, daß die Organteilchen in den Kapillaren recht schnell besiedelt werden, was die nächsten Abschnitte zeigen werden.

a) Lokomotion der Spirochaeten.

Leider war es bei der hier angewendeten Versuchsanordnung nicht möglich, die Penetration der Spirochaeten in das Gewebe direkt zu beobachten. Bei der Kontrolle von Quetschpräparaten sieht man jedoch, daß Spirochaeten oft vergeblich versuchen, sich in glatte Flächen einzubohren. Obwohl ihr Korkzieher-förmiger Körper sehr rasch und ständig um die eigene Längsachse rotiert, genügt dessen Stoßkraft im allgemeinen nicht, um feste Zellwände zu durchbohren. Eine Ausnahme bildet wohl die Oocyte, in die sie eindringen und in deren halbflüssigem Inneren sie sich relativ frei vorwärtsbewegen (einzige intrazelluläre Phase!). Es ist bei den Spirochaeten weder morphologisch noch biologisch möglich, ein Vorder- und ein Hinterende zu unterscheiden, da sie bei ihrer Fortbewegung beide Enden abwechslungsweise als Vorderpol benützen, was aus einer Umkehr des Rotationssinns resultiert. Jede Unebenheit oder Lücke in der Oberfläche eines Organs erlaubt ihnen, sich festzuhaken und so lange zu bohren, bis sie eindringen können. Sobald dies erreicht ist, gelingt es ihnen dank ihrer Schraubenbewegungen sehr leicht, sich zwischen den Zellen der Organe durchzudrängen und immer weiter vorwärts zu stoßen. Diese interzelluläre Fortbewegungsweise über weite Strecken kann besonders gut in dicken Präparaten beobachtet werden, wo die Zellen noch intakt sind.

Ganz anders ist die Lokomotion in Flüssigkeiten. Vom natürlichen Blutstrom werden sie selbstverständlich auf weite Strecken mitgerissen, bis sie an irgendeiner stagnierenden Stelle erfolgreiche Eindringungsversuche unternehmen können. Wesentlich verschieden ist die Situation in einer ruhenden Lösung, wie sie zum Beispiel unser Dispositiv bietet. Hier sammeln sich zunächst die Spirochaeten in der Grenzschicht zwischen der Ansammlung fester Blutkörperchen und der TC 199-Lösung. Sie vollführen hier ihre Spiralbewegung, dank der sie sich über «Bodenunebenheiten» hinwegschrauben, ohne aber in der Lage zu sein, sich aufwärts frei durch die Flüssigkeit zu bewegen.

Hier muß man sich nun wieder an die unter «Material und Technik» zu findende Erwähnung (S. 220) erinnern, daß morphologisch zwischen den dicken, lockerer spiralisierten, im Dunkelfeld doppelt konturierten Blutformen von *Borrelia duttoni* und den

schlanken, satter gewundenen, normalerweise einkonturigen Formen in der Zecke unterschieden werden muß.

Wie die Umwandlung von der Blutform zur Zeckenform im einzelnen abläuft, konnten wir nicht beobachten; doch muß sie sich beim Übergang aus dem Darmsack in die Haemolymphe vollziehen. Desgleichen wird die Rückverwandlung von der Zecken- zur Blutform vor sich gehen, sobald die Spirochaeten bei der Übertragung via Coxalflüssigkeit oder Speichel in die Blutbahn des Säugers gelangen.

Durch unser Dispositiv wird nun insofern eine neue Situation geschaffen, als hier die Blutformen ohne Darmpassage in die Zeckenorgane eindringen. In unserem Falle findet die Umwandlung sicher erst dort statt, was besonders bei Doppelinfektionen (*in vitro*-Reinfektion bereits natürlich infizierter Organe) optisch sehr deutlich wahrgenommen werden kann (S. 232). Es ergibt sich daraus auch, daß *Borrelia duttoni* schon als Blutform zum Durchdringen von Zeckenorganen befähigt ist.

b) Latenzperiode

(Auswertung von 120 Organteilchen.)

Obwohl das Spirochaeten-haltige Blut in der beschriebenen Versuchsanordnung möglichst sorgfältig als Bodensatz zugegeben wird, ist es unvermeidlich, daß sich die Blutzellen im Verlaufe der ersten Stunden nach Versuchsbeginn noch ein wenig setzen. Darum muß die Lage der Kapillare nachträglich korrigiert werden, damit diese wieder in die Spirochaetenschicht eintaucht. Es konnte bald beobachtet werden, daß alle Versuche negativ verliefen, wenn dieses Nachschieben unterlassen wurde und die Mündung der Kapillare infolgedessen nur ein bis zwei Stunden mit den Spirochaeten auf der gleichen Höhe war. Von dieser Beobachtung ausgehend lag der Schluß nahe, daß eine Latenzzeit verstreichen müsse, bis die Wirkung des aus dem Organteilchen herausdiffundierenden Attraktionsstoffes an der Mündung der Kapillare für die Spirochaeten spürbar wird. Für zwei Organe, nämlich für das Ovar und das Ganglion, wurde die Länge dieser Latenzzeit möglichst genau bestimmt. Sie wurden gewählt, weil sie sich, wie noch gezeigt werden soll, in ihrer Attraktionsintensität in anderen Versuchen ziemlich stark voneinander unterscheiden.

Der Versuch wurde folgendermaßen durchgeführt: Es wurden Kapillaren, deren Organteilchen immer fünf Millimeter von der Mündung entfernt waren, den Spirochaeten ausgesetzt. In Intervallen von dreißig Minuten wurden jeweils drei Kapillaren herausgenommen und wieder in horizontaler Lage in Paraffinöl gebracht,

damit Spirochaeten, die in diesem Moment bereits in die Kapillaren, aber noch nicht in die Organe eingedrungen waren, vor Verdunstung geschützt in diese einwandern konnten. Nach einigen Stunden wurden sodann die Organteilchen herausgenommen und kontrolliert. Dabei stellte sich heraus, daß die Latenzperiode für das Ganglion 2½ Stunden beträgt und für das Ovar 3½ Stunden. D. h. wenn man eine Kapillare mit Ganglion den Spirochaeten 2½ Stunden aussetzt, kann man im Organ keine Spirochaeten finden, auch wenn man nachher genug Zeit verstreichen läßt für die Einwanderung. Erst nach einer dreistündigen Expositionsdauer sind die ersten Spirochaeten feststellbar. Wie wir noch zeigen werden (S. 230), nimmt die Zahl der eingedrungenen Erreger mit zunehmender Expositionsdauer zu.

Schon dieses Ergebnis beweist drei Punkte: 1. Wenn die anziehende Kraft des Organs erst nach einer gewissen Zeit spürbar wird, so zeigt sich deutlich, daß die Attraktion auf der Abgabe eines Stoffes beruhen muß, der erst wirksam wird, wenn er durch die Flüssigkeitssäule in der Kapillare hindurchdiffundiert ist. Dieser Punkt wird später seine physikalisch-chemische Auswertung erfahren im Zusammenhang mit den Berechnungen von Prof. GRUEN (S. 239). 2. Die Tatsache, daß Versuche mit kurzer Expositionsdauer auch nach langer Wartezeit im Paraffinöl negativ bleiben, demonstriert klar, daß die Coxalflüssigkeit keine Spirochaeten anzieht. Dies wurde ja auch schon durch die Blindversuche (S. 222) bewiesen. 3. Läßt sich aus dem Beobachteten auch ableiten, daß ein zufälliges Hineingeraten der Spirochaeten etwa im Sinne eines mechanischen «Hineintorkelns», bevor der Attraktionsstoff wirksam ist, offenbar auszuschließen ist.

c) Wanderungsgeschwindigkeit der Spirochaeten

(Auswertung von 120 Organteilchen.)

Wenn man ein Spirochaetenpräparat ansieht, ist man anfänglich erstaunt über die ständige, intensive Beweglichkeit dieser Mikroorganismen. Normalerweise betrachtet man nur Präparate mit infiziertem Blut oder infiziertem Zeckengewebe. Die Spirochaeten leben also schon in ihrem bevorzugten Medium, und es ist kein dominanter Reiz vorhanden, der sie zur Fortbewegung in einer bestimmten Richtung veranlassen könnte. Darum sind ihre stoßweisen Bewegungen ungerichtet. Das hat zur Folge, daß nur kürzeste Strecken zurückgelegt werden, bevor wieder ein Richtungswechsel erfolgt, was eine Geschwindigkeitsmessung verunmöglicht. Es war mir jedoch in einem Objektträgerpräparat, in dem freie Spirochaeten der Wirkung eines Organs ausgesetzt wa-

ren, aufgefallen, daß die Spirochaeten, sobald sie von einem Punkte angezogen werden, sich nur noch in einer Richtung bewegen und daß die Lokomotion viel kontinuierlicher wird. Es entsteht auch der allerdings vielleicht subjektive Eindruck, daß nunmehr ihre Geschwindigkeit beträchtlich erhöht ist. Leider konnte diese Versuchsanordnung, wie schon erwähnt (S. 222), nicht beibehalten werden, da sie in verschiedener Beziehung mangelhaft war.

Mit dem definitiven Dispositiv war es nicht mehr möglich, die Wanderung der Spirochaeten direkt zu beobachten. Daher konnte die Geschwindigkeit nur indirekt und folglich auch nicht auf Minuten genau gemessen werden. Anstatt zu untersuchen, welche Strecke die Spirochaeten in einer gegebenen Zeitdauer zurücklegen, wurde festgestellt, wie lange sie brauchten, um eine gegebene Strecke zu durchwandern. Dazu kommt, daß diese Versuche im Dunkeln durchgeführt wurden, während die Spirochaeten bei der Beobachtung unter dem Mikroskop einen sehr starken Lichtreiz erhalten, der möglicherweise die Intensität ihrer Bewegungen beeinflußt. In Berücksichtigung des im letzten Abschnitt Gesagten kann als Wanderungsdauer also jene Zeitspanne angegeben werden, die von den Spirochaeten gebraucht wird, um ein Organ zu besiedeln, abzüglich der Latenzperiode. Um keine neuen Latenzzeitbestimmungen durchführen zu müssen, wurden für diese Versuche auch wieder fünf Millimeter als Distanz gewählt. Beim Ganglion wurde die Präsenz der ersten Spirochaeten im Organ nach einer Versuchszeit von 3½ Stunden festgestellt. Wenn man nun noch die drei Stunden abzieht, nach denen die ersten Spirochaeten bei den Latenzzeitmessungen entdeckt wurden, kommt man zum Ergebnis, daß sie die Strecke von fünf Millimetern in etwa einer halben Stunde, vorsichtiger ausgedrückt im Zeitraum zwischen einer und einer halben Stunde zurücklegen, da nämlich nur alle dreißig Minuten kontrolliert wurde.

Für das Ganglion wurde zwar eine Latenzperiode gefunden, die ungefähr um ein Drittel kürzer war als diejenige des Ovars (2½ gegenüber 3½ Stunden), die Wanderungszeit aber war bei beiden die gleiche. Deshalb schien es auch nicht so wesentlich, die Wanderungsgeschwindigkeit genau auf mm/Min. auszutesten. Wenn die Latenzzeit für das Ganglion kürzer ist als für das Ovar, so könnte dies auf einer Verschiedenheit des von den beiden Organen abgegebenen Reizstoffes beruhen oder aber auf einer verschieden intensiven Abgabe des selben Stoffes. Diese Frage ist noch nicht entschieden, obwohl eher an die zweite Möglichkeit gedacht wird. So oder so würde dies aber heißen, daß die Borrelien auf die beiden verschiedenen oder verschieden dosierten Attraktionsstoffe nur

unterschiedlich rasch ansprechen, dann aber das Ziel mit derselben Geschwindigkeit erreichen.

d) Zunahme der Besiedlung

(Auswertung von 36 Ganglienteilchen.)

Anschließend an das Problem der Latenzzeit stellte sich auch die Frage, wie schnell die Zahl der Spirochaeten in den Geweben zunimmt. Entsprechend den riesigen Spirochaetenmengen, die außerhalb der Kapillare zur Verfügung stehen, konnte man ein sehr rasches Anwachsen der Zahl der eingedrungenen Erreger vermuten. Dies tritt auch tatsächlich ein, wenn das Organteilchen ganz nahe der Mündung liegt, und damit nicht nur die Latenzperiode, sondern auch die zu durchwandernde Strecke wegfällt. Anders liegt der Fall bei fünf Millimeter Distanz. Ganglienstückchen, die fünf Millimeter von der Kapillaröffnung entfernt waren, wurden nach vier, sechs und acht Stunden kontrolliert. Bei der Auszählung zeigte sich aber, daß die Zunahme jetzt viel schwächer war. Während nach vier Stunden meist nur eine Spirochaete vorhanden war, wurden nach sechs Stunden durchschnittlich sechs derselben festgestellt und nach acht Stunden deren zwölf in fünfzehn Blickfeldern. Die Besiedlungsdichte in einer natürlich infizierten Zecke erreicht leicht fünfzig Spirochaeten pro fünfzehn Blickfelder. Der Grund für diese schwache Zunahme kann nicht mit Sicherheit angegeben werden. Er ist aber wahrscheinlich darin zu suchen, daß einmal, wie schon früher betont wurde, der Organotropismus der wenigsten Spirochaeten lange genug erhalten bleibt, um die Latenz- und Wanderungszeit zu überdauern. Zudem muß man annehmen, daß durch die Bewegungen der Spirochaeten im Versuchsgefäß so starke Strömungen entstehen, daß der aus der Kapillare herausdiffundierende Stoff wohl schon im kleinen Umkreis auf unterschwellige Werte verdünnt wird und so nur die in unmittelbarer Nähe befindlichen Spirochaeten erreichen kann.

e) Fassungsvermögen der Organe

(Auswertung von 96 Organteilchen.)

Daß die im letzten Abschnitt festgestellten, relativ niedrigen Spirochaetenzahlen schon an der Grenze des Fassungsvermögens lagen, war aus dem Vergleich mit normalen Zeckeninfektionen nicht anzunehmen. Es war also zu untersuchen, was für Erregermengen ein an der Kapillarmündung plaziertes Organ aufnehmen kann, d. h. also wenn es ohne Latenzzeit direkt auf die Spirochaeten einwirken kann. Obwohl man zu diesen Bestimmungen des

maximalen Fassungsvermögens die Organe auch direkt (ohne Kapillare) in das Versuchsgefäß hätte legen können, wurde doch wieder der Kapillarmethode der Vorzug gegeben, da die Organe sonst in der Erythrocytenmasse eingesunken wären und sich somit unter der Schicht größter Spirochaetendichte befunden hätten.

Getestet wurden das Ganglion, das Coxalorgan, das Ovar und die Speicheldrüse. Sie konnten bezüglich ihrer Reaktion gegenüber Spirochaeten in zwei Gruppen aufgeteilt werden. Die gleiche Einteilung ergab sich übrigens auch in den später zu beschreibenden Versuchen zur Ermittlung der maximalen Wirkungsdistanz (S. 234). Die erste Gruppe umfaßt das Ganglion und das Coxalorgan, welche sich beide sehr stark mit Erregern beladen. Dreißig und mehr Formen pro Blickfeld sind keine Seltenheit. Bei etwas dickeren Präparaten können ganze Netze oder Geflechte von Spirochaeten zustande kommen. Auffällig ist, daß man auch bei Durchsicht vieler Präparate immer ungefähr denselben Infektionsgrad feststellt. Auch sind zwischen den beiden Organen kaum Unterschiede festzustellen, wenn man auch manchmal den Eindruck erhält, das Coxalorgan sei etwas schwächer infiziert. Angesichts der unauszählbaren Spirochaetenmenge ist dies jedoch nicht mit Sicherheit zu entscheiden.

Auf der andern Seite stehen das Ovar und die Speicheldrüse, die sich allerdings nur bezüglich der Unregelmäßigkeit ihres Infektionsgrades vergleichen lassen. Das Ovar zeigt im allgemeinen eine mittelstarke Infektion, wobei die größten Spirochaetenzahlen immer in einzelnen Oocyten angetroffen werden. Daneben finden sich aber Fälle mit einem Infektionsgrad, der sogar denjenigen des Ganglions übertrifft. Die Oocyten sind dann so dicht mit Spirochaeten gefüllt, daß eine Zählung gar nicht mehr möglich ist. In einem Fall konnten sogar noch Knäuel und Zöpfe von Spirochaeten festgestellt werden, die an der Oberfläche der Oocyten angeheftet waren. Dieses Phänomen wurde schon von R. Koch (1906) beobachtet. Die Speicheldrüse ist meistens sehr schwach infiziert. Manchmal hat man sogar Mühe, Spirochaeten zu finden. Mittelstarke Infektionen kommen nur selten vor.

Anfänglich wurde bei diesen Versuchen noch eine Distanz von 1,5 mm eingeschaltet zwischen Organ und Kapillarmündung, in der Annahme, daß dieser kurze Weg nichts ausmache. Bei Ganglion und Coxalorgan war auch wirklich kein Unterschied festzustellen; aber Ovar und Speicheldrüse waren wesentlich schwächer infiziert als bei den Versuchen ohne Distanz.

Diese Unterschiede entsprechen nun recht genau den Verhältnissen in der infizierten Zecke. Auch dort ist das Ganglion regelmäßig infiziert, während der Infektionsgrad des Ovars großen

Schwankungen unterworfen ist. Dies gilt nicht nur von einer Zecke zur anderen, sondern auch in ein und demselben Organ findet man stark und schwach infizierte Stellen, was auch schon AESCHLIMANN (1958, Fig. 22, S. 46) ausführlich nachgewiesen hat. Den Infektionsgrad des Coxalorgans und der Speicheldrüse in der Zecke habe ich nur in wenigen Fällen untersucht. In diesen habe ich jedoch übereinstimmend mit BURGDORFER festgestellt, daß das Coxalorgan gut infiziert ist, während die Speicheldrüse nur wenige oder gar keine Spirochaeten aufweist. Die Resultate entsprechen auch denjenigen, die BURGDORFER mit seinem Glaskapillarentest erhalten hat. Auch er bekam gute Infektionen des Ganglions und des Coxalorgans und schwache oder gar keine Infektion der Speicheldrüsen. Die Unterschiede im Befall der Speicheldrüsen sind bei ihm weniger groß, was aber an Bedeutung verliert, wenn man die kleine Zahl seiner Versuche berücksichtigt.

f) Reinfektion infizierter Organe

(Auswertung von 40 Ganglienteilchen.)

Die Organe natürlich infizierter Zecken enthalten meistens viel weniger Spirochaeten als Organteilchen, die *in vitro* den Borrelien an der Kapillarenmündung direkt ausgesetzt wurden. Es stellte sich deshalb die Frage, ob sich infizierte Organe *in vitro* weiter aufnahmefähig zeigen, d. h. ob sie noch ihre volle Attraktionskraft besitzen. Für diese Versuche wurden Zecken ausgewählt, die schon lange infiziert waren, um sicher zu sein, daß die Spirochaeten genügend Zeit hatten, die Organe voll zu besiedeln.

Von den verwendeten infizierten Zeckenorganen wurde jeweils zuerst ein Teilchen untersucht zur Feststellung des Infektionsgrades. Zudem konnten bei den Versuchskontrollen die schon vorher vorhandenen Zeckenformen von den neu eingedrungenen Blutformen optisch leicht unterschieden werden (S. 227).

Um die oben aufgeworfene Frage zu beantworten, wurde nun ein Vergleich durchgeführt zwischen infizierten und uninfizierten Ganglien. Beide Organe erfuhren eine gleich starke Infektion mit Blutformen. Bei einer Distanz von nur 3 mm zum Beispiel wurden infizierte wie uninfizierte Organe mit Blutformen geradezu überschwemmt. Es besitzen somit die bereits infizierten Ganglien dieselbe Attraktionskraft wie die uninfizierten.

Wie kann aber diese zusätzliche Infektionsfähigkeit außerhalb der Zecke erklärt werden? Die verwendeten Zecken waren seit ungefähr einem Jahr infiziert und hätten also Zeit gehabt, ihre Organe bis zum Sättigungsgrad mit Spirochaeten aufzuladen. Dies

geschah aber *in vivo* nicht, sondern erst, als man diese Organe *in vitro* den Spirochaeten aussetzte.

Experimentell konnte diese Frage nicht weiter abgeklärt werden; auch ihre theoretische Erörterung begegnet großen Schwierigkeiten. Man könnte sich etwa vorstellen, daß im Zeckenkörper, wo nicht einzelne kleine Organteilchen, sondern ganze Organkomplexe, d. h. ein Paar Speicheldrüsen, ein Paar Coxalorgane und ein zentrales Ganglion, im vorderen Abschnitt dicht beieinander liegen, eine gewisse Konkurrenz zwischen diesen verschiedenen Attraktoren zustande kommt. Die Vorstellung, daß diese Konkurrenz eine vollständige Aufladung der Organe verhindern würde, läßt sich aber deshalb nicht halten, weil ja im Laufe eines Jahres nach jeder Blutmahlzeit immer wieder intensive Vermehrungsschübe im vorhandenen Spirochaetenvorrat stattfinden, wodurch schließlich genügend Erregermaterial vorhanden wäre, um eine Vollinfektion aller Organe zu garantieren. Es muß also angenommen werden, daß lange nicht alle aus diesen Vermehrungsperioden hervorgegangenen Borrelien am Leben geblieben und in die Organe eingedrungen sind. Degenerierende Spirochaeten können immer wieder angetroffen werden in der Haemolymphe und speziell auch in gewissen Organen (BURGDORFER, 1951; AESCHLIMANN, 1958). Es ist, als ob eine Art physiologischer Regulation des Gleichgewichtes der Organinfektionen stattfinden würde, über deren Natur wir aber nichts aussagen können. Organteilchen, die sich in der Kapillare, also außerhalb dieser Regulationswirkung, befinden, könnten dagegen eine uneingeschränkte Spirochaetenbesiedlung nicht mehr verhindern, womit die unterschiedliche Aufladung *in vivo* und *in vitro* erklärt wäre.

g) Vermehrung der Spirochaeten in der Zecke
(Auswertung von 32 Ganglienteilchen.)

Bei gewissen Versuchen, zum Beispiel bei der Bestimmung der maximalen Wirkungsdistanz und des Fassungsvermögens der Organe, war es unwichtig, zu wissen, wann die Spirochaeten am Ziel angekommen waren. Darum begnügte man sich in solchen Fällen damit, eine sicher hinreichende Versuchszeit zu wählen. Es blieb einzig die Frage offen, ob vor der Kontrolle am Ziel angekommene Erreger das Resultat vielleicht dadurch beeinflussen könnten, daß sie sich in der Zwischenzeit durch Teilung im Organ vermehrt hätten. Zur Abklärung dieses Sachverhalts wurden einige 5 mm lange Kapillaren, die mit einem Ganglienstückchen besetzt waren, sechs Stunden lang den Spirochaeten ausgesetzt. Darauf wurden sie herausgenommen und zur Hälfte sofort kontrolliert. Die

andere Gruppe der Organteilchen wurde in TC 199 verbracht und während 24 Stunden im Brutschrank aufbewahrt. Obwohl hier die Bedingungen besser waren als in der Kapillare, führte die sofort darauffolgende Kontrolle in keinem Fall zur Feststellung einer Zunahme der Spirochaeten. Es wurden auch keine Teilungsformen beobachtet [3]. Ein isoliertes Gewebestückchen stellt also offenbar keinen genügend günstigen Nährboden dar, um eine Vermehrung der Spirochaeten zu gewährleisten. Dieser Versuch, die attrahierenden Organe mit einem Nährboden zu vergleichen, also mit einem Milieu, das den Mikroorganismen in jeder Hinsicht zusagt und ihre Vermehrung gestattet, geht nun allerdings von der Annahme aus, daß in den Organen der lebenden Zecken überhaupt Spirochaetenvermehrung stattfinde, was außer in den Oocyten noch nicht beobachtet werden konnte. Regelmäßig nach jeder Fütterung der Zecken können dagegen in der Haemolymphe zahlreiche Teilungen beobachtet werden. Es ist also durchaus möglich, daß sich die Spirochaeten in den Organen überhaupt nicht oder nur relativ selten teilen, dort also eine Art Ruheperiode durchmachen und dann nach der Fütterung dem Gradienten der neu einströmenden Nährstoffe entgegenschwimmend in die Haemolymphe zurückkehren, um sich dort zu teilen. Dem ist höchstens entgegenzustellen, daß die Spirochaetennester, wie man sie im Ovar findet, eher wieder für eine Vermehrung an Ort und Stelle sprechen.

2. *Attraktionsvermögen der verschiedenen Organe.*

a) Maximale Wirkungsdistanz der Organe gegenüber den Borrelien

(Auswertung von 950 Organteilchen.)

Anfänglich hoffte ich, in absoluten Zahlen angeben zu können, über welche Distanz die Spirochaeten die vom Organ emittierten Attraktionsstoffe gerade noch wahrnehmen und dadurch zur Einwanderung veranlaßt werden können. Dies war aber deshalb nicht möglich, da, wie schon früher erwähnt (S. 221), offenbar die Spirochaeten nicht alle Tage gleich gut reagieren. Oder anders ausgedrückt: Eine durch die Distanz zwischen Organ- und Kapillarmündung bedingte Verdünnung des attraktiven Stoffes, die von

[3] Man könnte hier einwenden, daß eine Abwanderung der Spirochaeten aus dem Organteilchen in die TC 199-Lösung denkbar wäre, was zu einer Abnahme der Spirochaeten im Organ geführt hätte, die jedoch durch Vermehrung wieder kompensiert würde. Diese Vermutung wird durch Vorversuche im hängenden Tropfen, bei denen eine derartige Abwanderung nie beobachtet werden konnte, widerlegt.

den Spirochaeten an einem Tag gerade noch als Reiz empfunden wird, erweist sich anderntags als zu niedrig, um eine Reaktion auszulösen. Der für die «Wahrnehmung» benötigte Schwellenwert kann sich somit verändern, und zwar unter anderem auf Grund meteorologischer und saisonbedingter Einflüsse. In den bisherigen Versuchen über die Latenz- und die Wanderungszeit wirkten sich diese Schwankungen nicht aus, da absichtlich kleine Distanzen gewählt wurden, bei denen sich derartige Einflüsse nicht geltend machen konnten. Zudem wurden nur alle dreißig Minuten Messungen durchgeführt, innerhalb denen der Schwellenwert immer erreicht wurde.

Doch auch für die Bestimmung der hier interessierenden maximalen Wirkungsdistanz der Organe zeigte sich bald eine Lösung, da es sich herausstellte, daß die bei den Spirochaeten auftretenden Schwellenwert-Schwankungen sich für alle Organe prozentual gleich auswirkten. Zahlreiche Vergleichsversuche haben nämlich mit aller Deutlichkeit gezeigt, daß *die maximalen Wirkungsdistanzen zweier Organe in einem konstanten Verhältnis zueinander stehen.* Es erwies sich als notwendig, die maximalen Wirkungsdistanzen *in Bezug auf ein Vergleichsorgan* zu bestimmen. Hiefür wurde das Ovar gewählt, weil das Verhalten der Spirochaeten gegenüber diesem Organ aus Vorversuchen recht gut bekannt war. Die Versuchsdauer betrug hier aus praktischen Gründen ungefähr 27 Stunden. Es kann gleich vorweggenommen werden, daß alle Organe, die in der Zecke infiziert sind, sich auch als mehr oder weniger gute Attraktoren erwiesen. Durch Variieren der Organ-Spirochaeten-Distanz wurde der Abstand ermittelt, bei dem eine Besiedlung des Organteilchens gerade noch stattfand. Für jede Distanz wurden zwei bis drei Kapillaren ins Versuchsgefäß eingesetzt. Auch wenn das Organstückchen in einer Distanz angebracht wurde, die beträchtlich unter dem Maximum lag, konnten aus der Zahl der hier eingedrungenen Spirochaeten bereits Schlüsse hinsichtlich des Grenzwertes gezogen werden. Denn die Abnahme der Spirochaetenzahlen bei zunehmender Distanz erwies sich im allgemeinen als recht konstant. Tabelle 1 gibt dazu die durchschnittlichen Zahlenwerte für das Ganglion.

Die für einen Vergleich verwendeten Organe stammten stets aus der selben Zecke, und zwar aus jüngeren Adulttieren außer in dem Fall, wo ein junges Ovar mit einem alten verglichen wurde. Die erhaltenen Resultate sind in Tabelle 2 zusammengefaßt. Mit der Bezeichnung «günstiger Tag» sind solche gemeint, an denen Spirochaeten schon auf geringere Konzentrationen des attraktiven Stoffes reagieren als an den sogenannten «ungünstigeren Tagen»,

TABELLE 1.

Abnahme der Spirochaetenzahlen bei zunehmender Distanz am Beispiel des Ganglions.

Distanz	5 mm	6 mm	7 mm	8 mm	9 mm	10 mm	11 mm
Zahl der Spirochaeten	45	28	12	7	2	1	—

Die Spirochaetenzahlen beziehen sich jeweils auf 15 Blickfelder.

wo ein massiverer Anstoß nötig ist, um eine Reaktion auszulösen. Die schon weiter oben betonten, konstanten Proportionen sind aus der Tabelle klar ersichtlich, wenn man immer die untereinanderstehenden Zahlen miteinander vergleicht. Wenn also an einem «günstigen Tag» die maximale Wirkungsdistanz für das Ovar konstant 7 mm beträgt, gelten für das Ganglion 10 mm, während an einem «ungünstigeren Tag» die entsprechenden Zahlen 6 und 9 lauten. Der Unterschied bleibt also proportional absolut gewahrt, in diesem Fall ungefähr 2 : 3. Auffallend ist, daß auch die für die Spirochaetenentwicklung in der weißen Maus sowie für die Ver-

TABELLE 2.

Maximale Attraktionsdistanzen bei je zwei Vergleichsorganen.

Organ	Anzahl der Versuche	Maximale Attraktionsdistanz von November bis Mai	
		an günstigen Tagen	an ungünstigeren Tagen
Ganglion Ovar	10	10 mm 7 mm	9 mm (im August 6 mm) 6 mm (im August 4 mm)
Coxalorgan Ovar	10	9 mm 7 mm	8 mm 6 mm
Speicheldrüse Ovar	10	7 mm 7 mm	6 mm 6 mm
Malpighische Gefäße Ovar	5	7 mm 7 mm	6 mm 6 mm
Hoden Ovar	5	7 mm 7 mm	6 mm 6 mm
		im Oktober	
Ovar (junge Zecke) Ovar (alte Zecke)	10	6 mm 4 mm	5 mm 3 mm

Außer im letzten Versuch stammten die miteinander verglichenen Organe *stets* aus derselben jungen Adultzecke.

TABELLE 3.

Einzelresultate des Vergleichs der maximalen Wirkungsdistanzen von Ganglion und Ovar (vergl. erste Querkolonne Tabelle 2).

Zecke Nr.	Ovar						Ganglion						Unterschied
	6 mm		7 mm		8 mm		9 mm		10 mm		11 mm		
1.	3		1	0	0	0	4		1	3	0	0	3 mm
2.	1	0	1	1	0	0	2		5	2	0	0	3 mm
3.	7		1	0	0	0	10		2		0	0	3 mm
4.	1		0	0			1		0	0			3 mm
5.	2	0	1	0	0	0	3	0	1	0	0	0	3 mm
6.	2	0	0	0	0	0			1	1	0	0	4 mm
7.	1	3	0	0			2		0	0			3 mm
8.	3	1	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	3 mm
9,	0		2	0	0	0	2	0	0	0			2 mm
10.	1	1	0	0			2	0	0	0			3 mm

In den senkrechten Kolonnen sind häufig die Resultate von je zwei Kapillaren aufgeführt.

suche schlechten Sommermonate keine Veränderung dieser Proportion verursachen, obwohl ihr Einfluß noch stärker ist (Absinken der Zahlen fast auf die Hälfte!) als der des ungünstigen Barometerstandes.

Beim Betrachten der Tabelle stellt man weiterhin fest, daß auch hier wiederum das Ganglion und das Coxalorgan eine Kategorie für sich bilden. Sie ziehen die Spirochaeten über etwa um ein Drittel größere Strecken an als die anderen ausgetesteten Organe, die alle ungefähr das gleiche Attraktionsvermögen besitzen.

Interessant ist auch die Feststellung, daß das Ovar im Alter deutlich an Attraktionskraft verliert. Wenn bei diesem Versuch die Werte für das junge Ovar etwas niedriger ausgefallen sind als sonst, so kommt das daher, daß die Versuche nicht in der optimalen Jahreszeit, sondern im Oktober durchgeführt worden sind.

Tabelle 3 endlich gibt ein Beispiel der Einzelresultate eines Vergleichs. Sie zeigt, daß kleine Schwankungen unvermeidlich sind (Versuche 6 und 9), was aber nicht hindert, daß der Unterschied des Attraktionsvermögens zweier Organe doch schon nach wenigen Versuchen feststeht. Auffallend ist auch, daß die einzelnen Zahlen in den senkrechten Kolonnen recht stark variieren. Aber sogar beim Auftreten extremer Werte bei der zweitgrößten, positiven Distanz (Versuch 3), bleibt die Proportion gewahrt. Zudem sind in einer senkrechten Kolonne so viele Einzelresultate vorhanden, daß sich eine extreme Zahl im Durchschnitt nicht auswirkt.

b) Vergleich Coxalorgan-Speicheldrüse, jung und alt

(Auswertung von 120 Organteilchen.)

BURGDORFER fand bei seinen Untersuchungen, daß die Speicheldrüsen junger Zecken besser infiziert sind als diejenigen der Adultzecken. Auch die Übertragung auf Versuchstiere via Speichel gelang mit jungen Zecken besser. Entsprechende Untersuchungen über das Coxalorgan wurden nicht gemacht. Da jedoch beide Organe für die Übertragung der Spirochaeten von der Zecke auf den Warmblüter sehr wichtig sind, schien es interessant zu sein, ihre Attraktionskraft auf zwei verschiedenen Altersstufen auch *in vitro* vergleichend zu untersuchen. Aus technischen Gründen wurden keine ganz kleinen Zecken verwendet, sondern nur größere Nymphenstadien. Diesen wurden Versuche mit alten Adultzecken gegenübergestellt. Es wurden also junge Speicheldrüsen mit jungen Coxalorganen verglichen und alte Speicheldrüsen mit alten Coxalorganen. Nachdem ich so vier Werte erhalten hatte, erübrigte sich eine kreuzweise Gegenüberstellung, denn schon so kam das erwartete Resultat klar heraus, daß nämlich die maximale Wirkungsdistanz der Speicheldrüse bei den älteren Nymphen nur um weniges größer ist als bei den alten Adulttieren (7 statt 6 mm) und daß sie beim Coxalorgan gleich bleibt (9 mm).

3. Diskussion.

Durch unsere Versuche ist klar gezeigt worden, daß von verschiedenen Organen der Zecke *Ornithodorus moubata* ein allmählich herausdiffundierender Stoff abgegeben wird, der auf *Borrelia duttoni* eine attraktive Wirkung ausübt. Physikalische Kräfte dürften nicht im Spiel sein. Überraschend ist festzustellen, daß sich der Organotropismus der Spirochaeten über viel größere Distanzen auswirkt als in der Zecke selbst. Die maximale Wirkungsdistanz, die wir festgestellt haben, entspricht fast dem gesamten Längsdurchmesser einer Adultzecke. Während nun die Resultate bezüglich der erzielten Wirkungsdistanzen die Erwartungen übertrafen, entsprachen sie hinsichtlich der qualitativen Unterschiede zwischen den einzelnen Organen weitgehend früheren Beobachtungen an der lebenden Zecke. Einzig die relativ hohen Werte, die sich für die Speicheldrüse feststellen ließen, waren etwas überraschend und verwischten einen Unterschied, der nach BURGDORFERS Resultaten hätte hervortreten sollen, denn in seinen Untersuchungen waren die Speicheldrüsen der Adultzecken jeweils schwächer infiziert als die anderen Organe. Im übrigen ergänzen sich die Resultate der einzelnen Versuche weitgehend. Die Reihenfolge der Organe, wie sie in Tabelle 2 für die maximalen Wirkungs-

distanzen zusammengestellt ist, gilt ohne wesentliche Änderungen nicht nur für die natürlichen Verhältnisse *in vivo,* sondern auch für die Wirksamkeit der Organe *in vitro* ganz allgemein. So hat zum Beispiel das Ganglion die größte Attraktionsdistanz, die kürzeste Latenzzeit und lädt sich am intensivsten mit Spirochaeten auf, im Gegensatz zum Ovar am andern Ende der Reihe.

Wenig abgeklärt ist die Frage, welches das weitere Schicksal der in die Organe eingedrungenen Spirochaeten ist. Wie schon erwähnt, wäre es ja nicht abwegig, sich vorzustellen, daß die Organe nicht nur attrahierende Stoffe abgeben, sondern daß sie für die Spirochaeten auch Sauer- und Nährstoff-reiche Substrate darstellen, in denen sich dieselben weiter entwickeln und auch teilen können, obschon Teilungen nur sehr selten beobachtet wurden. Möglicherweise wäre von Organ zu Organ die Nährbodenqualität auch etwas verschieden, was als Deutung für die unterschiedlichen Besiedlungsdichten dienen könnte. So ist es zum Beispiel auffallend, daß die Speicheldrüsen stets weniger intensiv infiziert sind als andere Organe, wo doch *in vitro* ihre maximale Wirkungsdistanz ungefähr gleich ist wie diejenige des Ovars.

Solange aber keine Methode vorliegt, die eine längere Versuchsdauer *in vitro* erlaubt, kann diese Frage kaum beantwortet werden; denn allein die Feststellung, daß man bei der Kontrolle der Versuche in der Speicheldrüse vielfach tote Spirochaeten fand, während sie meistens in den anderen Organen höchstens an Aktivität verloren hatten, sagt noch nicht genügend aus.

Als nächster Schritt ergibt sich natürlich der Wunsch, die chemische Definierung des oder der für die Spirochaeten attraktiven Stoffe anzustreben. Bisher konnten in dieser Richtung noch keine direkten Befunde erzielt werden. Dagegen ergab sich in Kontakt mit Prof. F. GRUEN vom physikalisch-chemischen Institut der Universität Basel eine Methode indirekter Ermittlung auf Grund von physikalisch-chemischen Daten.

Von der Art und Weise, wie der attrahierende Stoff abgegeben wird, kann man sich folgende Vorstellung machen: Das in der Kapillare liegende Organteilchen ist mit einer gewissen Menge der attraktiven Substanz getränkt und gibt diese wie ein inerter Schwamm [4] in das umgebende Milieu ab, solange an der Oberfläche des Organs noch ein Konzentrationsgefälle für diese Substanz vorhanden ist. Es scheint zutreffender, das Organteilchen mit einem Schwamm zu vergleichen, als mit einer Sekretionsstelle.

[4] Es wurde nämlich beobachtet, daß durch Pressen eines Organteilchens im Pipettenteil der Attraktionsstoff austritt, sich beim anschließenden Füllen der Kapillare auf die ganze Flüssigkeitssäule verteilt und seine Wirkung darum sofort einsetzt.

Wohl wurde das Organteilchen als lebendes Gewebe in die Kapillare gebracht; aber bei den schlechten physiologischen Verhältnissen, die dort herrschen (Fehlen von Nähr- und Sauerstoffzufuhr) dürfte der Zellstoffwechsel bald empfindlich beeinträchtigt und damit jede weitere Sekretion unterbunden sein. Die Substanzen, die das Organ verlassen haben, erreichen die Kapillarmündung durch reine Diffusion. Auf Grund der von uns festgestellten Latenzzeit und der maximalen Wirkungsdistanz gelang es Prof. GRUEN, ziemlich genaue Werte für die Diffusionskonstante des attraktiven Stoffes zu errechnen. Aus dieser lassen sich Schlüsse ziehen auf das Molekulargewicht der gesuchten Substanz. Schon heute kann gesagt werden, daß dieses unter tausend liegt, so daß Proteine ausgeschlossen werden können. Die errechnete Diffusionskonstante liegt sehr nahe bei derjenigen gewisser Oligosaccharide, wie zum Beispiel Glukose und Raffinose. Herr Prof. GRUEN wird seine diesbezüglichen Berechnungen demnächst veröffentlichen.

IV. Literaturverzeichnis.

AESCHLIMANN, ANDRÉ. (1958). Développement embryonnaire d'*Ornithodorus moubata* (Murray) et transmission transovarienne de *Borrelia duttoni*. — Acta trop. *15*, 15-64.

BONÉ, G. (1938). L'infection des Ornithodores moubata par le spirochète de Dutton. — C. R. Soc. Biol. *129*, 903-905.

BONÉ, G. (1943). Recherches sur les glandes coxales et la régulation du milieu interne chez l'*Ornithodorus moubata* (Murray). — Ann. Soc. roy. Zool. de Belgique *74*, 16-31.

BURGDORFER, W. (1951). Analyse des Infektionsverlaufes bei *Ornithodorus moubata* (Murray) und der natürlichen Übertragung von *Spirochaeta duttoni*. — Acta trop. *8*, 193-262.

CHORINE, V. (1942). Culture du spirochète de la poule. — Ann. Inst. Pasteur *68*, 524-527.

CHORINE, V. & CROUGUE, O. (1943). Culture des spirochètes sanguicoles de l'homme. — Bull. Soc. Path. exot. *36*, 262-274.

DUBOIS, A. & PEARSON, Y. (1939). Variabilité du neurotropisme d'une souche de *Spirochaeta duttoni*. — C. R. Soc. Biol. *130*, 1379-1381.

DUTTON, J. E. & TODD, J. L. (1905). The nature of tick fever in the Eastern part of the Congo Free State. — Brit. med. J. *2*, 1259-1260.

FENG, L. C. & CHUNG, H. L. (1936). Studies on the development of *Spirochaeta duttoni* in *Ornithodorus moubata*. — Chin. med. J. *50*, 1185-1190.

GEIGY, R. & AESCHLIMANN, A. (1957). Ratten als Reservoir für *Borrelia duttoni*. — Z. Tropenmed. Parasit. *8*, 96-108.

GEIGY, R. & HERBIG, A. (1955). Erreger und Überträger tropischer Krankheiten. — Acta trop. Suppl. 6.

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

GEIGY, R. & SARASIN, G. (1958). In vitro-Haltung von Rückfallfieber-Spirochaeten zur Analyse ihrer Organotropie. — Rev. suisse Zool. *65*, 329-334.

GEIGY, R. & SARASIN, G. (1958). Isolatstämme von *Borrelia duttoni* und ihr Immunisierungsverhalten gegenüber der weißen Maus. — Acta trop. *15*, 254-258.

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

GRUEN, F. (1959). (In Vorbereitung.)

KOCH, R. (1906). Über afrikanischen Recurrens. — Berl. klin. Wschr. *43*, 185-194.

KUENSSBERG, K. VON. (1911). Eine Anticoagulindrüse bei Zecken. — Zool. Anzeiger *38*, 263-268.

LEES, A. D. (1946). Chloride regulation and the function of the coxal glands in ticks. — Parasitology *37*, 172-184.

MOOSER, H. (1958). Erythrocyten-Adhäsion und Hämagglomeration durch Rückfallfieber-Spirochaeten. — Z. Tropenmed. Parasit. *9*, 93-111.

WAGNER-JEVSEENKO, O. (1958). Fortpflanzung bei *Ornithodorus moubata* und genitale Übertragung von *Borrelia duttoni*. — Acta trop. *15*, 117-168.

V. RÉSUMÉ.

BURGDORFER déjà (1951) a pu montrer dans son test en tube capillaire (Glaskapillarentest) que le spirochète *Borrelia duttoni* manifeste un organotropisme très marqué vis-à-vis de quelques organes de la tique *Ornithodorus moubata*.

Cette étude a pour but de mettre au point une méthode adéquate pour étudier in vitro le comportement des spirochètes et leur organotropisme. Il fallait surtout trouver un moyen de déceler, sur de plus grandes distances, l'effet organotropique. Grâce à leur dimension relativement grande et à leur locomotion lente, les spirochètes constituent un excellent objet d'observation, et permettent une étude directe de leur comportement dans des liquides aussi bien que dans des tissus.

Après de longs travaux préparatoires, un dispositif efficace pour les examens in vitro a été trouvé. Les organes de l'Ornithodore à tester sont introduits dans un tube capillaire de longueur voulue, rempli de liquide coxal prélevé sur la tique. L'orifice de ce tube communique avec du sang de souris dans lequel sont suspendus des spirochètes.

Avec cette méthode, il a été possible d'éclaircir les points suivants : Le déplacement des Borrélies, qui se fait par une rotation de leur corps en forme de tire-bouchon autour de leur propre axe, est limité au plan horizontal dans un milieu liquide. Comme leur corps ne possède pas de pôle antérieur, les spirochètes progressent alternativement avec l'une ou l'autre extrémité, sans direction définie. Par contre, dès qu'ils perçoivent un stimulant, ils nagent en direction de sa source. Si les spirochètes se heurtent à des tissus fermes, ils y pénètrent et s'avancent facilement dans les espaces intercellulaires. Intracellulairement, on ne les trouve que dans les ovocytes.

Il n'a pas encore été possible de découvrir où les spirochètes se propagent dans la tique. Jusqu'à maintenant, on a seulement pu déterminer qu'après chaque repas de sang, il y avait une forte prolifération dans l'hémolymphe, alors que dans les tissus, on n'observait que peu de multiplications. La densité d'infection varie d'organe à organe, mais il est impossible de dire si cela est dû au fait que les organes attirent les spirochètes de façon inégale, ou si les spirochètes se multiplient dans certains organes davantage que dans d'autres. En tout cas, la plus grande densité observée est encore bien inférieure à la « capacité de contenance » que les organes manifestent in vitro, au contact direct des Borrélies. On a également pu démontrer que des organes de tiques naturellement infectés se laissent réinfecter in vitro. Cette différence entre l'état naturel et l'essai in vitro est inexplicable.

L'organotropisme des spirochètes est provoqué par une substance sécrétée par les organes : un fragment de tissu, placé à une certaine distance de l'embouchure du tube capillaire, ne commence à agir sur le spirochète qu'après un temps de latence mesurable. L'attraction commence à s'exercer donc seulement

lorsque la substance s'est diffusée à travers le liquide coxal. Alors que le temps de latence varie d'organe à organe, la réaction des spirochètes est la même vis-à-vis de chaque stimulant, c'est-à-dire, dès qu'un stimulant est perçu, ils font preuve de locomotion dirigée et avancent à une vitesse constante dans le tube capillaire. Le nombre de spirochètes pénétrant les organes s'accroît en proportion avec la durée de l'expérience, ou la diminution de la distance entre l'organe et l'embouchure du tube.

Une grande importance a été attribuée à la définition des distances maximales d'attraction, c'est-à-dire à la détermination des espaces à travers lesquels la substance sécrétée par un organe incite encore les spirochètes à pénétrer dans le tube. Au cours de ces investigations assez délicates, on a pu constater, en outre, que les Borrélies ne réagissent pas toujours de la même manière. Leur organotropisme n'est pas seulement affecté par de fortes chutes barométriques, mais aussi par des variations saisonnières. Pour cette raison, il a été impossible de fixer des chiffres absolus pour les distances maximales d'attraction. Mais, comme les fluctuations sont proportionnelles pour tous les organes, des différences d'attraction ont tout de même pu être établies. Ainsi, on a remarqué que le ganglion et l'organe coxal, les attracteurs les plus forts, s'opposent aux organes moins attractifs, tels que la glande salivaire, l'ovaire, la glande génitale mâle et le tube de Malpighi.

Partant des expériences concernant le temps de latence et la distance maximale d'attraction, le Professeur GRUEN (Institut de chimie physique de l'Université de Bâle) a réussi à établir des calculs sur la constante de diffusion et le poids moléculaire des substances sécrétées. Les résultats qu'il a obtenus correspondent aux données des oligosaccharides, tel que, par exemple, le glucose.

SUMMARY.

BURGDORFER had previously (1951) been able to show with his capillary tube test that the Spirochete *Borrelia duttoni* has a very marked organotropism to some organs of the tick *Ornithodorus moubata*.

This examination aimed at finding a method adequate for the study of the *in vitro* behaviour of the Spirochetes and their organotropism. In particular it was necessary to find a way to discover the organotropic effect over greater distances. Spirochetes seemed the most suitable objects of observation as their relatively large size and slow motion permitted a direct study of their behaviour in liquids and tissues.

After long preparatory work I succeeded in finding a suitable arrangement for *in vitro* analyses. The organs of the tick to be tested are introduced into a capillary tube of appropriate length filled with coxal liquid, and are exposed to Spirochetes suspended in the blood of mice.

With this method it was possible to clarify the following points: The locomotion of the Borrelias, which is caused by a rotation of its corkscrew-like body around its own length-axis, is limited to the horizontal direction in free liquids. As its body has no anterior pole, the Spirochetes move alternately with both extremities in no definite direction. As soon as they perceive a stimulation, they swim towards it. If the Spirochetes come into contact with any firm tissues they penetrate them and advance easily into the intercellular spaces. Intracellularly they are only found in the oöcytes.

It has not so far been possible to determine where the Spirochetes multiply in the tick. So far it has only been possible to state that an active multiplication takes place in the haemolymph after every blood meal, while few divisions could be observed in the tissues. The density of infection varies from organ to organ, but it is impossible to say whether this is due to the fact that the organs do not all attract the Spirochetes equally, or whether the Spirochetes multiply

more in some organs than in others. In any case the greatest density that has been observed is very much below the "capacity of conceivability" that the organs show *in vitro* by direct contact with the Borrelias. Why the numbers are so much lower *in vivo* cannot yet be said. Yet it could be shown that naturally infected organs of ticks could become infected *in vitro* a second time. Proof of this is the fact that the newly-penetrating blood Spirochetes are morphologically distinguishable from the Spirochetes of ticks.

The organotropism of the Spirochetes is released by a substance secreted from the organs: a small fragment of tissue, which was put at a certain distance from the mouth of the capillary tube, only began to affect the Spirochetes after a measurable duration of latency. The attraction therefore only begins when the substance has diffused in the coxal liquid. While the duration of latency varies from organ to organ, the reaction of the Spirochetes is the same for every stimulant, i.e. they show a directed locomotion from the moment of perception of the stimulant, and travel at the same speed into the capillary tube. The longer the duration of the experiment or the shorter the distance between the organ and the mouth of the capillary tube, the greater becomes the number of penetrating Spirochetes.

Great importance was given to the definition of the "maximal distance of attraction", that is, to the determination of the space through which the substance secreted from an organ induces the Spirochetes to enter the tube. By these somewhat delicate experiments it was shown that the Borrelias do not always react in the same way. Their organotropism is not only affected by marked barometrical falls, but also by seasonal variations. I could not, therefore, determine any absolute figure for the maximal distance of attraction. However, since the fluctuations of the Spirochetes are proportional for all organs, the maximal distance of attraction of an organ in proportion to a control organ could be stated. It was observed that the ganglion and the coxal organ exercised the main attraction as opposed to less attractive organs such as the salivary gland, the ovary, the testicle and the Malpighian tube.

Continuing from the experiments on the duration of latency and the maximal distance of attraction, Professor GRUEN (Institute of Physical Chemistry, Basle) succeeded in making calculations about the constant of diffusion and the molecular weight of the secreted substances. The results he obtained showed a correspondance with the data obtained from oligosaccharides such as glucose.